



S.I.Me.Ve.P.



S.I.Ve.M.P.

Settore IZS

CONVEGNO NAZIONALE

**3^a GIORNATA DEI CENTRI E DEI LABORATORI
DI REFERENZA NAZIONALI
DEGLI ISTITUTI ZOOPROFILATTICI
SPERIMENTALI NELL'OTTICA ONE HEALTH**

“Esistono solo due cose: scienza ed opinione; la prima genera conoscenza, la seconda ignoranza” (Ippocrate)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

HEV: il ruolo degli IIZZSS nelle aree iperendemiche

Caterina Raso

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio
e della Toscana M. Aleandri

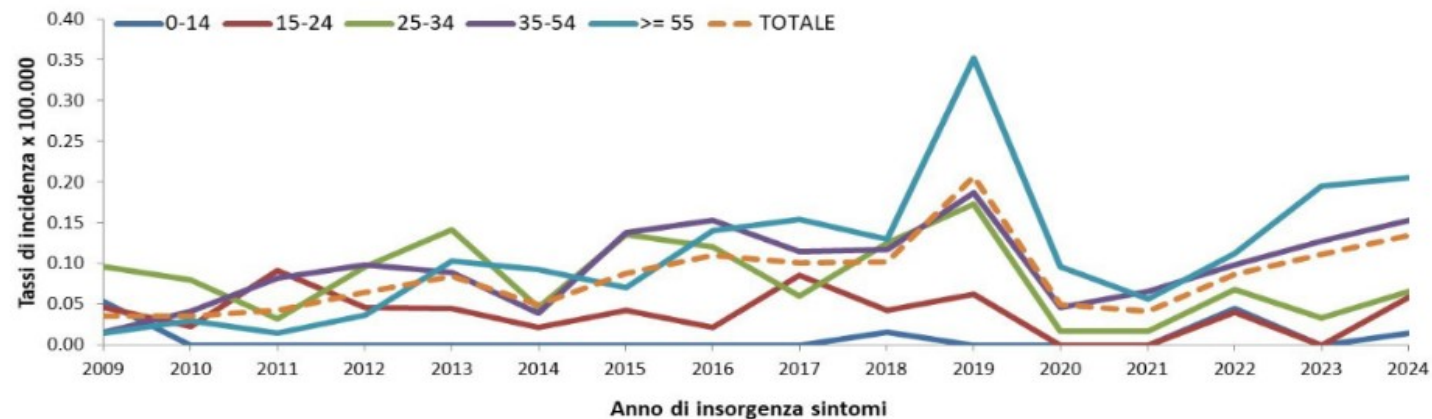
UOT Lazio Nord, Sede di Rieti



Dati SEIEVA 2009-2024

Epatite E

ANDAMENTO TEMPORALE. Incidenza dei casi per classe di età dal 2009 al 2024

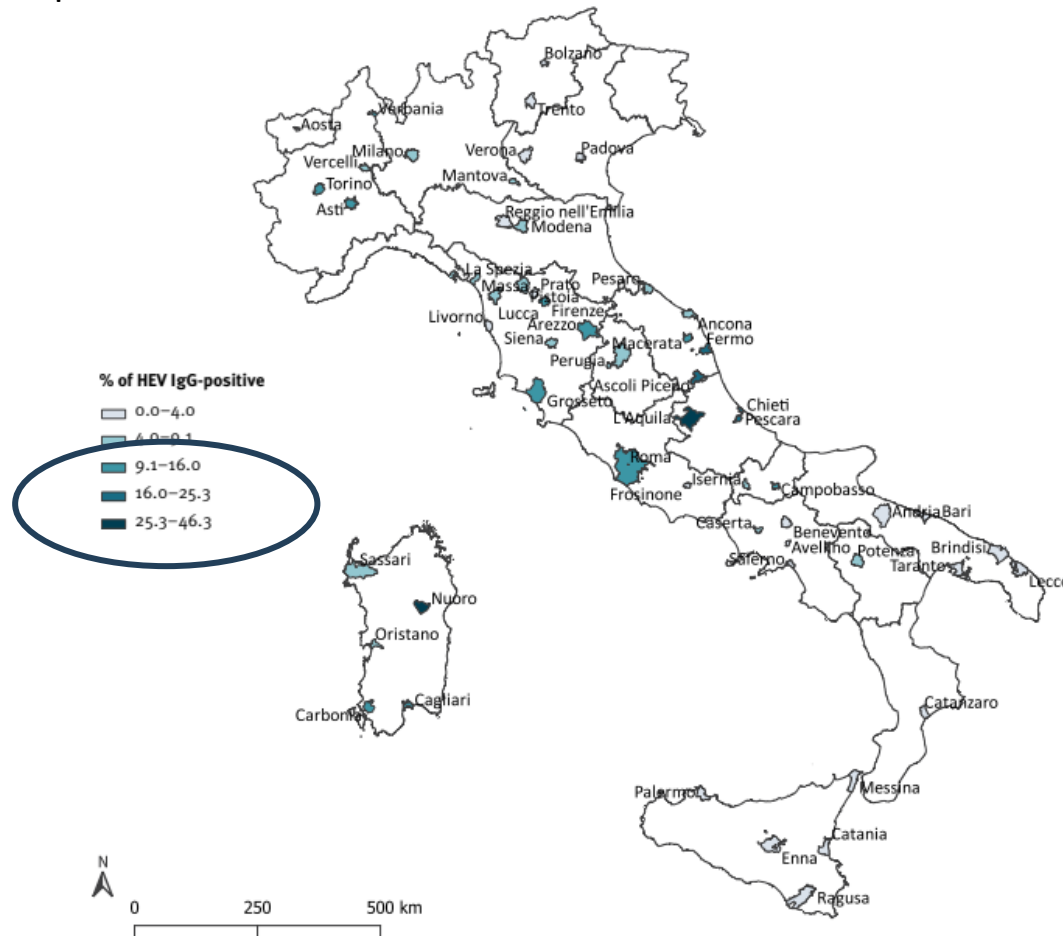


- Picco 2019: focolai epidemici nelle regioni Marche, Lazio e Abruzzo.
- Trend in aumento. HEV terza causa in Italia di epatite virale acuta. Casi epatite E > epatite C
- Maggior parte dei casi **autoctoni**, in anamnesi consumo di **carne suina** cruda o poco cotta o **carne di cinghiale** cruda o poco cotta.
- Elevata sottonotifica legata alla mancata diagnosi (sintomatologia non conclamata o decorso asintomatico)

Sieroprevalenza negli individui sani

Prevalence of anti-HEV IgG in blood donors, by province of blood establishment, Italy, 2017–2019 (n = 7,172)

Spada et al. 2022

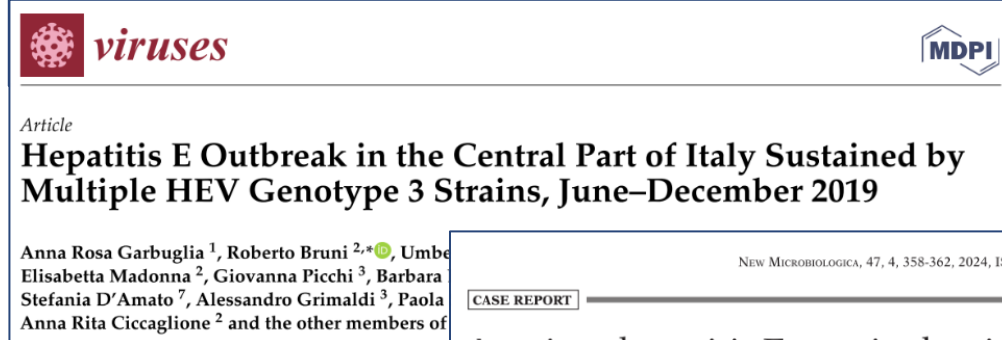
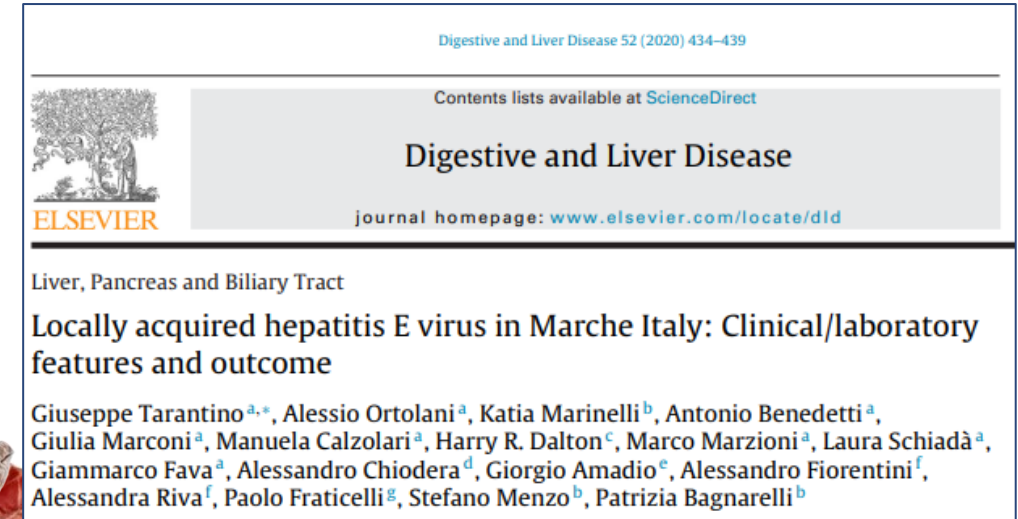


Associazione significativa tra l'infezione e le seguenti variabili:

- pratica della caccia
- consumo abituale di salumi/salsicce a base di fegato di suino
- consumo di preparati a base di carne suina di produzione artigianale

Elevata sieroprevalenza in alcune aree legata a abitudini alimentari (spesso profondamente radicate in certe Regioni) e a fattori ambientali (es. allevamento brado di suini a contatto con i cinghiali in Sardegna).

L'area iperendemica del Centro Italia



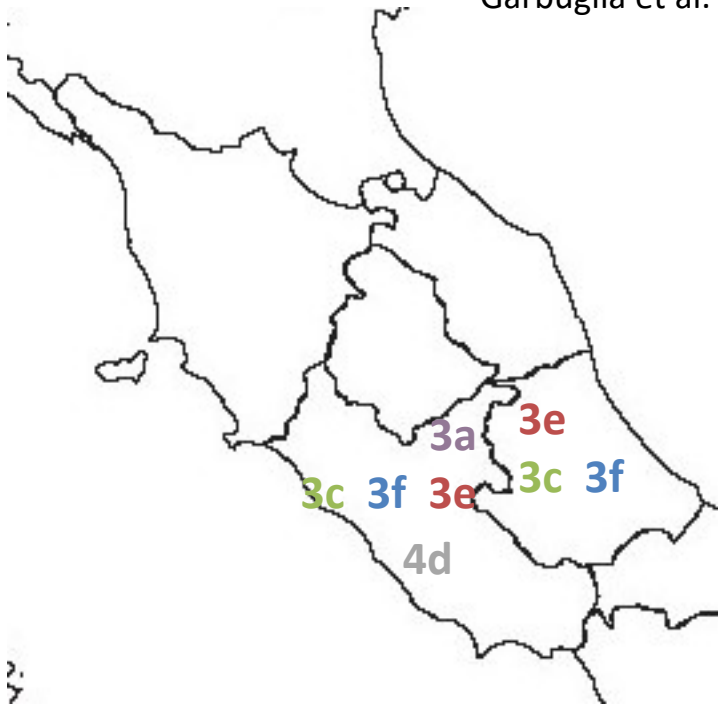
**Serbatoio ha
mantenuto il
virus nell'area**

- Anamnesi: consumo di preparazioni a base di carne o fegato di suino o cinghiale crude o poco cotte
- Non è stato possibile eseguire una conferma molecolare sugli alimenti ritenuti responsabili di MTA (lungo periodo di incubazione, indisponibilità resti di alimento)

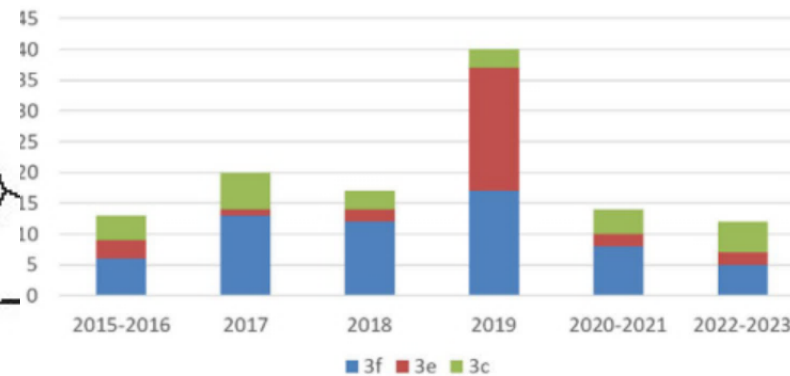
HEV - Sottotipi circolanti



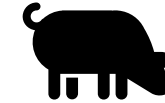
De Sabato et al. 2020
Garbuglia et al. 2013
Garbuglia et al. 2024



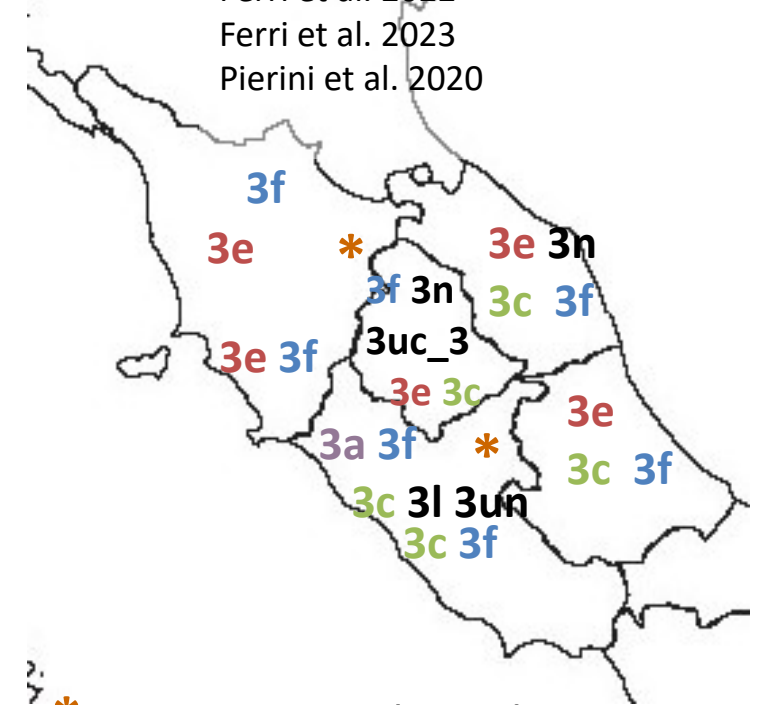
3f, 3e, 3c subtypes by year (n° cases)
(2019 includes cases from an outbreak by 3f/3e strains)



Casi umani in Lazio e Abruzzo,
Garbuglia et al. 2024



Aprea et al. 2018
Aprea et al. 2020
Beikpour et al. 2023
De Sabato et al. 2024
De Santis et al. 2018
Ferri et al. 2022
Ferri et al. 2023
Pierini et al. 2020



* Aree oggetto di studio **RCLT0723**

HEV e ruolo degli IIZZSS

- Analisi per HEV su matrici alimentari nell'ambito di CU focolai MTA
- Monitoraggio della prevalenza di HEV e dei sottotipi circolanti
- Individuazione di serbatoi animali e ambientali
- Sviluppo di nuovi metodi diagnostici

Ricerche correnti HEV in corso:



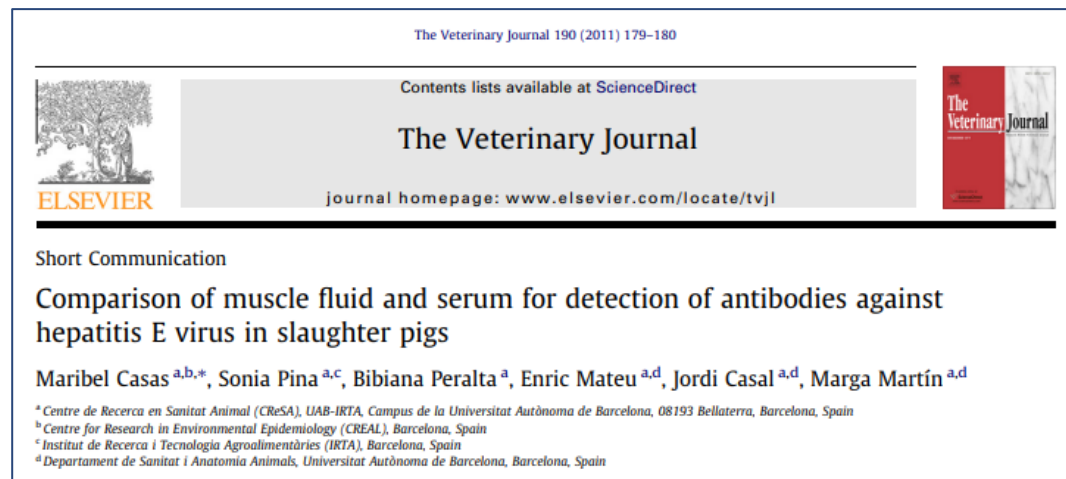
Ministero della Salute

- **LT0723** (IZSLT, ISS, Regione Toscana, ASL di Rieti, AAUUSSLL Toscana Centro e Toscana Sud Est) - *Gli ungulati selvatici come reservoir e sentinelle di agenti infettivi zoonosici: modello di sorveglianza sanitaria integrata per un controllo sulla trasmissione all'interfaccia uomo-animale, basato sul rischio, nelle regioni Lazio e Toscana.*
- **LT0124** (IZSLT, IZSUM, ISS, Regione Lazio e Regione Toscana) - *Studio del ruolo dei cinghiali e dei canidi domestici e selvatici in Centro Italia per agenti infettivi e zoonosici a ciclo silvestre.*



Diagnosi indiretta

- ELISA IgM/ IgA / IgG
 - Sieroprevalenza in popolazioni animali
 - Kit uomo modificati per il suino

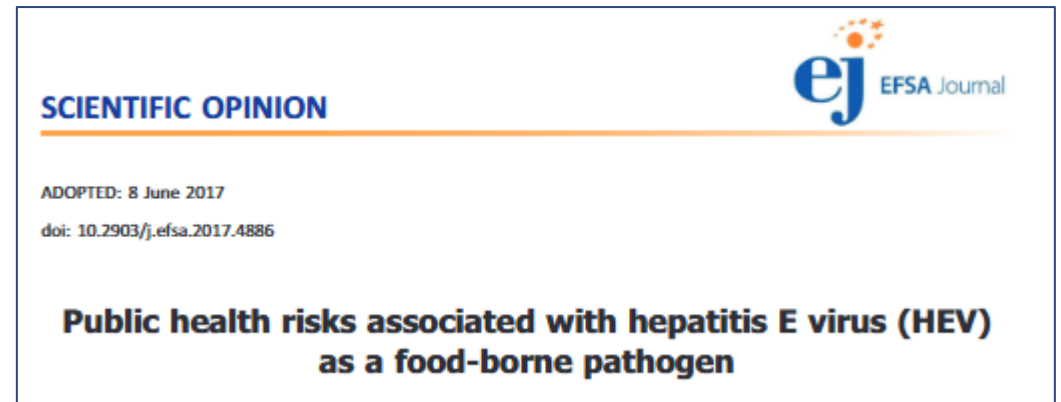


Matrice meat juice > possibile testare animali macellati, cacciati o sottoposti a necroscopia

Nota: suini viremici o infetti possono essere sieronegativi > la ricerca di Ab **non** è pertanto impiegabile per lo screening di matrici alimentari

Diagnosi diretta

- RT-PCR
 - Convenzionale o real-time (RT-qPCR)
 - Sensibilità ottimale
 - Gold standard per le indagini su **matrici alimentari** in casi di **MTA**, con protocolli validati
 - Successivo sequenziamento per id sottotipo e analisi filogenetiche
- ELISA Ag
 - Antigene del capside (proteina ORF2)
 - Correlazione significativa EIA (S/CO) and HEV RNA (IU/mL) ma Se inferiore a RT-qPCR (Zhang et al., 2006; Zhao et al., 2015)
 - **Kit commerciali validati su siero/plasma umano**



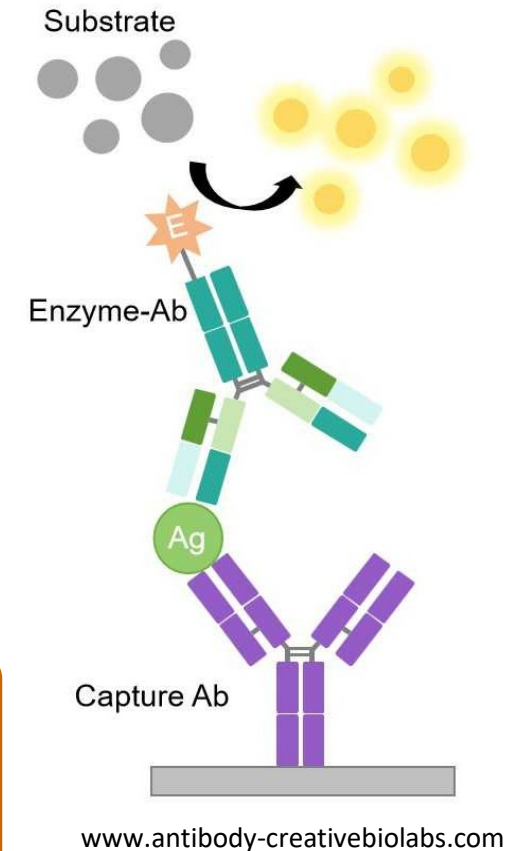
HEV Ag ELISA su fegato di cinghiale - RCLT0723

Estrazione proteica:

- omogenato di fegato + buffer di lisi
- Centrifugazione a 10.000 RPM x 5 min (4° C) e prelievo del surnatante

ELISA Ag su estratto proteico, kit Creative Diagnostics®, metodo ELISA sandwich

Lettura dell'assorbanza allo spettrofotometro: doppia lunghezza d'onda (450-620 nm). Cut-off D.O.= 1



Performance del kit su fegato: risultati preliminari

Obiettivo: valutazione della performance del test su fegato di cinghiale
RT-qPCR = gold standard di riferimento

	RT-qPCR +	RT-qPCR -
ELISA Ag +	25	0
ELISA Ag -	7	91

Dati **preliminari** :

- VPP= 100%
- VPN= 92%
- Sp= 100%
- Se= 78%

Prospettiva:

- Metodo più rapido ed economico della RT-PCR, eseguibile in lab meno attrezzati
- Impiego: studi epidemiologici o screening su larga scala di matrici alimentari





S.I.Me.Ve.P.



S.I.Ve.M.P.

Settore IZS



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

CONVEGNO NAZIONALE

3^a GIORNATA DEI CENTRI E DEI LABORATORI
DI REFERENZA NAZIONALI
DEGLI ISTITUTI ZOOPROFILATTICI
SPERIMENTALI NELL'OTTICA ONE HEALTH

*“Esistono solo due cose: scienza ed opinione; la prima
genera conoscenza, la seconda ignoranza” (Ippocrate)*

Grazie per l'attenzione

caterina.raso@izslt.it

