



## Caratterizzazione fenotipica e genotipica di ceppi di *Streptococcus spp.* isolati da focolai di mastite ovina e caprina e utilizzati per la produzione di vaccini stabulogeni

**Relatori:** Tola Sebastiana e Rosa Maria Nives

### Ricerca Corrente: IZS SA 04/15

La ricerca corrente IZS SA 04/15 è stata articolata in due parti: nella prima parte è stata analizzata una collezione di 195 ceppi di *Streptococcus*, isolati in Sardegna da campioni di latte ovino e caprino. Nella seconda, sono stati caratterizzati fenotipicamente e genotipicamente solo gli isolati di *Streptococcus (S.) uberis*. Lo scopo della ricerca è stato quello di 1) comparare l'accuratezza di tre differenti metodi di identificazione degli streptococchi: API® 20 Strep, PCR-RFLP e MALDI-TOF MS\*, 2) genotipizzare gli isolati di *S. uberis* mediante PFGE e MLST e 3) valutare la suscettibilità antimicrobica degli isolati di *S. uberis*. Per l'analisi di PCR-RFLP, è stato utilizzato come target il gene gap. In seguito all'allineamento delle sequenze nucleotidiche relative al gene gap di diverse specie di *Streptococcus*, è stato disegnato un set di primers tale da amplificare una porzione di DNA pari a 945 bp. Gli amplificati del gene gap, ottenuti dai ceppi di riferimento e dagli isolati, sono stati sottoposti ad analisi di restrizione (RFLP) mediante l'utilizzo dell'enzima AluI. Quando il profilo di restrizione degli isolati era differente rispetto a quelli ottenuti con i ceppi di riferimento, il gene gap è stato sequenziato per l'identificazione definitiva dell'isolato. Molti degli isolati (n=124, corrispondenti al 63,6%) hanno mostrato un profilo di PCR-RFLP identico a quello dello *Streptococcus (S.) uberis* type strain, seguiti dallo *S. suis* (n=14, pari al 7,2%). Complessivamente un totale di 161 isolati, all'analisi mediante API® 20 Strep, hanno presentato un'identificazione concorde con la PCR-RFLP mentre con il MALDI-TOF si è arrivati ad un numero di 166 isolati. In conclusione, la PCR-RFLP è il metodo più accurato e riproducibile per l'identificazione degli streptococchi isolati da campioni di latte; tuttavia l'alto costo dei reagenti e la difficoltà tecnica non lo rende adatto alla diagnosi routinaria. Nel nostro studio, l'accuratezza del MALDI-TOF MS nell'identificare gli streptococchi a livello di specie non è perfetta, tuttavia riteniamo che il MALDI-TOF abbia il vantaggio in termini di rapidità e semplicità di esecuzione con costi relativamente bassi.

Small Ruminant Research 180 (2019) 35–40



Contents lists available at ScienceDirect

Small Ruminant Research

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/smallrumres](http://www.elsevier.com/locate/smallrumres)



Comparison of PCR-RFLP, API® 20 Strep and MALDI-TOF MS for  
identification of *Streptococcus spp.* collected from sheep and goat milk  
samples



Nives Maria Rosa<sup>a</sup>, Fabrizio Agnoletti<sup>b</sup>, Stefano Lollai<sup>a</sup>, Sebastiana Tola<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, 07100 Sassari, Italy

<sup>b</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, 31100 Treviso, Italy