

# CASO DI IDATIDOSI IN SUINI D'ALLEVAMENTO REGOLARMENTE MACELLATI

## HYDATIDOSIS CASE IN REGULARLY SLAUGHTERED PIGS FARM

PERRONE V. \*, CAVALLERO S. \*\*, CITO G. \*

\* *Az. U.S.L. Roma B, Servizio Veterinario, Dipartimento di Prevenzione, V.le Palmiro  
Togliatti, 1280 – 00155 Roma*

\*\* *Dipartimento di Scienze di Sanità Pubblica, Sezione di Parassitologia, Università di  
Roma “La Sapienza”, P.le Aldo Moro, 5 – 00185 Roma*

**Parole chiave:** suino, macellazione, *Echinococcus granulosus*, strain G1, idatidosi  
**Key words:** pig, slaughtering, *Echinococcus granulosus*, G1 strain, hydatidosis

**Riassunto.** L'echinococcosi è una zoonosi riemergente che rappresenta ancora un problema economico e di sanità pubblica in molte aree del mondo e in particolare nel bacino del Mediterraneo dove rappresenta una delle principali parassitosi endemiche, correlata anche con l'ampia diffusione della pastorizia nella regione. Molte specie animali, sia domestiche sia selvatiche, agiscono come ospiti intermedi: il suino ad esempio rappresenta uno degli ospiti intermedi di *Echinococcus granulosus* ma il suo reperimento nell'allevamento industriale intensivo è diventato assai raro. Nel presente lavoro si riporta un caso di idatidosi riscontrato in due suini regolarmente macellati provenienti da un allevamento intensivo della provincia di Pordenone. Le analisi molecolari condotte su una regione del DNA mitocondriale (*rrnS*) hanno permesso di assegnare gli isolati allo strain G1 (Common Sheep Strain), il più diffuso nella zona del Mediterraneo, anche se nel suino il genotipo più frequente è il G7 (Pig Strain).

**Summary.** Hydatidosis is a worldwide re-emerging zoonotic disease and it still represents a public health and economic issue, especially for sheep-farming communities in the Mediterranean area, where the parasite is endemic. Several species of domestic livestock and wild life animals act as intermediate hosts: for instance, the swine is an intermediate host for *Echinococcus granulosus*, but the report of the cestode in pigs farm is rare. In the present work is described a hydatidosis case in regularly slaughtered pigs from an intensive farming in Pordenone province. Molecular analysis carried out on a mitochondrial ribosomal region (*rrnS*) led to assign the isolates to G1 Common Sheep Strain, the most widespread strain in Mediterranean region, even if G7 is the common pig strain.

### INTRODUZIONE

L'idatidosi o echinococcosi cistica (EC) è una zoonosi ri-emergente causata da Cestodi Ciclofillidei della famiglia Taeniidae, appartenenti alla specie *Echinococcus granulosus*.

L'echinococcosi rappresenta un importante problema di sanità pubblica, ma anche economico, in numerose aree del mondo. Assume particolare rilevanza in America Latina, nell'Africa sub-Sahariana e nelle altre zone dove la parassitosi è endemica (Mongolia, Repubblica Popolare Cinese, Asia del sud-est, Australia). Nel bacino del Mediterraneo in particolare è una delle principali parassitosi degli animali in produzione zootecnica e riveste un notevole significato sociale e sanitario per l'elevata diffusione nell'uomo (Garippa *et al.*, 2004; Busi *et al.*, 2007).

Il ciclo biologico di *E. granulosus* si svolge tra un ospite definitivo carnivoro (un canide) ed un ospite intermedio non carnivoro (ovino, bovino, equino, suino). L'uomo è un ospite accidentale

che può infestarsi ingerendo uova del parassita presenti nell'ambiente contaminato da feci infette dell'ospite definitivo e che danno origine alla forma larvale del parassita all'interno dell'ospite intermedio. La forma larvale (metacestode) è detta idatide, una cisti sferica, uniloculare e ripiena di liquido che può contenere protoscolici vitali o cisti figlie. Le sedi di localizzazione più comuni delle cisti sono fegato e polmoni.

Sino ad oggi sono state descritte sei morfospecie: *E. granulosus* (Batsch, 1786), *E. multilocularis* (Leuckart, 1863), *E. oligarthrus* (Diesing, 1863), *E. vogeli* (Rausch et Bernstein, 1972), *E. shiquicus* (Xiao et al., 2005), ed *E. felidis* (Hutter et al., 2008). All'interno della morfospecie *E. granulosus* sono stati ad oggi identificati dieci strains (G1 - G10) di cui sette agenti provati di zoonosi, che presentano una diversa specificità per l'ospite intermedio.

In Italia la presenza di *E. granulosus* è soprattutto legata alle zone con forte presenza dell'allevamento ovino come Sardegna, Sicilia, Campania, Lazio ed Abruzzo (Garippa et al., 2004); le informazioni relative alla presenza dei diversi strains di *E. granulosus* nei diversi ospiti e regioni di provenienza sono riassunte in Tabella 1.

**Tabella1:** Situazione in Italia, relativamente alla caratterizzazione di diversi strains di *E. granulosus* da diversi ospiti intermedi

**Table1:** Italian situation on the characterization of different *E. granulosus* strains, from different intermediate hosts.

STRAIN	OSPITE	REGIONE	REFERENZE
G1	Ovini, bovini, suini	Sardegna	
	Bufali	Campania	Varcasia et al, 2006
	Ovini	Lazio	Rinaldi et al, 2008
	Ovini	Abruzzo	Busi et al, 2004
	Ovini	Lombardia	Giangaspero et al, 2006
	Ovini	Sicilia	Manfredi et al, 2006
	Ovini	Sicilia	Giannetto et al, 2004
	Ovini		Brianti et al, 2006
	Bovini	Emilia Romagna	Busi et al, 2007
	Bovini	Friuli Venezia Giulia	Casulli et al, 2008
	Bovini	Piemonte	
	Bovini	Trentino	
Bovini	Veneto		
G2	Ovini	Sardegna	Busi et al, 2004
	Bovini	Lazio	Casulli et al, 2008
	Bovini	Umbria	
	Bovini	Veneto	
G3	Ovini	Lazio	Busi et al, 2004
	Bufali	Campania	Rinaldi et al, 2008
	Ovini	Abruzzo	Giangaspero et al, 2006
	Bufali	Umbria	Casulli et al, 2008
G4	Equini	Sardegna	Scala et al, 2006 Varcasia et al, 2008
G5	Bovini	Trentino Alto Adige	Casulli et al, 2008
G7	Suini	Sardegna	Varcasia et al, 2006

Ad oggi, i dati che riguardano la prevalenza dell'echinococcosi nel suino in Italia confermano la presenza del parassita, sebbene con percentuali piuttosto basse: in un'indagine condotta dal 1979 al 1983 in 88 stabilimenti di macellazione, la prevalenza è risultata dello 0,2-0,4% e nell'allevamento industriale la parassitosi è attualmente da considerare rarissima con localizzazione prevalentemente epatica rappresentata quasi esclusivamente da cisti uniloculari profonde (Marcato, 1998). Altri studi confermano tali dati, sebbene le percentuali di prevalenza nel suino appaiono basse se confrontate con quelle riguardanti gli ovini, sia in allevamenti della Campania che della Sardegna (Cringoli et al., 1998; Varcasia et al., 2006).

I dati riportati da Varcasia et al., (2007) sulla prevalenza dell'echinococcosi nei suini da macellazione familiare in Sardegna riferiscono invece di percentuali più elevate (11%), confermando l'ipotesi di un legame tra la persistenza del parassita nel territorio e questo tipo di macellazione e la modalità di allevamento.

Nel presente studio viene riportata la presenza di *E. granulosus* (strain G1) in due suini regolarmente avviati alla macellazione, provenienti da un allevamento della provincia di Pordenone.

## MATERIALI E METODI

Nel presente lavoro sono state analizzate cisti di *E. granulosus* reperite durante l'ispezione *post mortem* in due suini provenienti da un allevamento della provincia di Pordenone, regolarmente macellati presso uno stabilimento privato nel comune di Roma (i codici assegnati alle cisti analizzate sono CT9 e CT10).

Le cisti sono state reperite sia a livello epatico che polmonare, prelevate e conservate in etanolo al 70% ed inviate al Laboratorio della Sezione di Parassitologia (Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive) della Sapienza Università di Roma, per effettuare studi di caratterizzazione molecolare basati sull'analisi di sequenza della regione mitocondriale *rrnS*, codificante per la subunità ribosomale minore 12S. Diversi studi hanno dimostrato che tale regione genomica è in grado di distinguere i vari strains della morfospécie *E. granulosus* (Thompson and McManus, 2002).

Dalla membrana interna (proligena) è stato prelevato un frammento di tessuto da cui è stato estratto il DNA seguendo le istruzioni del Wizard Genomic DNA purification Kit (Promega).

Il DNA genomico ottenuto è stato utilizzato come template per l'amplificazione, mediante PCR, della regione di interesse utilizzando le seguenti condizioni: 10 min. 94°C, seguiti da 30 cicli di 30 sec. a 94°C, 1 min. a 55°C, 1 min. a 72°C, seguiti da 7 min. a 72°C.

I primers utilizzati sono (Dinkel *et al.*, 1998):

**P60-for** 5' – TTA AGA TAT ATG TGG TAC AGG ATT AGA TAC CC – 3'

**P375-rev** 5' – AAC CGA GGG TGA CGG GCG GTG TGT ACC – 3'

Terminata la reazione di amplificazione, 5µl del prodotto di ciascun campione sono stati sottoposti a corsa elettroforetica su gel d'agarosio all'1,5%, contenente bromuro di etidio, e gli amplificati sono stati visualizzati esponendo il gel sotto la luce UV.

Gli ampliconi positivi sono stati preparati per il sequenziamento mediante purificazione secondo il protocollo SureClean (BIOLINE) e spediti alla MWG-EUROFINS DNA. Successivamente le sequenze ottenute sono state controllate manualmente a livello di elettroferogramma utilizzando il programma CHROMAS LITE e allineate utilizzando il programma ClustalW. (1.8) Multiple Sequence Alignments, implementato nel software MEGA4 (Tamura et al., 2007). A scopo comparativo sono state incluse nell'allineamento tutte le sequenze degli strains di *Echinococco* corrispondenti alla stessa porzione genomica depositate in GenBank (GenBank accession numbers: AY462129, DQ822451, AY462127, AY462126, AY462128).

## RISULTATI

L'amplificazione della regione *rrnS* codificante per la subunità ribosomale misura circa 300bp. Le sequenze utili ottenute, dopo purificazione ed editing manuale, misurano 235bp. L'allineamento dei due individui analizzati con le altre sequenze reperite in GenBank indicano che le cisti rinvenute nei due suini appartengono allo strain G1 (Figura 1). Nell'individuo CT9 è presente una differenza nucleotidica rispetto allo strain G1 in posizione 231 (G231C).

**Figura 1:** Allineamento delle sequenze degli individui analizzati (CT9, CT10) a confronto con le sequenze degli strains di *Echinococcus granulosus* disponibili in GenBank, per la stessa regione genomica (*rrnS*). I puntini rappresentano l'identità rispetto alla sequenza di riferimento G1.

**Figure 1:** Sequences alignment of isolates under study (CT9, CT10) compared to sequence of *E. granulosus* available in GenBank for the same genomic region (*rrnS*). Dots represent identity to G1 sequence.

<b>G1_AY462129</b>	AAATGGTTTG	GCAGTGAGCG	ATTCTTATTA	GGGGAATATG	CATAGTGAAG	[50]
<b>CT9</b>	.....	.....	.....	.....	.....	[50]
<b>CT10</b>	.....	.....	.....	.....	.....	[50]
G3_DQ822451	.....	.....	.....	.....	.....	[50]
G5_AY462127	.....	.....	.....G...	.....G...	.....A...	[50]
G6_AY462126	.....	.....	.....G...	.....G...	.....A...	[50]
G7_AY462128	.....	.....	.....G...	.....G...	.....A...	[50]
G1_AY462129	GATGGTCCAC	CTATTAGTTT	ACTCTTTTTA	TGTTGGTGTA	TGTC TGGTTT	[100]
CT9	.....	.....	.....	.....	.....	[100]
CT10	.....	.....	.....	.....	.....	[100]
G3_DQ822451	.....	.....	.....	.....	.....	[100]
G5_AY462127	.....	.....T...	G.....G...	.....	.....A.....	[100]
G6_AY462126	.....	.....T..C	.....G...	.....	.....A.....	[100]
G7_AY462128	.....	.....T..C	.....G...	.....	.....A.....	[100]
G1_AY462129	GATATTATTG	TTCAATAATT	TAAGTTTCTG	TAGTTTTAGT	TAAGCTAACT	[150]
CT9	.....	.....	.....	.....	.....	[150]
CT10	.....	.....	.....	.....	.....	[150]
G3_DQ822451	.....	.....	.....	.....	.....	[150]
G5_AY462127	.....C.	..T..GG..	.G.....	.....	.....C....	[150]
G6_AY462126	.....C.	..T..GG..	.G.....	.....	.....C....	[150]
G7_AY462128	.....C.	..T..GG..	.G.....	.....	.....C....	[150]
G1_AY462129	CTATGTGCTG	CTTATTGGAG	TTTTTGIGTG	TTACATTAAT	AAGGGTGTTA	[200]
CT9	.....	.....	.....	.....	.....	[200]
CT10	.....	.....	.....	.....	.....	[200]
G3_DQ822451	.....	.....G....	.....	.....	.....	[200]
G5_AY462127	.....	.....G....	.....	.....	.....	[200]
G6_AY462126	.....	.....CG....	.....	.....	.....G....	[200]
G7_AY462128	.....	.....G....	.....	.....	.....G....	[200]
G1_AY462129	TTGTAAGATG	ATGTGATTTA	GGA CTTAATA	GTAAT		[235]
CT9	.....	.....	.....	C....		[235]
CT10	.....	.....	.....	.....		[235]
G3_DQ822451	...G....	.....	.....	.....		[235]
G5_AY462127	.....T...	..A.T....	.....	.....		[235]
G6_AY462126	.....T...	..A.T....	.....	.....		[235]
G7_AY462128	.....T...	..A.T....	.....	.....		[235]

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'echinococcosi cistica è una zoonosi generalmente grave, talvolta mortale, con costi significativi per la sanità pubblica (nel 1990 veniva stimato a 11.000 € il costo chirurgico di un caso di idatidosi umana) e dal 1991, su disposizione del Ministero della Sanità, l'ISTAT non riporta più nei suoi annuari il numero di casi di idatidosi umana, vista la loro netta diminuzione (solo 36 casi rispetto alla media annuale di circa 100 casi osservata negli ultimi decenni; Gabriele et al., 2004). Oltre ai mutamenti socio-economici e igienico-sanitari, la diminuzione dell'incidenza dei casi può essere spiegata anche alla luce dei cambiamenti adottati a livello delle strategie di allevamento e delle misure di prevenzione e controllo messe in atto, sia in ambito medico sia veterinario (*one medicine - one health*). A tutt'oggi l'attività di ispezione svolta nei macelli (sequestro e distruzione dei visceri parassitati degli ospiti intermedi) resta un elemento fondamentale nel contrasto di tale zoonosi, che sembra essere confinata per lo più nelle situazioni di macellazione domestica o di allevamenti non intensivi. E' inoltre importante sottolineare come, a partire dagli anni '60, l'allevamento del suino sia andato incontro a profonde trasformazioni: infatti, al cambiamento nelle strategie di allevamento, da allevamenti rurali di piccole dimensioni a stabilimenti zootecnici a carattere intensivo, è seguito anche il cambiamento delle patologie tipiche della specie suina (Marruchella et al., 2007). Nonostante ciò, l'allevamento e la macellazione del suino destinato al consumo umano rimangono argomenti di interesse attuale perché risulta evidente come, a seconda delle specifiche realtà geografiche, i suini possano provenire da allevamenti di tipo intensivo o dalla tradizionale macellazione domiciliare. Studi di caratterizzazione molecolare che hanno lo scopo di monitorare le parassitosi in entrambi gli ambiti risultano quindi importanti, al fine di avere un quadro epidemiologico aggiornato e per comprendere a fondo i meccanismi che stanno alla base delle modalità di trasmissione di zoonosi di importanza sanitaria, come l'echinococcosi.

## BIBLIOGRAFIA

- Brianti E., Poglayen G., Virga A., Manfredi M.T., Di Cerbo A.R., Varcasia A., Tomaselli A. Giannetto S. (2006) Echinococcosis and hydatid disease in Sicily. *Parassitologia*, 48: 330.
- Busi M., Šnábel V., De Liberato C., D'Amelio S. (2004) Molecular genotyping of *Echinococcus granulosus* hydatid cysts in Italy reveals the presence of three distinct genotypes. *Parassitologia* 46 (1): p164.
- Busi M, Snábel V, Varcasia A, Garippa G, Perrone V, De Liberato C, D'Amelio S. (2007) Genetic variation within and between G1 and G3 genotypes of *Echinococcus granulosus* in Italy revealed by multilocus DNA sequencing. *Vet Parasitol.* 150(1-2):75-83.
- Casulli A., Manfredi M.T., La Rosa G., Cerbo A.R., Genchi C., Pozio E. (2008) *Echinococcus ortleppi* and *E. granulosus* G1, G2 and G3 genotypes in Italian bovines. *Vet. Parasitol.* 155: 168-72.
- Dinkel A., von Nickisch-Roseneck M., Bilger B., Merli M., Lucius R., Romig T. (1998) Detection of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host: coprodiagnosis by PCR as an alternative to necropsy. *J. Clin. Microbiol.* 36 (7): 1871-6.
- Gabriele F., Bortoletti G., Conchedda M., Palmas C., Ecça A.R., 2004. Idatidosi cistica umana in Italia: un problema di salute pubblica? Tra passato e presente. *Parassitologia*, 46(1-2), 39-43.

- Garippa G., Varcasia A., Scala A. Cystic echinococcosis in Italy from the 1950s to present. (2004) *Parassitologia* 46 (4): 387-91.
- Giangaspero, A., Paoletti, B., Gatti, A., Iorio, R., Traversa, D., Capelli, G., Manfredi, M.T., Varcasia, A., Garippa, G., (2006) The epidemiological scenario of echinococcosis in the Abruzzo region. *Parassitologia* 48, 338
- Giannetto S., Poglayen G., Brianti E., Sorgi C., Gaglio G., Canu S., Virga A. (2004) An epidemiological updating on cystic echinococcosis in cattle and sheep in Sicily, Italy. *Parassitologia* 46 (4): 423-4.
- Manfredi M.T., Casulli A., La Rosa G., Di Cerbo A.R., Trevisio K., Genchi C., Pozio E. (2006) *Echinococcus multilocularis* in north Italy. *Parassitol.* 48 (1-2): 43-6.
- Marcato P. S. (1998) Patologia Suina, Prima Edizione, Edagricole Bologna.
- Marruchella G., Romanelli P., Baffoni M., Saccoccia M., Salini G., Di Guardo G. (2007) Cisticercosi Epatica da *Cysticercus tenuicollis* e Broncopolmonite Verminosa da *Metastrongylus* spp. in Suini Macellati per Uso Familiare. Atti della Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini, Vol. XXXIII, 269-275.
- Rinaldi L, Maurelli MP, Veneziano V, Capuano F, Perugini AG, Cringoli S. (2008) The role of cattle in the epidemiology of *Echinococcus granulosus* in an endemic area of southern Italy. *Parasitol Res.* 103(1):175-9.
- Scala A., Garippa G., Varcasia A., Tranquillo V.M., Genchi C. (2006) Cystic echinococcosis in slaughtered sheep in Sardinia (Italy). *Vet. Parasitol.* 135: 33-8.
- Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecul. Biol. Evol.* 24: 1596-1599.
- Thompson, R.C.A., McManus, D.P. (2002). Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends in Parasitol.* 18, 452-457.
- Varcasia A., Canu S., Lightowlers M.W., Scala A., Garippa G. (2006) Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* strains in Sardinia. *Parasitol. Res.* 98: 273-7.
- Varcasia A., Toscirci G., Pedes T., Pipia A.P., Marrosu R., Scala A. Garippa G. (2007) Cystic Echinococcosis in pigs and wild boars of Sardinia (Italy). Proceedings of 6th International Symposium on the Mediterranean Pig, 102-105.