



IZSAM G. CAPORALE
TERAMO

Artropodi vettori e relativi patogeni: dal campo al laboratorio




Messa a punto di pannelli diagnostici “dal campo al laboratorio” per artropodi vettori e relativi patogeni (IZS AM 02/18 RC)

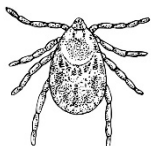
- Negli ultimi anni, alcune importanti malattie trasmesse da vettori sono comparse e/o ricomparse in nuove aree del mondo
- IZSAM ha acquisito una lunga esperienza nello studio entomologico delle malattie trasmesse da vettori, sia in Italia sia all'estero
- Numerosi progetti di ricerca nazionali ed internazionali per raccolta in campo di Culicoides, zecche e zanzare e patogeni correlati



OBIETTIVI



Sviluppo di protocolli
“dal campo al laboratorio”



Rilevare circolazione di
patogeni

Utilizzo di metodiche innovative
(NanoString Technologies)



Approccio trasversale che
include i principali gruppi di
vettori e di patogeni

Progettazione di un sistema
sentinella per la diagnosi
delle VBD nei vettori da
testare in campo



METODI DIAGNOSTICI

- Esistono già metodi diagnostici «convenzionali» (**Real Time-PCR**) per la ricerca di patogeni trasmessi da vettori
- In aggiunta, metodi diagnostici di “nuova generazione” sono stati messi a punto e alcuni di essi permettono un’analisi più veloce e più accurata dei campioni

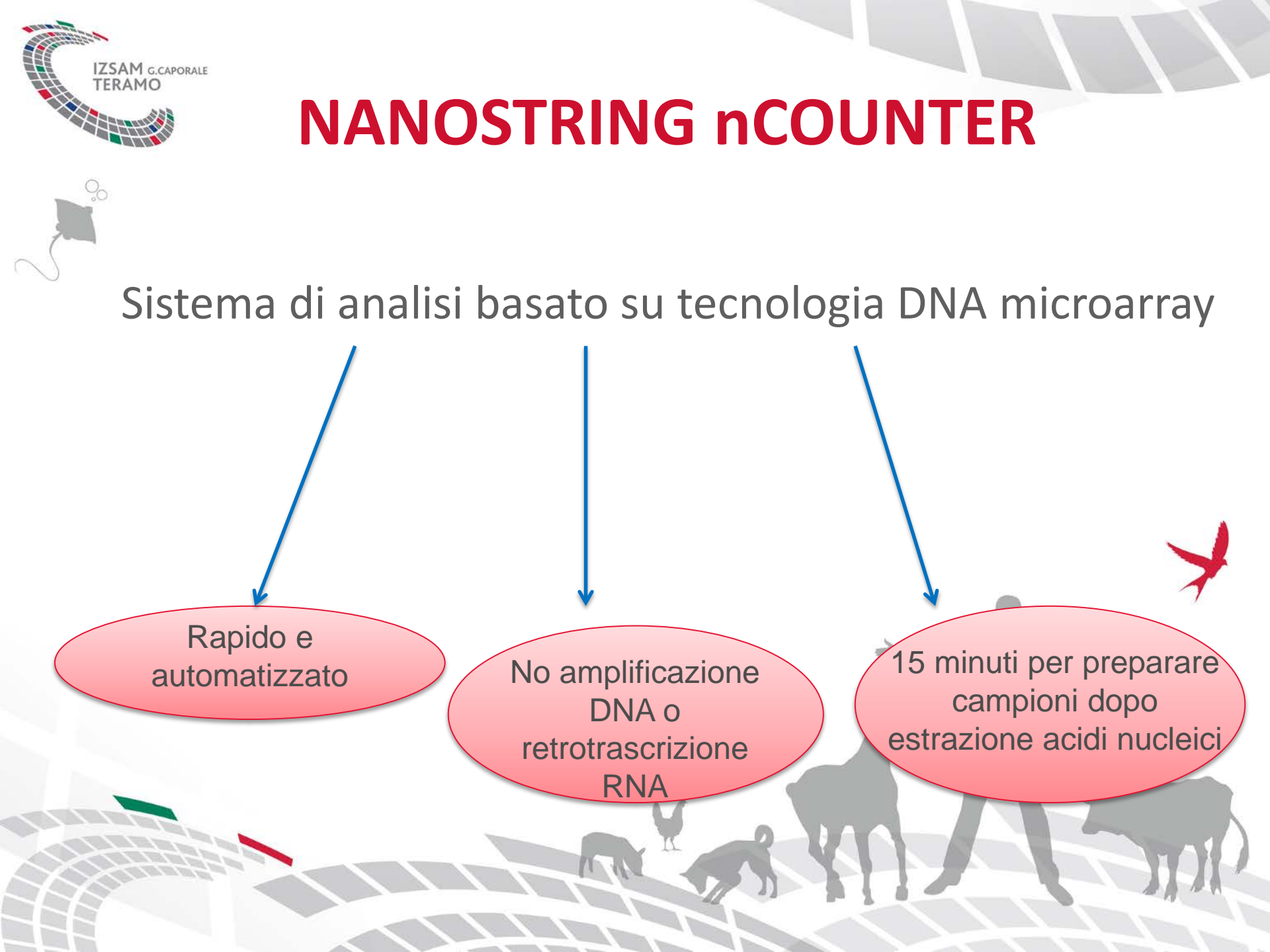


nanoString™



NANOSTRING nCOUNTER

Sistema di analisi basato su tecnologia DNA microarray




Rapido e
automatizzato

No amplificazione
DNA o
retrotrascrizione
RNA

15 minuti per preparare
campioni dopo
estrazione acidi nucleici

PIANIFICAZIONE ATTIVITA'

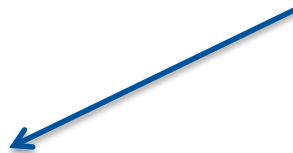


Collaborazione IZSAM - Namibia
(Central Veterinary Laboratory,
University of Namibia)

Selezione siti idonei in Namibia per
cattura vettori in aree endemiche per
Vector Borne Diseases

Attività di campo per catture artropodi
vettori

Test con tecniche diagnostiche
innovative (**Nanostring**)



PANNELLO DIAGNOSTICO

Thogoto virus
African Horse sickness
Aino disease
Akabane
Alkhurma hemorrhagic fever
Bhanja_virus
Bluetongue virus
Bovine ephemeral fever
California encephalitis virus
Chickungunya
Crimean Congo hemorrhagic fever
Chuzan disease (Kasba virus)
Dengue
Epizootic hemorrhagic disease
Equine encephalosis
Japanese encephalitis
Kotonkan disease
Louping ill
Middelburg virus
Nairobi sheep disease
Rift Valley fever
Schmallenberg
Shuni
Semliki forest virus
Usutu virus
Vesicular stomatitis (Alagoa virus)
Vesicular stomatitis 2 (New Jersey virus)
Vesicular stomatitis 3 (Indiana virus)
Vesicular stomatitis 4 (Cocal virus)
Wesselsbron virus
West Nile virus
Yellow fever
Zika fever
Sandfly fever toscana virus
Sandfly fever sicilian virus
Sandfly fever naples virus
Sindbis virus
Culicoides ITS2

- 37 patogeni ad RNA + 1 target per Culicoides

African swine fever virus
Anaplasma phagocytophilum
Anaplasma platys
Anaplasma marginale
Babesia spp
Bartonella spp.
Borrelia burgdorferi
Borrelia myatomoi
Borrelia recurrentis
Capripoxvirus
Coxiella burnetii
Cytauxzoonosis felis
Dirofilaria immitis
Dirofilaria repens
Ehrlichia canis
Ehrlichia risticii
Ehrlichia ruminantium
Francisella tularensis
Hepatozoon canis
Leishmania infantum
Neoerlichia mikurensis
Plasmodium spp
Rickettsia spp
Theileria buffeli
Theileria annulata
Theileria parva
Trypanosoma evansi
Yersinia Pestis
Ixodes spp
Rhipicephalus spp
Hyalomma spp
Dermacentor spp
Culex pipiens
Aedes albopictus
Culicoides

- 28 patogeni a DNA + 7 targets per vettori



ATTIVITA' DI CAMPO

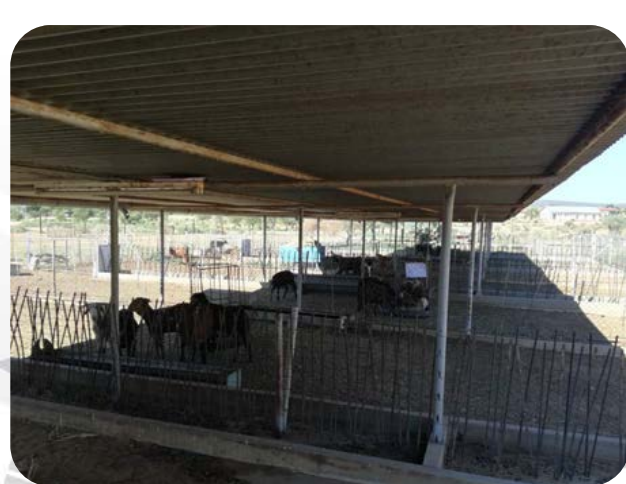


- Scelta dei siti:

- ❖ Presenza storica di malattie e vettori

- ❖ Accessibilità siti

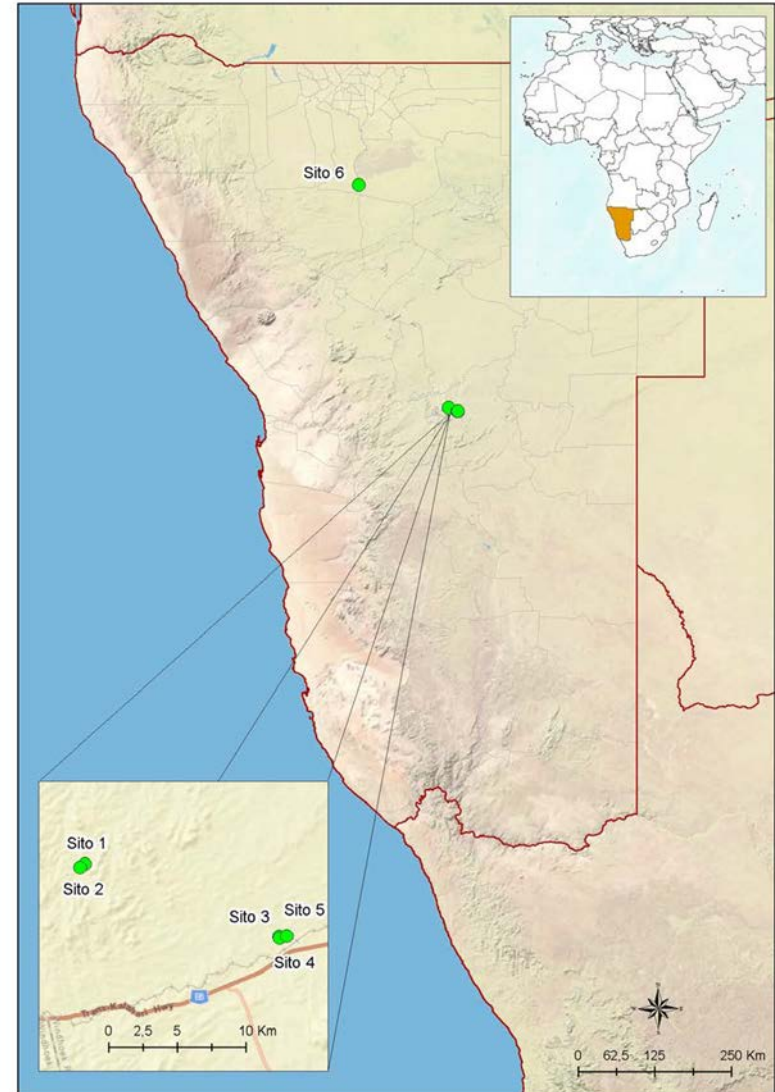
- ❖ Disponibilità di allevatori, proprietari e autorità sanitarie locali a collaborare



ATTIVITA' DI CAMPO

6 SITI DI CATTURA:

- **2 SITI** = località Bergvlug (azienda di proprietà del CVL)
- **3 SITI** = campus della facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università della Namibia – UNAM
- **1 SITO** = Etosha National Park



ATTIVITA' DI CAMPO

- Zecche = raccolta da ospiti vertebrati, prelievo su area perianale, regione toracica, mammelle e orecchie
- Culicoides = **Blacklight trap** (luce ultravioletta)
- Zanzare = Utilizzate due tipologie di trappole:
 - **BG-Sentinel trap** (BG-lure)
 - **CO2-light-trap** (Luce + ghiaccio secco)



ATTIVITA' DI CAMPO

- Campioni identificati per data e sito di cattura
- Conservazione in RNA Later a -80°C e spedizione in Italia per successive analisi



ATTIVITA' DI CAMPO

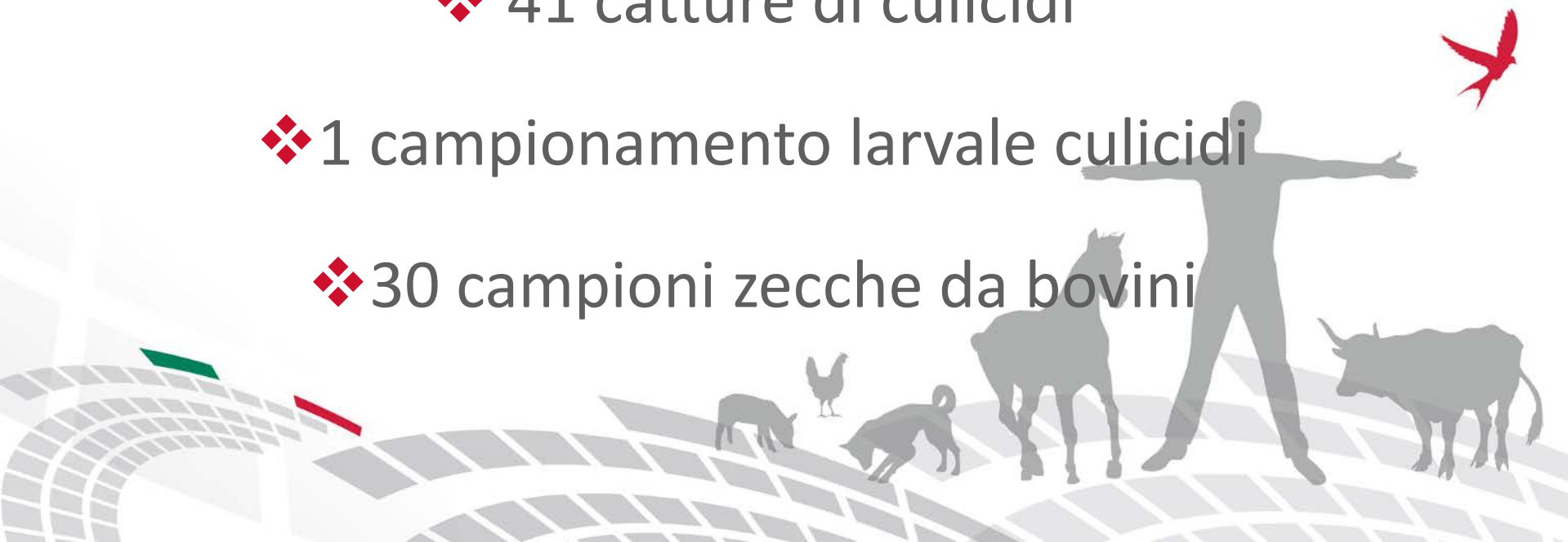
- **Marzo- Maggio 2019**

- ❖ 47 catture di *Culicoides*

- ❖ 41 catture di culicidi

- ❖ 1 campionamento larvale culicidi

- ❖ 30 campioni zecche da bovini



ATTIVITA' DI CAMPO



2020 = continuazione attività di campo in Namibia...



COVID-19

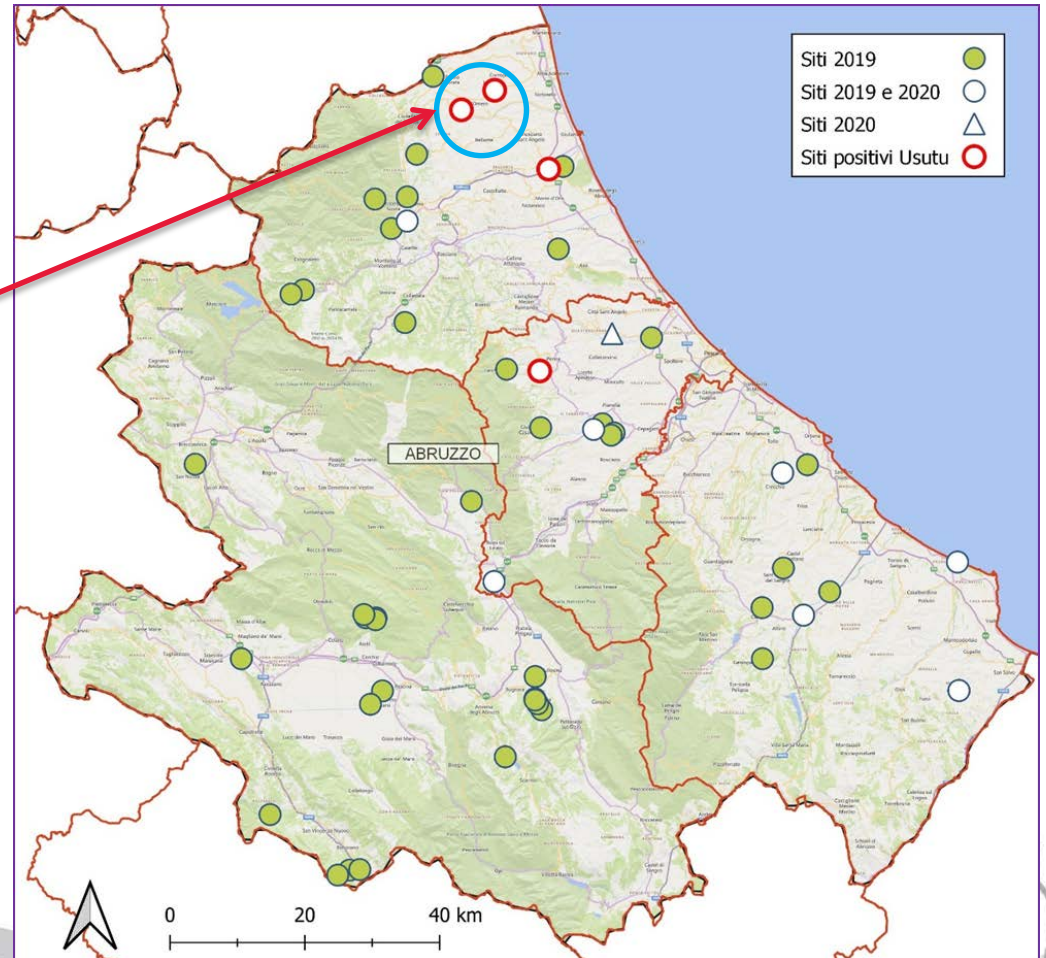


ATTIVITA' DI CAMPO

• 2 nuovi siti cattura
culicidi provincia di
Teramo:

❖ Mosciano

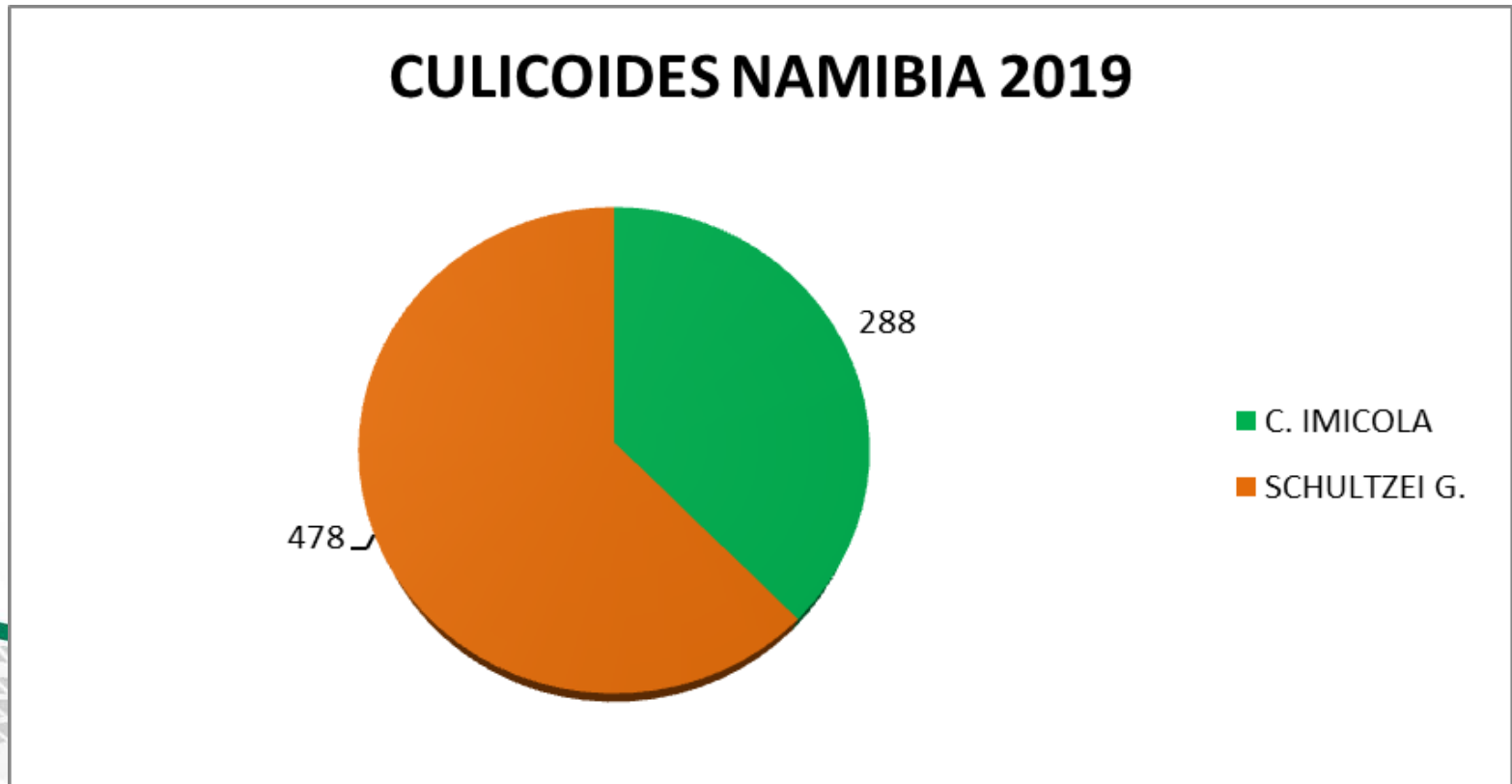
❖ Nereto



RISULTATI



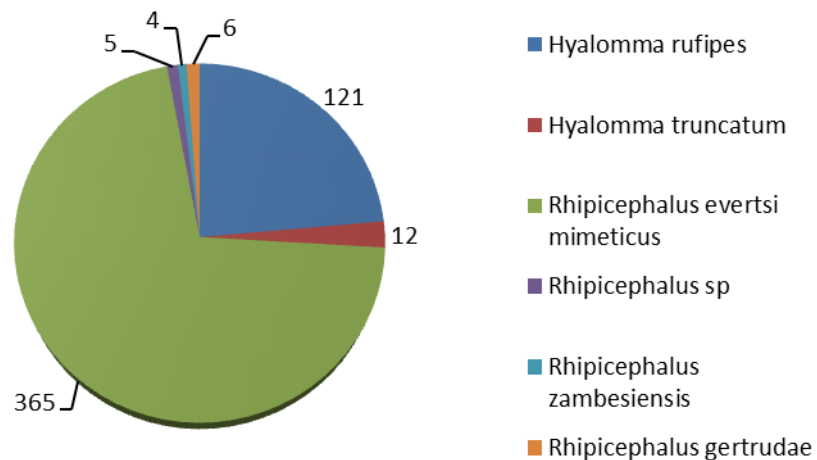
1 pool da 30 *C. imicola* positivo a BTV4 (University of Namibia)



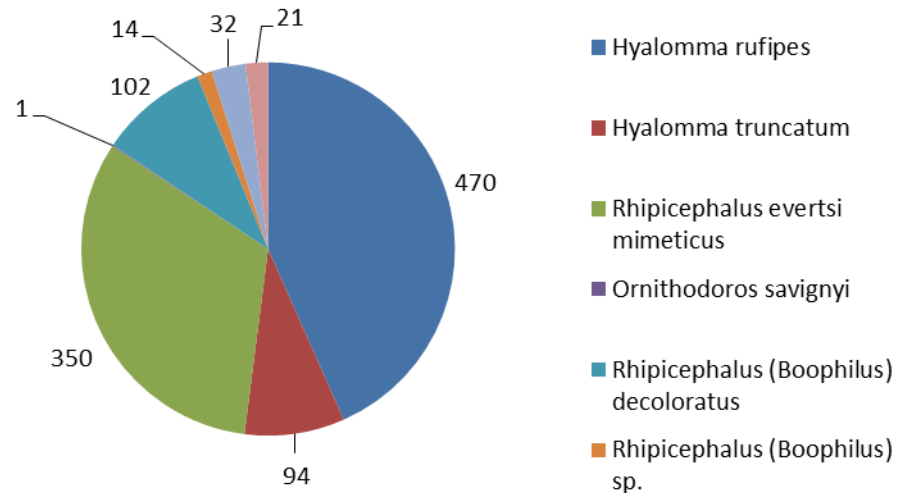
RISULTATI

- *H. rufipes* (9 pool), *H. truncatum* (1 pool), *R. zambesiensis* (2 pool), positive a rickettsia

ZECCHE NAMIBIA 2019

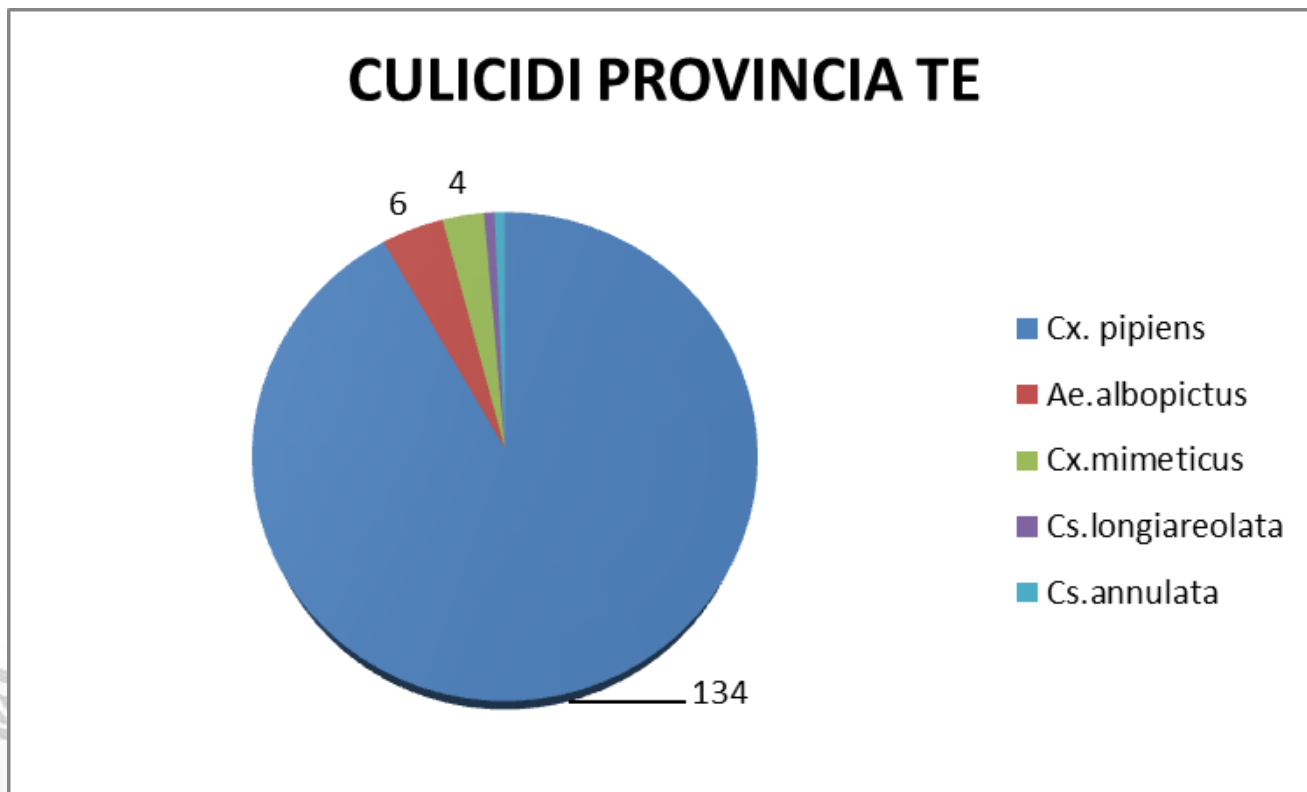


ZECCHE NAMIBIA 2017



RISULTATI

- 1 pool da 15 *Cx. pipiens* (Mosciano) positivo a USUTU



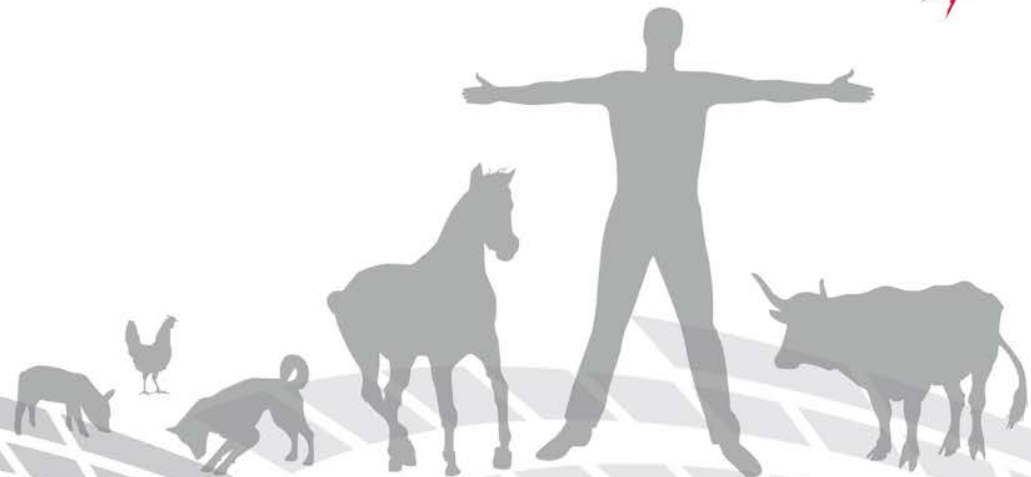
... E ADESSO ??

- Attività di campo in Namibia (2022)
- Attività di campo in Italia, in ulteriori siti selezionati
- Possibilità di utilizzare archivio catture entomologiche (insetti/omogenati) per ulteriori analisi



CONCLUSIONI

- L'approccio «dal campo al laboratorio» è stato in grado di rilevare patogeni sui 3 principali gruppi di artropodi vettori (*Culicoides*, zecche e zanzare) sia in Namibia che in Italia
- Parte dei negativi a nanostring verranno analizzati con altri metodi diagnostici (NGS) per validare risultato



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Ringraziamenti: *Valentina Curini; Silvio Gerardo D'Alessio; Valeria Di Lollo; Michela Quaglia; Cesare Cammà; Maria Goffredo; Andrea Capobianco; Siegfried Khaiseb; Umberto Molini; Ilaria Pascucci; Massimo Scacchia; Guendalina Zaccaria*

