39 èmes Rencontres du GEEFSM Còrdoba

Caratterizzazione dei ceppi di Yersinia enterocolitica isolati nella fauna selvatica in Valle d'Aosta (Italia)

Riccardo Orusa

Autori: ***Carella Emanuele[1], Romano Angelo[2], Domenis Lorenzo[1], Robetto Serena[1], Spedicato Raffaella[1], Guidetti Cristina[1], Pitti Monica[2], Orusa Riccardo[1]***

1) Centro di Referenza Nazionale per le Malattie degli Animali Selvatici (CERMAS), IZS PLV S.C. Valle d'Aosta Quart (AO) - Italia
2) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta S.C. Sicurezza e qualità degli alimenti , Torino - Italia

Direttore scientifico Centro di Referenza Nazionale per le Malattie degli Animali Selvatici (CERMAS) dell'IZS PLV: Dott. Riccardo Orusa

Introduzione

La Yersiniosi è una zoonosi che causa gastroenterite, diarrea e, occasionalmente, artrite reattiva e setticemia. I casi sono spesso legati al consumo di carne e l'agente eziologico è il batterio bacilliforme Gram-negativo *Yersinia enterocolitica.*

La **classificazione dei ceppi** di Y*. enterocolitica* è tradizionalmente basata su una combinazione di test biochimici e sierologici. **Finora sono stati identificati sei biotipi (1A, 1B 2, 3, 4 e 5) e più di 70 sierotipi.**

Yersinia enterocolitica è presente in diversi animali selvatici, tra cui avifauna, pesci, insetti, anfibi e mammiferi. Tra i mammiferi selvatici i ceppi di *Y. enterocolitica* si isolano solitamente in cinghiale, cervo, capriolo, daino, stambecco, canidi selvatici, mustelidi e lagomorfi.

avifauna

canidi

mustelidi

cinghiale

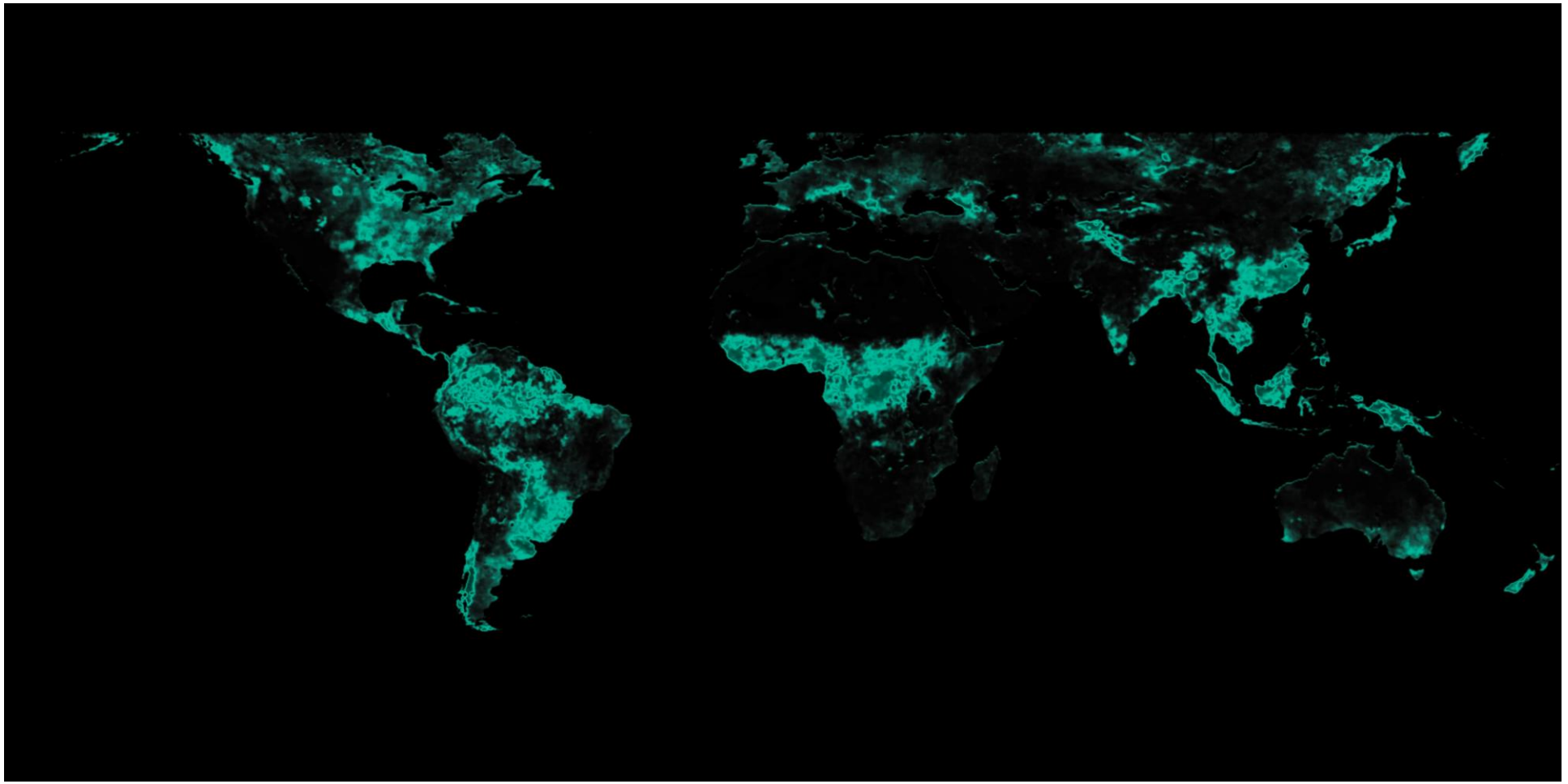
cervidi

bovidi

lagomorfi

Source: https://weather.com/travel/news/places-to-see-bats Kasanka National Park, Zambia By courtesy: Dott. Tommaso Orusa

Soil moisture layer from NASA Smap, Aqua and Aquarius satellites updated every frame via interpolation (every 15 minutes) distinct data sets are every 3 days from 02 Jun 2014 at 00:00 GMT to 05 Oct 2014 at 00:00 GMT



Source: NASA Hyperwall Scientific Visualization Studio https://svs.gsfc.nasa.gov/4439 by courtesy : Dott.Tommaso Orusa

Materiali e metodi

La presenza di *Yersinia enterocolitica* nella fauna selvatica è stata indagata attraverso l'analisi di:

1035 campioni fecali raccolti in Valle d'Aosta tra il 2015 e il 2018.

Y. enterocolitica è stata rilevata dapprima mediante **Real-time PCR** e in seguito si è proceduto con l'**isolamento e** l'**identificazione biochimica**. Infine si è valutato sia il **grado di patogenicità** che la **resistenza agli antibiotici mediante il sequenziamento dell'intero genoma (WGS).**

I campioni fecali sono stati ottenuti da diverse specie selvatiche trovate morte o cacciate durante le stagioni venatorie e successivamente posti in provette sterili e conservati a -80°C prima di essere testati. **I campioni fecali di stambecco (*Capra ibex*)** sono stati invece **ottenuti da esemplari vivi sottoposti a prelievo durante specifiche attività di cattura e monitoraggio nel 2018**.

Nel complesso gli animali selvatici investigati sono stati i seguenti:

- capriolo (*Capreolus capreolus*, n = 406)
- camoscio (*Rupicapra rupicapra*, n = 312)
- cervo (*Cervus elaphus*, n = 213)
- stambecco alpino (*Capra ibex*, n = 36)
- marmotta (*Marmota marmota*, n = 10)
- lepre (*Lepus europaeus*, n = 58)

Risultati (1)

Il ***Y. enterocolitica*** è stato isolato dalle feci di **due cervi, due caprioli, e uno stambecco.**

Nel **cervo**, la prevalenza riscontrata di *Y. enterocolitica* è dello 0,93% (2/213) e i due ceppi isolati sono stati ottenuti da due cervi cacciati nel 2015 nel territorio di Saint Rhémy en Bosses (AO).

Questi ceppi appartengono entrambi al **biotipo 1A**, ma i loro **sierotipi** sono diversi: **O:5 e O:1.2**

Caratteristiche biotipo 1A, sierotipi O:5 e O:1.2:

- Presentano i geni ail (Accession GenBank n. JX972143.1) e ystB (Accession GenBank n. MK734422.1) che codificano fattori di virulenza;

- Questi ceppi sono resistenti all'ampicillina, eritromicina e cefalotina e suscettibili alla streptomicina, sulfametossazolo con trimetoprim, cefotaxime, enrofloxacina, ciprofloxacina, acido nalidixico, cloramfenicolo e tetraciclina. Per quanto riguarda la cefuroxima, il ceppo appartenente al sierotipo O:5 era resistente, mentre il ceppo appartenente al sierotipo O:1.2 era suscettibile

Risultati (2)

Nel **capriolo**, la prevalenza di Y. Enterocolitica è stata valutata allo 0,49% (2/406) e i due ceppi isolati sono stati trovati in due caprioli cacciati nel **2015**, uno vicino a Lillianes, mentre l'altro vicino a Rhêmes Saint Georges (AO).

I ceppi isolati appartengono entrambi al **biotipo 1A**, ma i loro **sierotipi O:5 e O:8**

Caratteristiche **biotipo 1A, sierotipi O:5 e O:8:**

- Possiedono i **geni ail e ystB**
- Questi ceppi di sono entrambi resistenti ad ampicillina, eritromicina e cefalotina e suscettibili a streptomicina, sulfametossazolo con trimetoprim, cefotaxime, enrofloxacina, ciprofloxacina, acido nalidixico, cloramfenicolo, tetraciclina e cefuroxima.

Risultati (3)

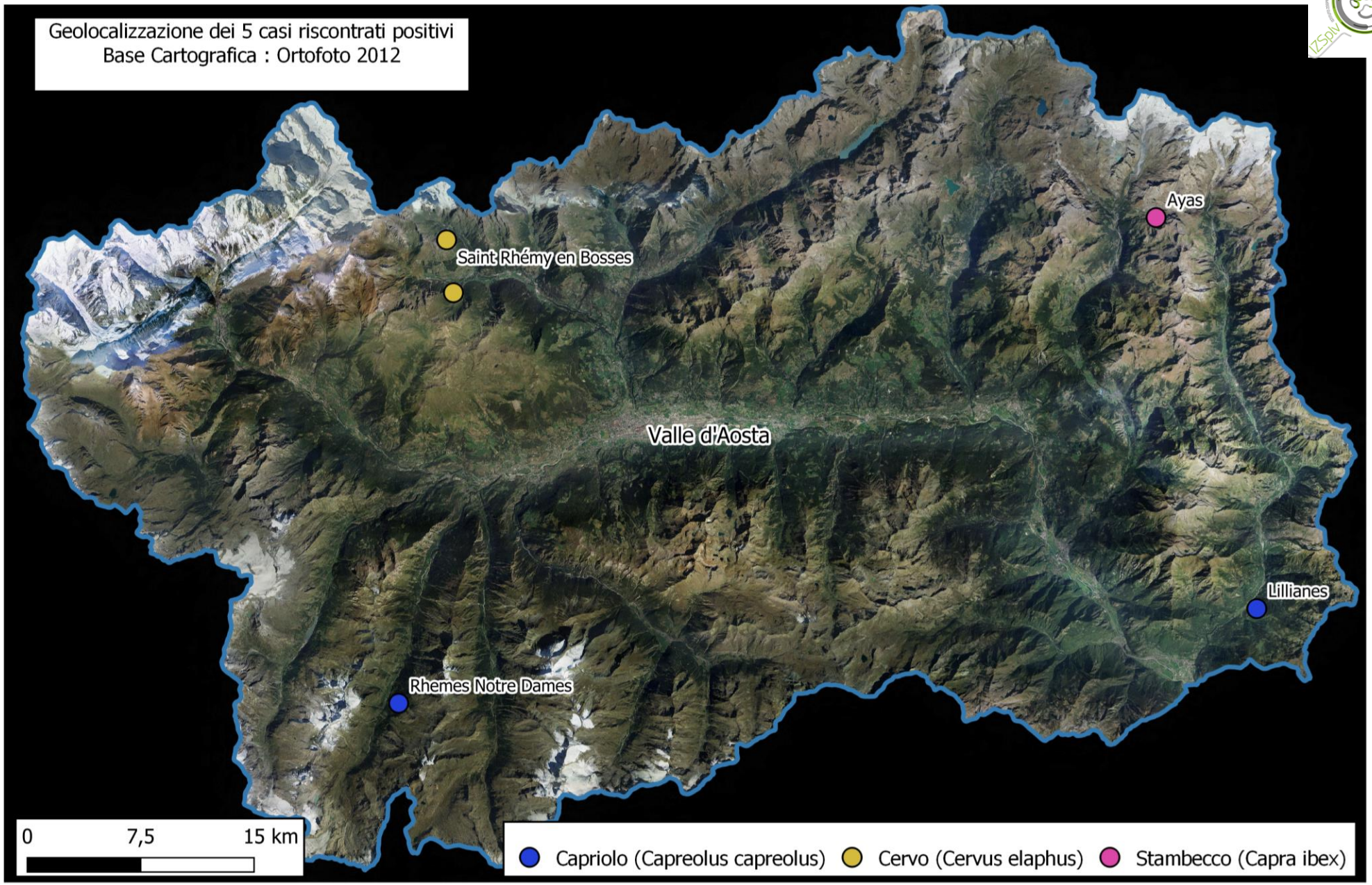
Nello **stambecco**, la prevalenza di *Y. enterocolitica* è del 2,77% (1/36) e l'unico ceppo isolato è stato ottenuto da uno stambecco alpino clinicamente sano campionato ad Ayas, colle Bettaforca (AO) nel **2018**

Il ceppo è stato identificato come **bioserotipo 5/O:3**

Caratteristiche bio-serotipo 5/O:3:

- L'analisi della sequenza del genoma ha rivelato che possiede fattori di virulenza sia cromosomica che plasmidica
    a) I marcatori di virulenza cromosomica sono ail, inv (GenBank accession no. Z48161.19), myfA (GenBank accession no. Z21953.1), hemR (GenBank accession no. AM286415.1) e ystA (GenBank accession no. U09235.1)
    b) Il plasmide di virulenza pYPTS01 (GenBank accession no. CP001049) ospita i geni yadA (GenBank accession no. X13881) e Yops (GenBank accession no. AF102990).
- E' stato anche osservato il plasmide pYE854 autotrasmissibile (accesso GenBank n. AM905950)

- Questo ceppo ha mostrato resistenza ad ampicillina, cefalotina, eritromicina e amoxicillina con acido clavulanico e suscettibilità agli altri antibiotici testati.


Geolocalizzazione dei 5 casi riscontrati positivi
Base Cartografica : Ortofoto 2012
Ayas
Saint Rhémy en Bosses
Valle d'Aosta
Lillianes
Rhemes Notre Dames
0
7,5
15 km
Capriolo (Capreolus capreolus)
Cervo (Cervus elaphus)
Stambecco (Capra ibex)

Risultati (4)

Le sequenze dell'intero genoma dei cinque ceppi isolati di *Y. enterocolitica* sono state confrontate tra loro e con i genomi disponibili su EnteroBase

- **Nessuno di loro ha formato un cluster distinto e ha mostrato somiglianza con altri ceppi di Y. Enterocolitica**
- **E’ stata osservata la presenza del gene della streptogramina A acetiltransferasi (accesso GenBank n. AF170730) in tutti i ceppi isolati**

Discussione (1)

- La presenza del **biotipo 1A** nel cervo e nel capriolo era già stata descritta (Aschfalk et al., 2008; Bancerz-Kisiel al., 2014; Syczylo et al. 2018). **Sulla base dei nostri risultati e di quelli precedentemente riportati, si può ipotizzare che i ceppi del biotipo 1A con sierotipo O:5 e O:8 circolano tra i cervi e i caprioli in Europa.**

- La presenza di *Y. enterocolitica* nello stambecco delle Alpi è già stata evidenziata nel 2012 nelle feci di uno stambecco cacciato in Svizzera (Joutsen et al., 2013). Il ceppo è stato identificato come **bioserotipo 3 o 5/O:3** e ospitava entrambi i fattori di virulenza ail, ystA e myfA e il plasmide pYV contenente il gene yadA. Ciò suggerisce che i ceppi di *Y. enterocolitica* del bioserotipo 5/O:3 possano circolare tra gli stambecchi alpini situati nelle Alpi nordorientali e che possiedono il plasmide pYPTS01, che è stato finora rilevato solo in Yersinia pseudotuberculosis PB1/+

Discussione (2)

- Il ceppo di *Y. Enterocolitica* isolato nello stambecco alpino presenta anche il **plasmide autotrasmissibile pYE854**, che possiede le stesse caratteristiche funzionali del fattore di fertilità di E. coli. **Questo è il primo caso in cui è stato osservato che un ceppo di Y. enterocolitica ospita sia i plasmidi pYE854 che pYPTS01. Il primo plasmide può mobilitarne altri, se contengono una regione specifica chiamata p1340, che è presente nel secondo**.

- L'indagine sulla presenza di **geni di resistenza agli antibiotici** ha confermato che **tutti i ceppi isolati possiedono il gene della streptogramina A acetiltransferasi,** che conferisce resistenza all'eritromicina. Al contrario, **nessuno dei ceppi ospitava geni β-lattamasi, pertanto la capacità di tutti i ceppi di resistere agli antibiotici β-lattamici potrebbe essere collegata alla loro resistenza fenotipica**.

Conclusioni

-Sulla base dei **nostri risultati si può ipotizzare che i ceppi di *Y. Enterocolitica* biotipo 1A e sierotipo O:5 e O:8 circolano tra i cervi e i caprioli in Europa**.

-Il ceppo di *Y. enterocolitica* isolato da uno stambecco clinicamente sano ospitava i plasmidi pYPTS01 e **pYE854**. Il secondo di questi, il **plasmide autotrasmissibile, può mobilitare se stesso e altri plasmidi ad altri ceppi, che a loro volta potrebbero acquisire nuovi meccanismi di patogenicità**.

-Ulteriori indagini sul trasferimento genico orizzontale tra diverse specie di *Yersinia enterocolitica* nella fauna selvatica dovrebbero essere prese in considerazione.

Pubblicazione

sciendo

J Vet Res 66, 2022
DOI:10.2478/jvetres-2022-0021

Characterisation of *Yersinia enterocolitica* strains isolated from wildlife in the northwestern Italian Alps

Emanuele Carella[1]✉, Angelo Romano[2], Lorenzo Domenis[1], Serena Robetto[1], Raffaella Spedicato[1], Cristina Guidetti[1], Monica Pitti[2], Riccardo Orusa[1]

[1]National Reference Centre for Wildlife Diseases (CeRMAS), Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (IZSPLV), 11020 Quart (Aosta), Italy
[2]Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, 10154 Torino, Italy
emanuele.carella@izsto.it

Received: December 24, 2021 *Accepted: April 5, 2022*

Ringraziamenti

-**Regione Autonoma Valle d'Aosta**

-Dipartimento risorse naturali e corpo forestale - Valle d'Aosta

-Parco Nazionale del Gran Paradiso

-S.C. Sicurezza e qualità degli alimenti dell'IZS PLV

-Tutto il personale della S.S. Patologie della Fauna Selvatica e del CeRMAS

Questo studio è stato finanziato dal Ministero della Salute
(Progetto di Ricerca Corrente IZS PLV 11/19 RC)

Neptune Studios

presents

Source: MinuteEarth by: Dott. Tommaso Orusa

S.C. Valle d'Aosta con CeRMAS
e-mail: riccardo.orusa@izsto.it

GRACIAS POUR SU ATENCION!!!
MERCI POUR VOTRE ATTENTION!!!
GRAZIE PER LA VOSTRA ATTENZIONE!!!

«Ogni convinzione diviene certezza» Cartesio

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta
J. Altara

Geefsm Córdoba 2022

IZSPLV

CeRMAS AOSTA
Centro di Referenza Nazionale per le Malattie degli Animali Selvatici