

Un nuovo metodo per la rilevazione delle tossine botuliniche senza l'impiego di animali da laboratorio



L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSve) ha validato un nuovo metodo per la rilevazione dell'attività biologica delle tossine botuliniche di tipo C e D ed i rispettivi mosaici CD e DC alternativo all'uso di animali da laboratorio. Lo

studio è stato condotto dai ricercatori dalla [sezione di Treviso](#) dell'IZSve, in collaborazione con il Centro di riferimento nazionale per il botulismo dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e i Centers for Disease Control and Prevention (CDC) di Atlanta (USA), e pubblicato sulla rivista scientifica [Toxins](#).

Le tossine botuliniche sono **proteine neurotossiche**, prodotte da batteri per lo più del genere *Clostridium*, che causano il botulismo, una malattia potenzialmente fatale che provoca paralisi flaccida. Sono attualmente conosciuti 7 sierotipi della tossina botulinica, denominati con le lettere dalla A alla G. Le tossine di tipo A, B, E ed F sono principalmente causa di botulismo nell'uomo, mentre i tipi **C e D interessano gli animali**.

Il test di riferimento per l'identificazione delle tossine botuliniche è la prova biologica su topo. L'IZSve, in collaborazione con ISS e CDC, ha validato un nuovo metodo per la rilevazione dell'attività biologica delle tossine

botuliniche di tipo C e D senza l'impiego di animali da laboratorio, basato sull'utilizzo di uno spettrometro di massa comunemente presente nei laboratori di microbiologia diagnostica.

La disponibilità di un metodo sensibile, affidabile e rapido per la rilevazione di queste tossine è determinante sia per la salute umana sia per quella animale. Il test di riferimento per l'identificazione delle tossine botuliniche è la **prova biologica su topo**. Tale metodo seppur molto sensibile e specifico grazie all'uso di antisieri per i singoli sierotipi, prevede però il sacrificio di numerosi animali e richiede almeno quattro giorni per la conferma di un esito negativo. Il sacrificio di animali ad uso diagnostico pone inoltre numerosi problemi di carattere etico, e per tale motivo si stanno cercando sempre nuovi **metodi alternativi** che non prevedano l'uso di animali da laboratorio.

Il nuovo metodo denominato **"EndoPep-MS"** è stato inizialmente sviluppato dai ricercatori dei CDC di Atlanta utilizzando spettrometri di massa ad alta risoluzione, molto costosi e che possono essere utilizzati solo da personale altamente qualificato. Tale peculiarità lo rendeva poco impiegabile nei comuni laboratori di diagnostica. I ricercatori dell'IZSve hanno invece validato e implementato il metodo **"EndoPep-MS"** **utilizzando uno spettrometro di massa comunemente presente nei laboratori di microbiologia diagnostica** sia in campo umano che veterinario.

I test hanno dimostrato che il metodo **"EndoPep-MS"** può essere applicato con **risultati sovrapponibili o addirittura migliori in termini di sensibilità rispetto alla prova biologica per la rilevazione delle tossine botuliniche C e D** e per le loro forme a mosaico CD e DC, anche su strumenti meno performanti di quelli con cui è stato sviluppato. I risultati permettono di considerare questo metodo come una valida alternativa alla prova biologica su topo, in quanto può essere facilmente eseguito nei laboratori di microbiologia senza la necessità di

personale specializzato nella spettrometria di massa.

Fonte: IZS Venezie