



IZSAM G. CAPORALE
TERAMO

Coxiella, Rickettsia, Anaplasma: attività di ricerca, risultati e prospettive future

Ilaria Pascucci e Marco Di Domenico
IZS Abruzzo e Molise – Teramo
Teramo 3 novembre 2016

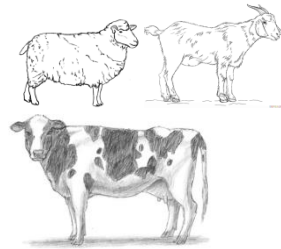


Attività diagnostiche: motivazioni

1. Piani di monitoraggio sulla fauna selvatica su agenti zoonotici trasmessi da zecche



2. Necessità di avere metodi diagnostici affidabili per la diagnosi di febbre Q nel caso di aborto nei ruminanti



3. Necessità di avere metodi in grado di rilevare la presenza dei patogeni in campioni provenienti da casi umani e nelle zecche prelevate dall'uomo



Attività diagnostiche: campioni

I test sono stati effettuati su:

- **milza e/o sangue** di **ruminanti selvatici** e su altre specie anche in accordo con specifiche richieste o sospetti diagnostici;
- **tutte le zecche raccolte da fauna selvatica o pervenute in laboratorio raccolte da animali e soprattutto prelevate dall'uomo**, previo riconoscimento di specie;
- in campioni di tessuti fetali in **caso di aborto**, e campioni (latte, tamponi vaginali) provenienti da allevamenti dove è stata confermata la presenza di **Coxiella**.



Attività diagnostiche: test


I campioni raccolti sono stati testati per i seguenti patogeni :

- *Babesia sp* (PCR)
- *Anaplasma phagocytophilum* (PCR e RealTime PCR)
- *Borrelia burgdorferi* s.l. (RealTime PCR)
- *F. tularensis* (fino al 2015) (RealTime PCR)
- *Coxiella burnetii* (RealTime PCR)

Sui campioni positivi sono state effettuate ulteriori indagini di caratterizzazione molecolare



Attività diagnostiche: *Rickettsia* sp



Successivamente anche a seguito di segnalazioni nell'uomo e di richieste specifiche pervenute dagli ospedali è stata messa a punto una **metodica RealTime** basata sul target **23S** per la diagnosi di ***Rickettsia* sp** e tre PCR specifiche basate sui target ***OmpA*, *OmpB* e *gltA*** che seguite dal sequenziamento ne permettono l'identificazione di specie.

L'accertamento è stato quindi inserito nei protocolli di indagine



Anaplasma phagocytophilum nei ruminanti selvatici

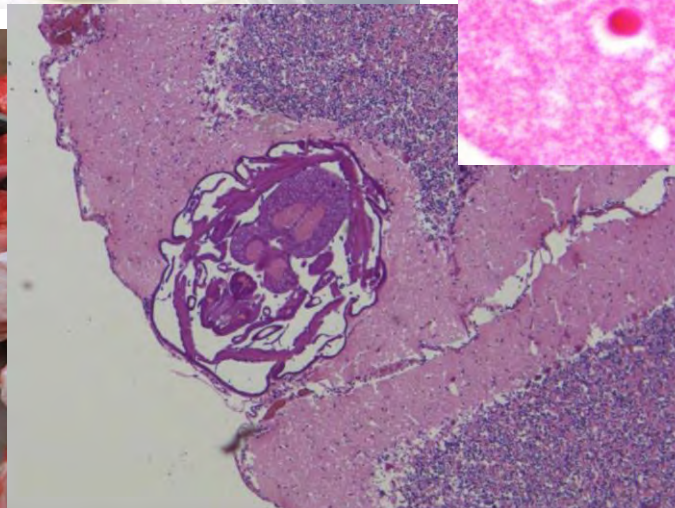
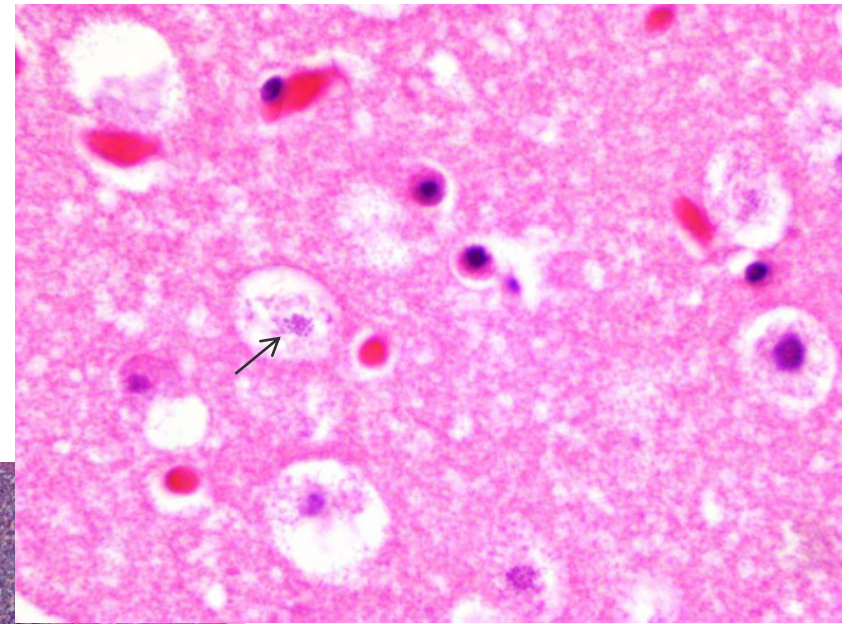
Nell'ambito delle attività di monitoraggio dello stato sanitario della fauna selvatica è stata effettuata la ricerca di *A.phagocytophilum* mediante RealTime PCR su campioni di milza e zecche identificate come *Ixodes ricinus* provenienti da ruminanti selvatici ritrovati morti nel territorio di competenza dell'IZSAM

Specie	Testati
Cervo (<i>Cervus elaphus</i>)	12
Camoscio appenninico (<i>Rupicapra pyrenaica ornata</i>)	9
Capriolo (<i>Capreolus capreolus</i>)	59
Daino (<i>Dama dama</i>)	1
Muflone (<i>Ovis musimon</i>)	6
	87

Un possibile caso clinico in un piccolo di capriolo??

Diagnostic findings in a young roe deer (*Capreolus capreolus*, Linnaeus 1758) with neurological signs

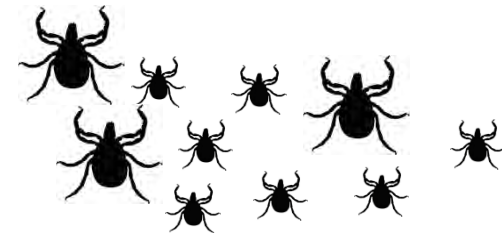
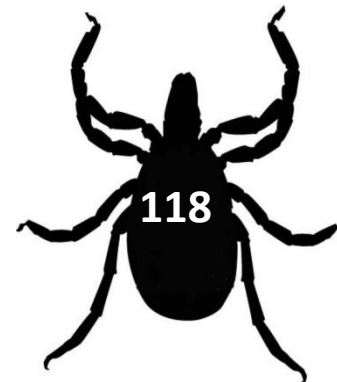
Ilaria Pascucci¹, Daria Di Sabatino¹, Simone Angelucci², Francesca Dall'Acqua¹,
Cinzia Pompilii¹, Giuliana Pompei¹, Gabriella Di Francesco¹, Massimo Scacchia¹
¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo, Italy.
²Fondazione Medica della Molise, Foggia, Italy.



Monitoraggio sanitario nei cinghiali

Nel piano di monitoraggio sanitario condotto su cinghiali cacciati o prelevati nei piani di abbattimento selettivo, sono stati inseriti nel protocollo i seguenti patogeni da ricercarsi su campioni di milza e su pool zecche previo riconoscimento di specie e stadio di sviluppo.

1. *Coxiella burnetii*
2. *Anaplasma phagocytophilum*
3. *Rickettsia* spp.
4. *Francisella tularensis*



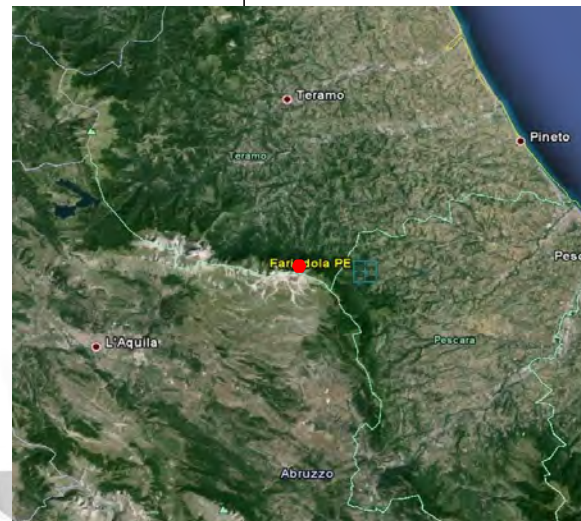
40 pool

**Attività di ricerca su
roditori selvatici**




Attività di ricerca : Studio di carattere eco-epidemiologico sul ruolo dei roditori come agenti zoonosici RC 2007

Un primo studio pilota sul ruolo dei roditori selvatici come serbatoio di agenti zoonosici trasmessi da zecche (*B. burgdorferi*, *F. tularensis*, *A. phagocytophaga*) condotto nell'ambito di un progetto del Parco Nazionale del Gran Sasso e della Laga negli anni 2008 -2009 in un'area attorno al comune di Farindola caratterizzata da un elevato grado di biodiversità e dall'allevamento di ovi-caprini di tipo rurale.



Attività di ricerca : Studio di carattere eco-epidemiologico sul ruolo dei roditori come agenti zoonosici RC 2007



I roditori sono stati trappolati mediante l'attivazione di 47 trappole LOT per due notti consecutive a sessione in 15 sessioni di cattura dal febbraio 2008 a luglio 2009 svolte in 4 siti attorno al comune di Farindola

I roditori catturati sono stati sedati, identificati tramite marca auricolari e contestualmente sono state raccolte le misure biometriche.



Attività di ricerca : Studio di carattere eco-epidemiologico sul ruolo dei roditori come agenti zoonotici RC 2007

Alcune gocce di sangue sono state raccolte dalla vena caudale e conservate su FTA cards (Whatman Inc., Florham Park, NJ),



Le zecche sono state prelevate e conservate in provette contenenti Etanolo al 70% .



Attività di ricerca : Studio di carattere eco-epidemiologico sul ruolo dei roditori come agenti zoonotici RC 2007

Sono stati catturati e prelevati 143 roditori delle specie *M. glareolus* (29%) e *Apodemus* sp. (71%). Sui campioni di sangue conservati mediante FTA sono stati eseguiti i test RealTime per i patogeni selezionati

Specie	<i>Borrelia burgdorferi</i> s.l.		<i>Coxiella burnetii</i>	
	positivi / esaminati	Prevalenza stimata (95%CI)	positivi / esaminati	Prevalenza stimata (95%CI)
<i>Apodemus</i> sp.	7/101	6.93% (3.45% - 13.63%)	2/101	1.98% (0.61% - 6.90%)
<i>Myodes glareolus</i>	5/42	11.90% (5.30% - 25.08%)	0/42	0% (0% - 6.73%)
Totali	12/143	8.39% (4.89% - 14.10%)	2/143	1.40% (0.43% - 4.93%)

Tutti i campioni sono risultati negativi per *Anaplasma phagocytophilum* e *Francisella tularensis*



Attività di ricerca : Studio di carattere eco-epidemiologico sul ruolo dei roditori come agenti zoonotici RC 2007

Sono state raccolte 172 zecche e testate in Real Time raggruppate in 88 pool da 2/3 zecche per specie di zecca e roditore di provenienza

		Pool Positivi	
Specie di zecca	Specie roditore	<i>Borrelia burgdorferi</i> s.l.	<i>Coxiella burnetii</i>
<i>I. acuminatus</i>	<i>Apodemus</i> sp.	5	4
	<i>Myodes glareolus</i>	3	2
<i>I. ricinus</i>	<i>Apodemus</i> sp.	1	4
	<i>Myodes glareolus</i>	1	-
<i>R. turanicus</i>	<i>Apodemus</i> sp.	2	-
	<i>Myodes glareolus</i>	1	-
<i>Ixodes</i> sp.	<i>Apodemus</i> sp.	-	1
	<i>Myodes glareolus</i>	-	-
Totale	<i>Apodemus</i> sp.	8	9
	<i>Myodes glareolus</i>	5	2
	Totale	13	11

Il tasso di infezione nelle zecche è stato del 5.19% e del 4.35% rispettivamente per *B. burgdorferi* s.l. e per *C. burnetii*. Tutti i campioni sono risultati negativi per *Francisella tularensis* e *Anaplasma phagocytophilum*

Attività di ricerca : Studio di carattere eco-epidemiologico sul ruolo dei roditori come agenti zoonotici RC 2007

Detection of Lyme Disease and Q Fever Agents in Wild Rodents in Central Italy

Ilaria Pascucci, Marco Di Domenico, Francesca Dall'Acqua, Giulia Sozio, and Cesare Cammà


Abstract

The maintenance of tick-borne disease agents in the environment strictly depends on the relationship between tick vectors and their hosts, which act as reservoirs for these pathogens. A pilot study aimed to investigate wild rodents as reservoirs for zoonotic tick-borne pathogens (*Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.), *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*, and *Anaplasma phagocytophilum*) was carried out in an area of Gran Sasso e Monti della Laga National Park (Abruzzi Region, central Italy), a wide protected area where, despite sporadic reports of infection in humans and animals, eco-epidemiological data on these diseases are still not available. Rodents were trapped and released at the capture site after the collection of feeding ticks and blood samples. In all, 172 ticks were collected; the most frequent species was *Ixodes acuminatus* (53%). Out of 88 tick pools, 11 resulted positive for *C. burnetii* and 13 for *B. burgdorferi* s.l.; the *Borrelia afzelii* genospecies was identified in one *Ixodes ricinus* tick collected from one *Apodemus* sp. rodent. Out of 143 blood samples, seven *Apodemus* spp. and five *Myodes glareolus* were positive for *B. burgdorferi* s.l. and two *Apodemus* spp. were positive for *C. burnetii*. All samples (ticks and blood) were negative for *F. tularensis* and *A. phagocytophilum*. This is the first report of *B. burgdorferi* s.l. in the environment for Abruzzi Region. Data on the presence of *B. burgdorferi* s.l. are similar to that observed in other Mediterranean countries. The present work is also the first report of *C. burnetii* in wild rodents in Italy. *C. burnetii* infection has been largely investigated in Italy in ruminant farms by serology and molecular methods, but information on ecology and on the wild cycle are still lacking. Further studies including genotyping should be performed and species-specific differences between wild rodent reservoirs of Q fever and Lyme disease agents should be investigated.

Key Words: *Anaplasma phagocytophilum*—*Apodemus*—*Borrelia burgdorferi* s.l.—*Coxiella burnetii*—*Francisella tularensis*—Ixodidae—*Myodes*—Reservoir—Ticks—Zoonosis.



Attività di ricerca :



Micro vertebrati come serbatoi di malattie emergenti. Studio di carattere eco-epidemiologico volto all'identificazione del ruolo svolto dalla microfauna nel mantenimento nell'ambiente di alcuni agenti zoonotici, con particolare riferimento ad Hantavirus, Usutu virus ed a patogeni trasmessi da zecche RC 2012



Attività di ricerca. Micro vertebrati come serbatoi di malattie emergenti. RC 2012

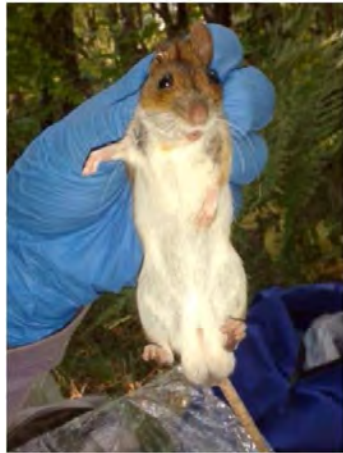


Ottenere informazioni sul ruolo dei roditori selvatici come reservoir di alcuni patogeni tra cui alcuni trasmessi da zecche

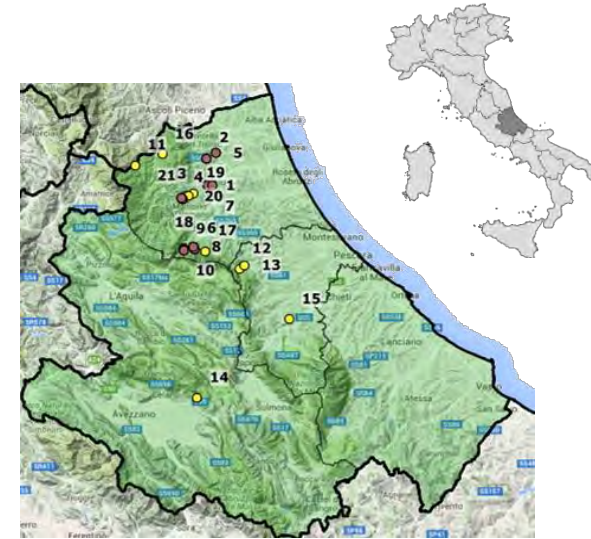
- **Malattia di Lyme-** *Borrelia burgdorferi* sensu lato
- **Rickettsiosi** – Rickettsie dello “spotted fever group”
- **Anaplasmosi umana granulocitica-** *Anaplasma phagocytophilum*
- **Febbre Q-** *Coxiella burnetii*



Attività di ricerca. Micro vertebrati come serbatoi di malattie emergenti. RC 2012



Roditori
live-trapping
(Sherman trappole)
24 siti luglio 2014 Aprile
2016 Abruzzo e Marche



Prelievo di sangue dai roditori mediante
puntura del plesso mandibolare



Prelievo di zecche

Raccolta di zecche **free-living in 8**
siti mediante dragging



Attività di ricerca. Micro vertebrati come serbatoi di malattie emergenti. RC 2012

Specie di roditori trappolati



Myodes glareolus
25



Apodemus flavicollis
97



Apodemus sylvaticus
8



Eliomys quercinus
3



Zecche dai roditori
287



Zecche free living
210 (69 pools)



Attività di ricerca su uccelli migratori



Attività di ricerca su uccelli migratori

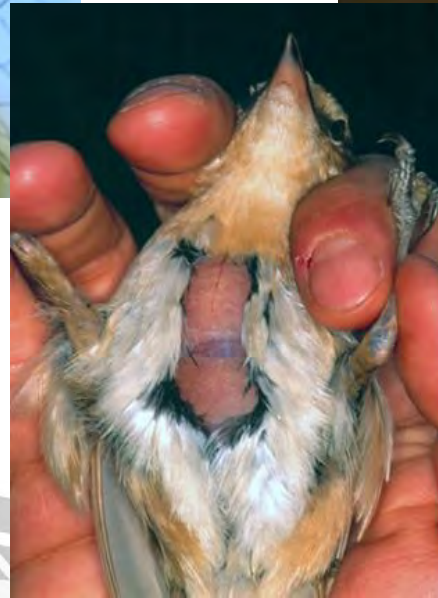
- Nell'ambito delle attività previste dal progetto di Ricerca Finalizzata 2009 ***Origin and evolution of recent vector-borne virus incursions in the Mediterranean Basin***, è stato eseguito in collaborazione con l'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), un monitoraggio sulle zecche presenti sui passeriformi migratori campionati sull'isola di Ventotene durante la migrazione primaverile dell'anno 2013



Attività di ricerca su uccelli migratori

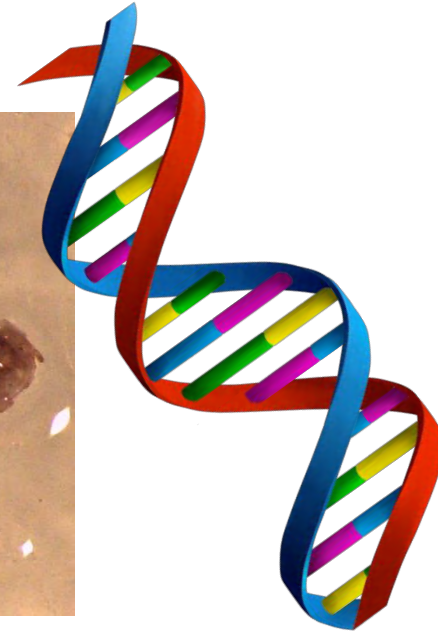
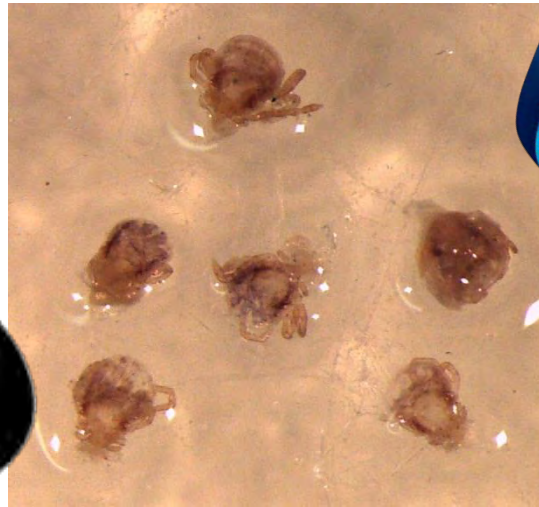
Sono stati catturati 3444 uccelli, dei quali 251 parassitati da zecche.

In totale sono state raccolte **450 zecche**

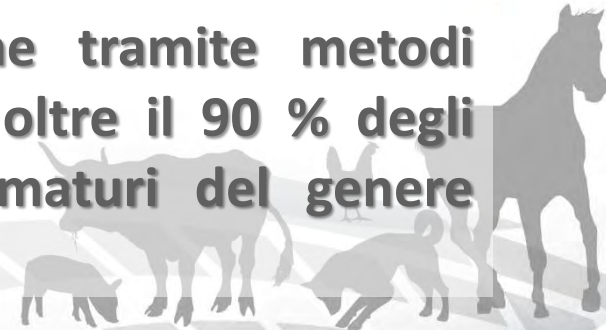


Attività di ricerca su uccelli migratori

- Lo scopo del lavoro è stato quello di comprendere quale ruolo gli uccelli migratori, in particolare i trans-sahariani, abbiano nella dispersione e nell'introduzione di zecche e dei patogeni trasmessi sul territorio Italiano.



- L'identificazione di specie delle zecche tramite metodi molecolari si è resa necessaria poiché oltre il 90 % degli individui raccolti era costituito da immaturi del genere *Hyalomma*.



Continua.....

