

131

**DIFFUSIONE DI COXIELLA BURNETII IN SICILIA
COXIELLA BURNETII SPREAD IN SICILY**

Keywords: C. burnetii, seroprevalence, Real Time PCR

Galluzzo P.^[1], Gargano V.^[1], Verso M.G.^[2], Villari S.^[1], Vesco G.*^[1]

^[1]Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia ~ Palermo ~ Italy, ^[2]Istituto di Medicina del Lavoro - Università degli studi di Palermo ~ Palermo ~ Italy

SUMMARY:

Q fever is a zoonotic disease caused by *C. burnetii*. Common reservoirs of this worldwide disease are wild and domestic animals, especially sheep, goats, cattle. Q fever has been considered also an occupational disease for abattoir workers, sheep shearers, livestock farmers, and veterinarians due to their direct contact with potentially infected animals. The aims of this study were to estimate *C. burnetii* spread in Sicilian livestock and among rangers that live and work in Western Sicily. ELISA test on animal serum and IFI test on seasonal rangers sera were carried out. Real Time PCR was performed on milk and vaginal swab samples collected from animals to search for the *C. burnetii* DNA. The highest prevalence of *C. burnetii* infection was observed in goat farms in Enna province and in sheep farms in Catania. The major prevalence of positive workers at *C. burnetii* was observed in Trapani province. The Real Time PCR results showed more positive samples in Palermo province.

INTRODUZIONE:

La Febbre Q è una zoonosi causata da *Coxiella burnetii*, Gram negativo diffuso in tutto il mondo (6) e i cui principali reservoirs sono animali selvatici e domestici, in particolare ovini, caprini e bovini. Gli infetti spesso sono asintomatici, ma possono verificarsi aborti e altri disturbi riproduttivi. La diffusione del batterio avviene attraverso urine, latte, feci, ma soprattutto mediante i feti abortiti da animali infetti. *C. burnetii* può sopravvivere per mesi nell'ambiente in forma di spora-like e quindi essere presente in campioni di polvere; pertanto affinché l'infezione avvenga non è necessario il contatto diretto con gli animali malati (2). Inoltre, *C. burnetii* è in grado d'infettare un'ampia gamma di artropodi, in particolare zecche. Nell'uomo la principale via di trasmissione si verifica per inalazione di aerosol infetti (6), ma l'infezione può essere contratta anche per contatto con placenta di animali infetti o trasfusioni di sangue (2). La *C. burnetii* può presentarsi in due varianti immunologiche, Fase I e II. La transizione di fase induce una risposta immunologica rilevabile che permette la differenziazione tra stati acuti e cronici: titoli elevati di IgG di Fase II e bassi di Fase I sono associati ad infezione acuta, mentre quando i titoli di IgG di fase I e II sono entrambi elevati si è in presenza di forma cronica (1). Solo il 40% circa degli infetti con *C. burnetii* mostra segni clinici, che includono: febbre, dolori muscolari, malessere, vomito, diarrea, dolore addominale e toracico. La Febbre Q acuta è fatale in meno del 2% dei casi; la forma cronica è rara, ma può svilupparsi in casi con precedente storia di infezione acuta (5). La Febbre Q è stata considerata anche una malattia professionale che colpisce operatori dei mattatoi, tosatori di pecore, allevatori e veterinari per il loro contatto con gli animali potenzialmente infetti (4). Lo scopo di questo studio è stato stimare la diffusione di *C. burnetii* negli allevamenti Siciliani e contemporaneamente eseguire un'analisi preliminare anche su campioni di emosiero umano provenienti da operatori del settore agricolo della Sicilia occidentale, al fine di valutare un'eventuale correlazione tra i casi di Febbre Q nell'uomo e negli animali.

MATERIALI E METODI:

Campionamenti: Dopo aver individuato un piano di campionamento statisticamente significativo mediante l'uso del software "Winepi", sono stati selezionati con metodo random, tra i campioni pervenuti presso l'IZS Sicilia per il piano di eradicazione Brucellosi, emosieri di ruminanti da saggiare per la ricerca di anticorpi anti-*C. burnetii*. Contestualmente, presso l'Istituto di Medicina del Lavoro-Università degli studi di Palermo, sono stati reclutati braccianti agricoli operanti nelle province di Palermo, Trapani e Agrigento, sottoposti a prelievo ematico per accertare il loro stato immunologico specifico (Anticorpi IgG anti-*C. burnetii*), nonché ad esami di routine orientati all'accertamento di eventuali variazioni dei principali indici di funzionalità midollare, epatica e renale. Analisi sierologiche: La ricerca di anticorpi anti-*C. burnetii* è stata valutata mediante test ELISA (IDScreen Q Fever indirect - IDVet) su un totale di n°12981 sieri (n° 6228 ovini, n° 5760 bovini e n° 993 caprini). Inoltre, è stato accertato lo stato immunologico nei confronti di *C. burnetii* di n°126 soggetti umani (n° 84 di sesso maschile e n° 42 femminile) provenienti dalla Sicilia Occidentale (n° 62 da Palermo, n° 20 da Trapani e n° 44 da Agrigento) mediante IFAT (*Coxiella burnetii* IgG IFA Kit - Fuller), al fine di ricercare gli anticorpi IgG anti-Fase I e II. Analisi molecolari: Campioni di latte (n°179: n°89 ovino, n°26 bovino e n°64 caprino) e tamponi vaginali bovini (n°23), provenienti da allevamenti positivi ai test sierologici, sono stati sottoposti a estrazione del DNA con PureLink® Genomic DNA kit (Life Technologies) per valutare la presenza/assenza del DNA del patogeno secondo il protocollo pubblicato da Hendrik I.J. Roest (3).

RISULTATI E DISCUSSIONE:

Il test ELISA ha mostrato una maggiore positività verso *C. burnetii* (45,7%) in allevamenti caprini presenti in provincia di Enna, mentre in provincia di Catania è stata evidenziata una più alta prevalenza (22%) in allevamenti ovini. Negli allevamenti bovini, invece, sono stati osservati valori di prevalenza che oscillano da 1,8% in provincia di Caltanissetta a 15% in provincia di Agrigento. L'analisi condotta sui sieri umani ha rilevato n°9 (21,4%) positivi (n° 1 da Agrigento, n° 3 da Palermo e n° 5 da Trapani) tra le donne (n°42) e n° 21 sieri (n° 9 da Agrigento, n° 8 da Palermo e n° 4 da Trapani) su 84 uomini (25,0%). La maggiore prevalenza di lavoratori sieropositivi per *C. burnetii* è stata osservata in provincia di Trapani (71% donne e 31% uomini), significativamente superiore a Agrigento (8% donne e 28% uomini) e Palermo (13% donne e 20% uomini). Tra i positivi n°13 emosieri hanno mostrato titolo positivo sia verso Fase I che II mentre n°5 sono risultati positivi solo alla Fase I e n°12 alla Fase II.

I risultati preliminari in tal senso suggeriscono che l'espletamento della mansione di bracciante agricolo, pur se non a contatto diretto con animali, espone al rischio di contrarre l'infezione, soprattutto in aree territoriali ove insistono focolai infettivi. Inoltre, è emerso che l'infezione, nei soggetti sieropositivi, non è stata quasi mai conseguente al morso di una zecca tranne che per un soggetto. Le

analisi di PCR Real Time hanno mostrato un'alta prevalenza d'infezione da *C. burnetii* negli allevamenti ovini in provincia di Palermo (64%) e in quelli caprini in provincia di Messina (45%). Negli allevamenti bovini non è stata riscontrata alcuna positività sia utilizzando come matrice i campioni di latte che i tamponi vaginali. Questi primi dati sui casi umani non mostrano alcuna correlazione con la distribuzione dell'infezione sugli animali, pertanto saranno necessarie ulteriori indagini.

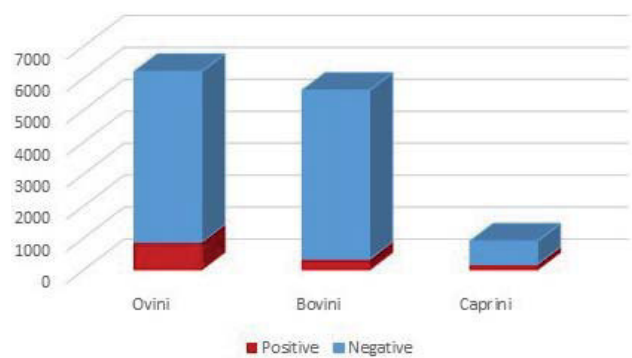


Fig.1: Distribuzione della positività a *C. burnetii* negli ovini, bovini e caprini saggiati

Provincia	Ovini			Bovini			Caprini		
	n° campioni	Positivi	%	n° campioni	Positivi	%	n° campioni	Positivi	%
Agrigento	873	150	17,2	207	31	15	67	12	18
Caltanissetta	260	19	7,32	163	3	1,8	41	7	17
Catania	363	81	22,32	196	7	3,6	20	4	20
Enna	1122	113	10,1	763	17	2,2	35	16	45,7
Messina	507	73	14,4	654	13	2	587	123	21
Palermo	2222	291	13,1	1571	34	2	180	26	14,4
Ragusa	129	17	13,2	1940	222	11,4	0	0	
Siracusa	112	2	1,8	163	4	2,4	48	1	2,1
Trapani	640	116	18,1	103	0	0	15	6	40

Tab. 1 Tabella riassuntiva dei risultati delle analisi sierologiche effettuate mediante test ELISA su sieri di sangue di animali allevati in Sicilia

BIBLIOGRAFIA:

- 1)Angelakis E. and Raoult D. " Q fever". Vet. Microbiol., 140 (3-4):297-309 (2010)
- 2)Bellini C, Magouras I., Chapuis-Taillard C., Clerc O., Masserey E., Peduto G., Peter O., Schaerrer S., Schuepbach G, Greub G. "Q fever outbreak in the terraced vineyards of Lavaux, Switzerland". New Micr. and new Inf. 2 (4): 93-9 (2014)
- 3)Hendrik I.J. Roest, Robin C. Ruuls, Jeroen J.H.C. Tilburg, MARRIGJE H. Nabuurs-Franssen, Corné H.W. Klaassen, Piet Vellema, René van den Brom, Daan Dercksen, Willem Wouda, Marcel A.H. Spierenburg, Arco N. van der Spek, Rob Buijs, Albert G. de Boer, Peter Th.J. Willemsen, and Fred G. van Zijderveld. "Molecular Epidemiology of Coxiella burnetii from Ruminants in Q Fever Outbreak, the Netherlands". Emerging Infectious Diseases Vol. 17, No. 4, April (2011)
- 4)Khalili M, Mosavi M, Diali HG, Mirza HN. Serologic survey for Coxiella burnetii phase II antibodies among slaughterhouse workers in Kerman, southeast of Iran. Asian Pac J Trop Biomed 4(Suppl 1):S209-12 (2014)
- 5)SCIENTIFIC REPORT OF EFSA AND ECDC. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. EFSA Journal;12(2):3547 (2014)
- 6)Van Engelen E, Schotten N., Schimmer B., Hautvast J.L., van Schaik G., van Duijnhoven Y.T. "Prevalence and risk factors for Coxiella burnetii (Q Fever) in Dutch dairy cattle herds based on bulk tank milk testing". Prev. Vet. Med. 117:103-109 (2014)