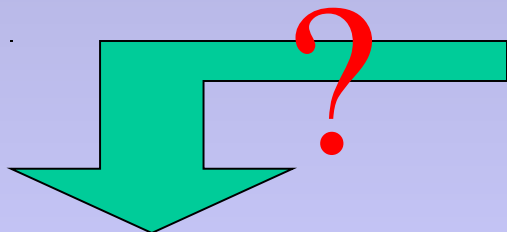
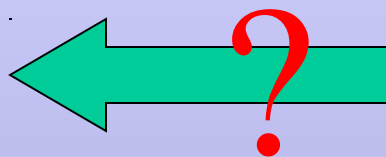


# Studio sull'attività invernale indoor dei ditteri del genere *Culicoides*, vettori della bluetongue, in Italia Centrale



*Culicoides obsoletus*



*Culicoides imicola*

A. Magliano, P. Scaramozzino, G. Cincinelli, A. Moni, P. Silvestri,  
C. De Liberato

*Culicoides imicola*



TABLE 8.1 Organisms transmitted by Ceratopogonidae

Taxa	Vector species	Vertebrate hosts
<b>Alphavirus</b> ● eastern equine encephalomyelitis	<i>C. (Selfia) spp.</i> , <i>C. spp.</i>	humans, rodents, birds, cattle, marsupials, other primates
	<i>C. brevitarsis</i> , <i>C. oxystoma</i> , <i>C. imicola</i> , <i>C. wadai</i>	cattle
<b>Bunyavirus</b> Akabane	<i>C. variipennis</i> , <i>C. (Selfia) spp.</i> , <i>C. spp.</i>	rabbits, rodentia, chiroptera, cattle, horse, pig, goat, deer
Buttonwillow	<i>C. variipennis</i> , <i>C. (Selfia) spp.</i> , <i>C. spp.</i>	rabbits, rodentia, chiroptera, cattle, horse, pig, goat, deer
Douglas	<i>C. brevitarsis</i>	cattle, deer, goats, horses, sheep, buffalo
Oropouche	<i>C. paraensis</i>	humans, other primates, birds, rodents
Peaton	<i>C. brevitarsis</i>	cattle, sheep, horses, buffalo, goats, pigs, deer
Jerry Slough	<i>C. variipennis</i>	rodents
Lokern	<i>C. variipennis</i> , <i>C. (Selfia) spp.</i> , <i>C. spp.</i>	rabbits, rodents, horses, cattle, pigs, sheep
Main Drain	<i>C. variipennis</i> , <i>C. (Selfia) spp.</i>	horses, rabbits, rodents, cattle, pigs, sheep
<b>Flavivirus</b> Israel turkey meningoencephalitis	<i>C. spp.</i>	turkey
<b>Lyssavirus</b> Kotonkan	<i>C. spp.</i>	humans, cattle, birds, hedgehogs, rodents, sheep, horses

TABLE 8.1 (Continued) Organisms transmitted by Ceratopogonidae

Taxa	Vector species	Vertebrate hosts
<b>Nairovirus</b> Congo	<i>C. spp.</i>	humans, cattle, goats, hedgehogs
Dugbe	<i>C. spp.</i>	humans, cattle, rodents
Nairobi sheep disease	<i>C. tororensis</i>	humans, sheep, goats
<b>Orbivirus</b> African horse sickness	<i>C. imicola</i>	equids, dogs
bluetongue	<i>C. insignis</i> , <i>C. imicola</i> , <i>C. nubeculosus</i> , <i>C. impunctatus</i> , <i>C. debilipalpis</i>	ruminants
epizootic hemorrhagic disease	<i>C. schultzei</i> , <i>C. kingi</i> , <i>C. variipennis</i>	deer, cattle, sheep
Bunyip Creek	<i>C. brevitarsis</i> , <i>C. schultzei</i> , <i>C. oxystoma</i>	cattle, buffalo, sheep, deer
CSIRO Village	<i>C. brevitarsis</i> , <i>C. spp.</i>	cattle, buffalo, sheep, deer
D'Aguilar	<i>C. brevitarsis</i>	cattle, sheep
<b>Phlebovirus</b> Rift Valley fever	<i>C. variipennis</i> , <i>C. spp.</i>	humans, sheep, cattle
<b>Protozoa</b> ● <i>Haemoproteus</i>		
<i>canachites</i>	<i>C. sphagnumensis</i>	spruce grouse
<i>meleagridis</i>	<i>C. edeni</i> , <i>C. hinmani</i> , <i>C. arboricola</i>	turkey
<i>velans</i>	<i>C. stillobezzoidea</i>	woodpeckers
<b>Hepatocystis</b> <i>kochi</i>	<i>C. aderi</i>	monkeys
<i>simiae</i>	<i>C. spp.</i>	monkeys

TABLE 8.1 (Continued) Organisms transmitted by Ceratopogonidae

Taxa	Vector species	Vertebrate hosts
<i>Leucocytozoon caulleryi</i>	<i>C. arakawae</i> , <i>C. circumscriptus</i>	chickens
<b>Nematoda</b> ● <i>Chandlerella</i>		
<i>chitwoodae</i>	<i>C. stillobezzoidea</i>	common crows
<i>quiscali</i>	<i>C. crepuscularis</i> , <i>C. haematopotus</i>	common grackles
<i>striatospicula</i>	<i>C. haematopotus</i>	American magpies
<i>Mansonella</i> (= <i>Dipetalonema</i> )		
<i>ozzardi</i>	<i>C. furens</i> , <i>C. phlebotomus</i>	humans
<i>perstans</i>	<i>C. grahamsi</i> , <i>C. inornatipennis</i>	humans
<i>streptocerca</i>	<i>C. grahamsi</i>	humans
<i>Eufilaria longicaudata</i>	<i>C. crepuscularis</i> , <i>C. haematopotus</i>	American magpies
<i>Icosiella neglecta</i>	<i>Forcipomyia velox</i>	green frogs
<i>Onchocerca</i>		
<i>cervicalis</i>	<i>C. nubeculosus</i> , <i>C. variipennis</i>	horses
<i>gibsoni</i>	<i>C. shortii</i> , <i>C. orientalis</i> , <i>C. marksii</i>	cattle
<i>gutterosa</i>	<i>C. fulvithorax</i> , <i>C. kingi</i> , <i>C. krameri</i> , <i>C. nubeculosus</i> , <i>C. trifasciellus</i>	bovines
<i>oxystoma</i>	<i>F. townsvillensis</i>	cattle
<i>reticulata</i>	<i>C. nubeculosus</i>	horses
<i>sweetae</i>	<i>C. spp.</i>	water buffalo
<i>Splendiofilaria</i>		
<i>californiensis</i>	<i>C. multidentatus</i>	California quail
<i>picacardina</i>	<i>C. crepuscularis</i>	American magpies

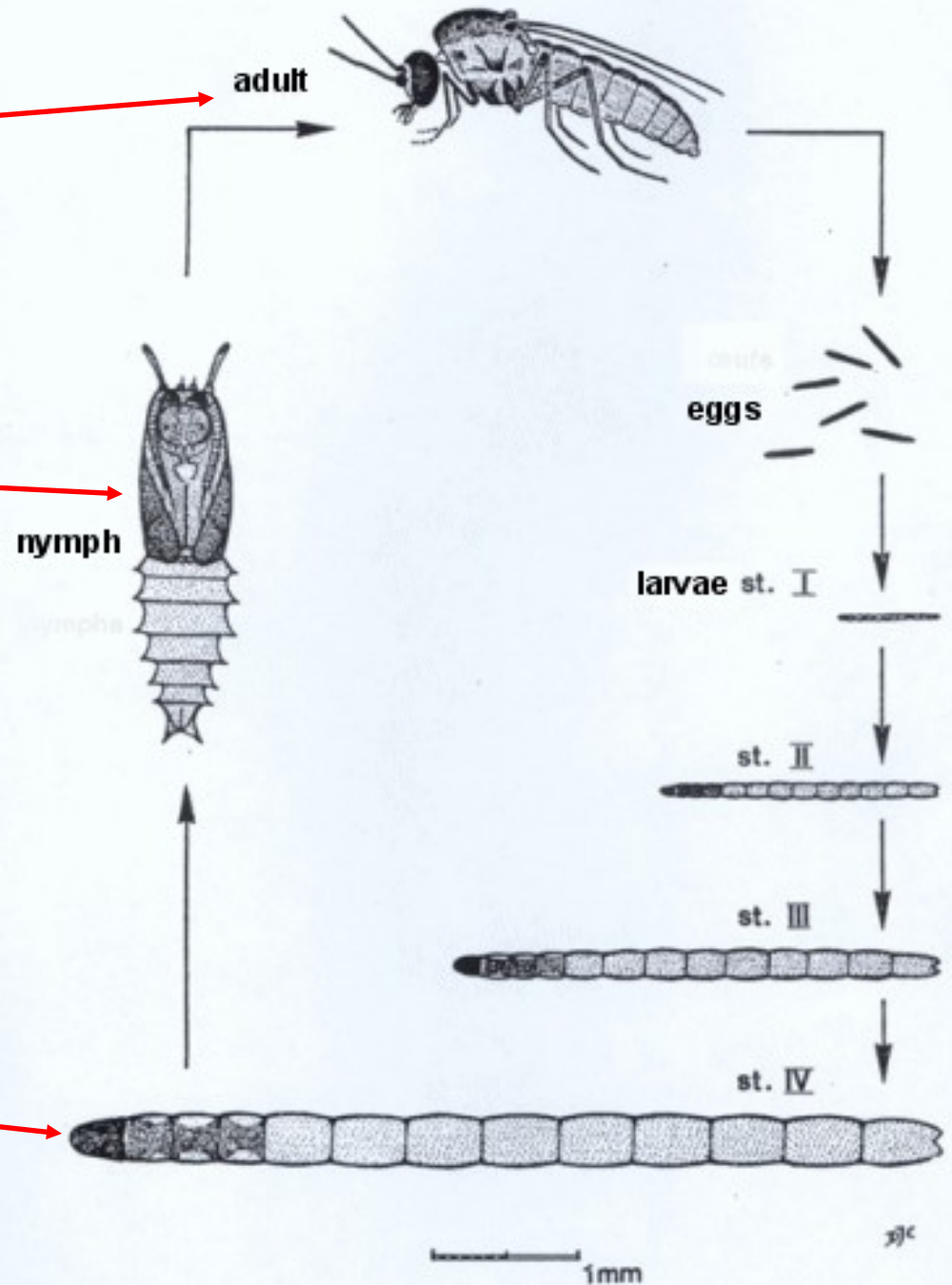


20 giorni (estate)  
90 giorni (inverno)

Pochi  
giorni

*Culicoides* spp.:  
ciclo biologico

350-500  $\mu$   
Pochi giorni  
(o resistenza)

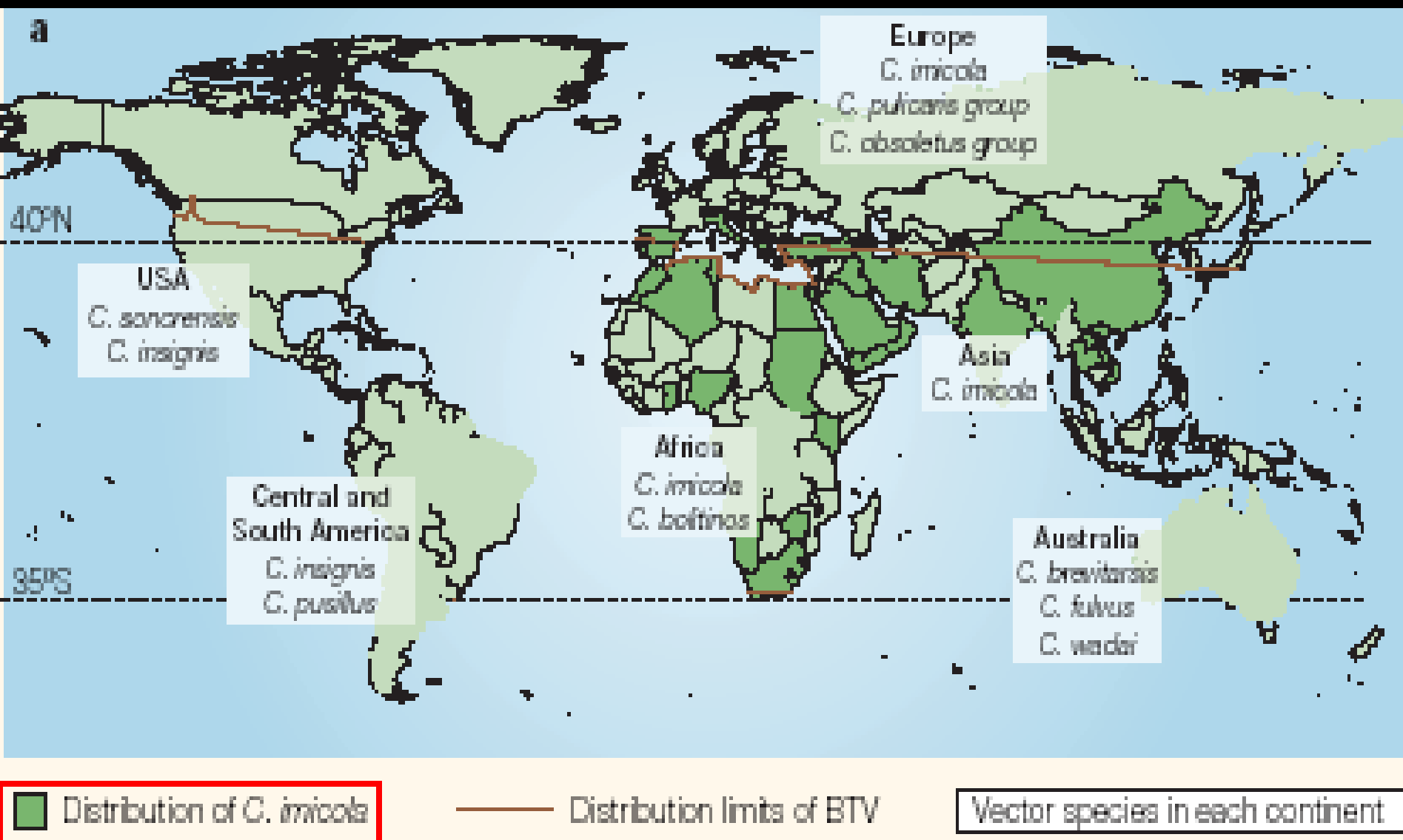


# Biologia

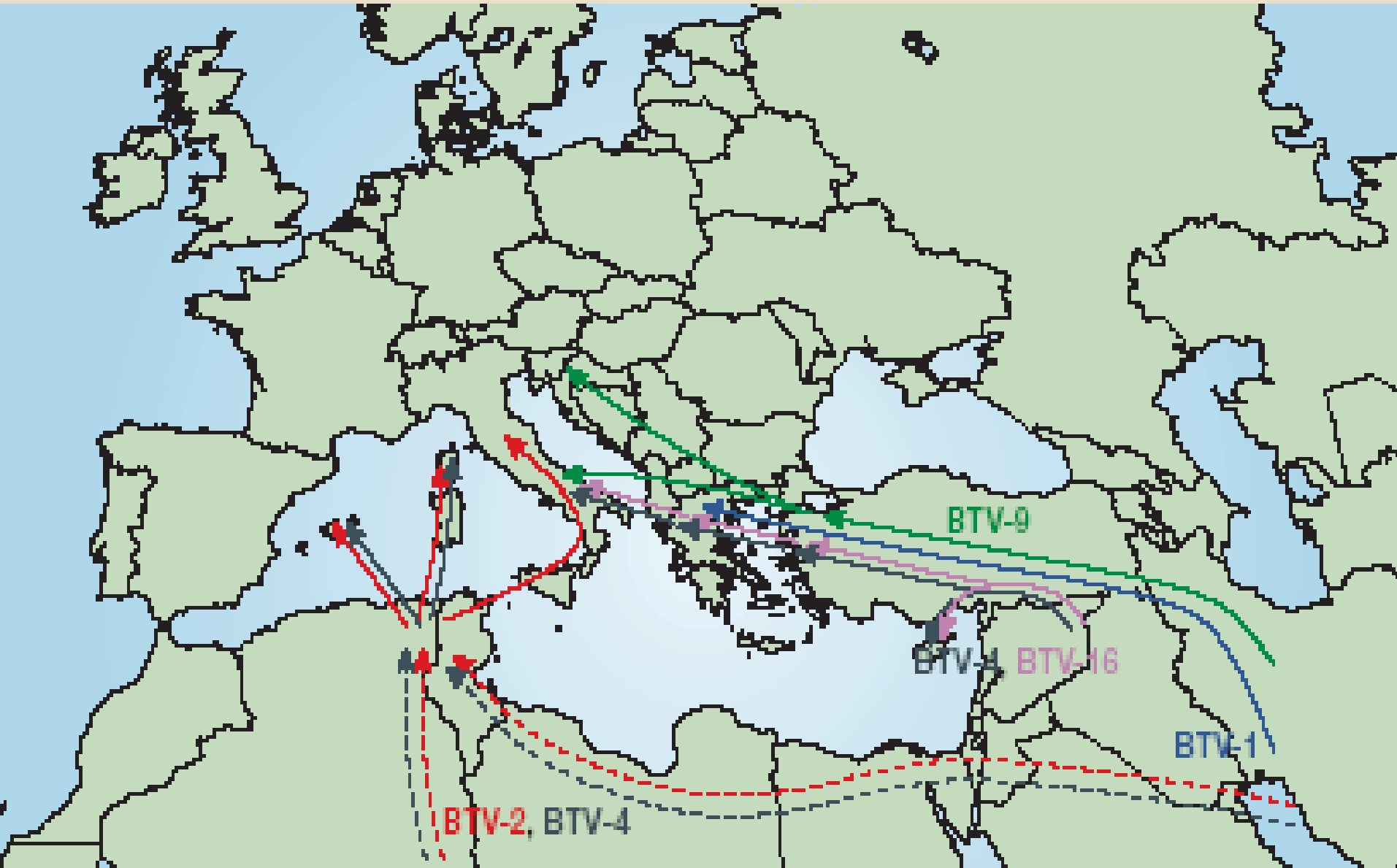
- notturni, esofili, esofagi, possono entrare in stalle od abitazioni
- maschi non ematofagi
- attività inibita da vento, basse temperature e precipitazioni intense
- vivono nel raggio di 500 m dal punto di sfarfallamento
- accoppiamento poche ore dopo lo sfarfallamento
- larve in substrati umidi ricchi in sostanza organica
- **no trasmissione verticale**
- mammofili od ornitofili

# **La Blue Tongue**

- **Famiglia Reoviridae, genere Orbivirus;**
- **24 sierotipi;**
- **Colpisce ruminanti domestici e selvatici;**
- **Lista A OIE (obbligo abbattimento, vaccinazione, blocco delle movimentazioni stabiliti a livello di UE);**
- **Epidemia Sardegna nel 2000, in Lazio e Toscana Settembre 2001;**
- **2014 nuova disastrosa epidemia in Italia;**
- **Ingenti danni indiretti per il blocco delle movimentazioni;**
- **2006: epidemia sierotipo 8 in Europa centro-settentrionale.**

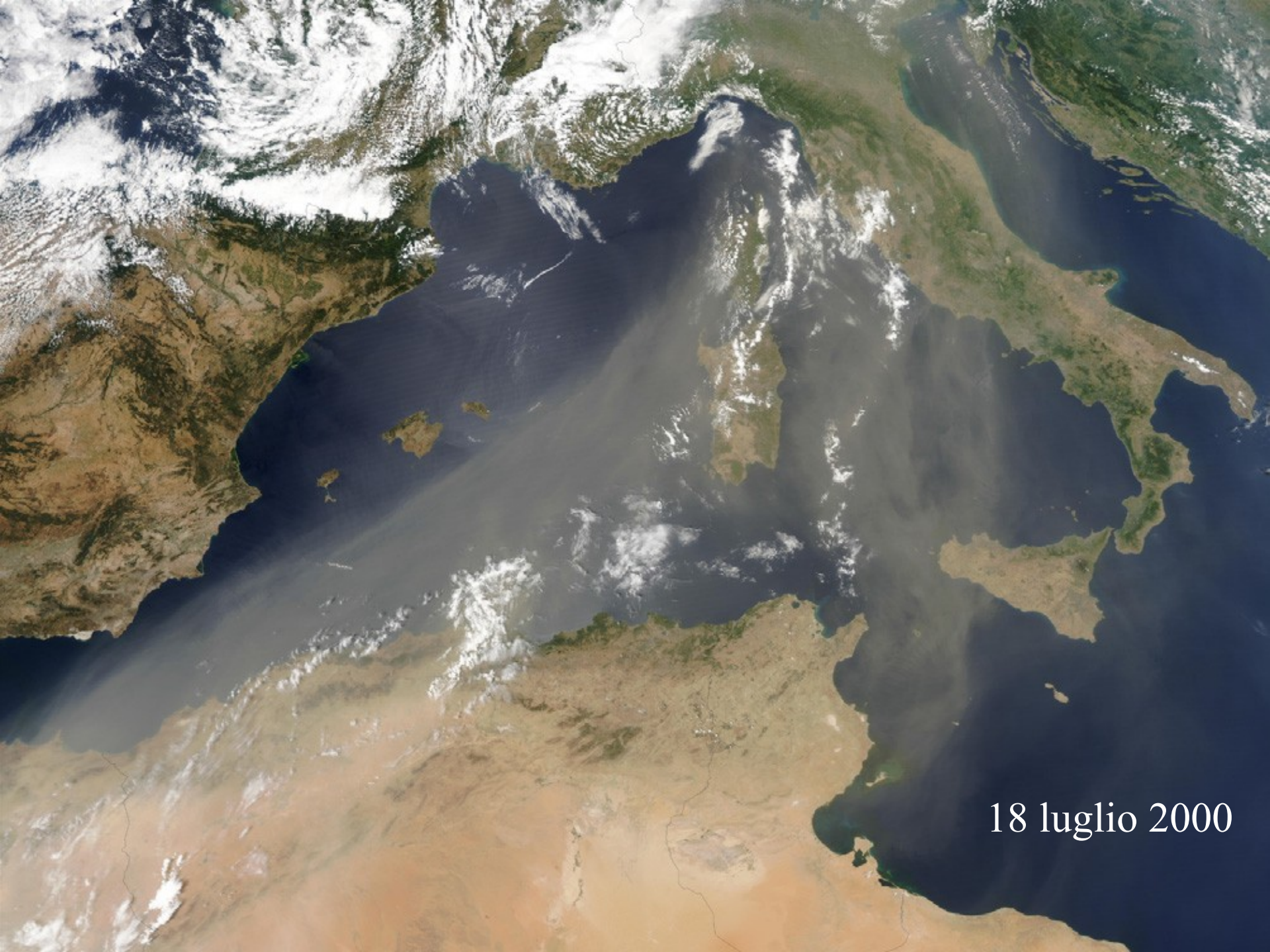


## I vettori della bluetongue nel mondo



**Possibili vie di arrivo dei diversi sierotipi di BT in Europa  
(dal 1998)**





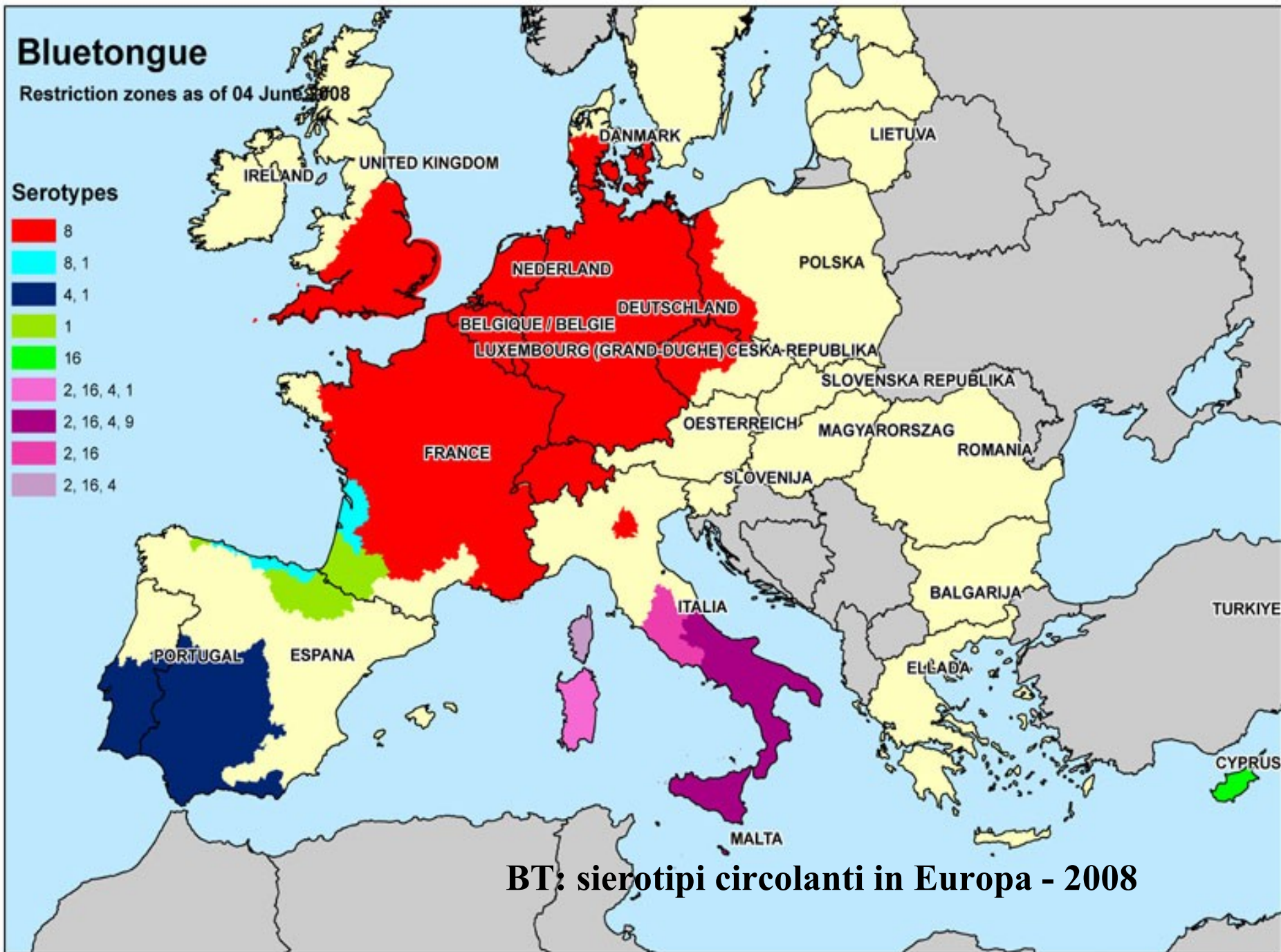
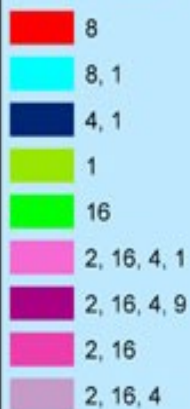
18 luglio 2000



# Bluetongue

Restriction zones as of 04 June 2008

## Serotypes

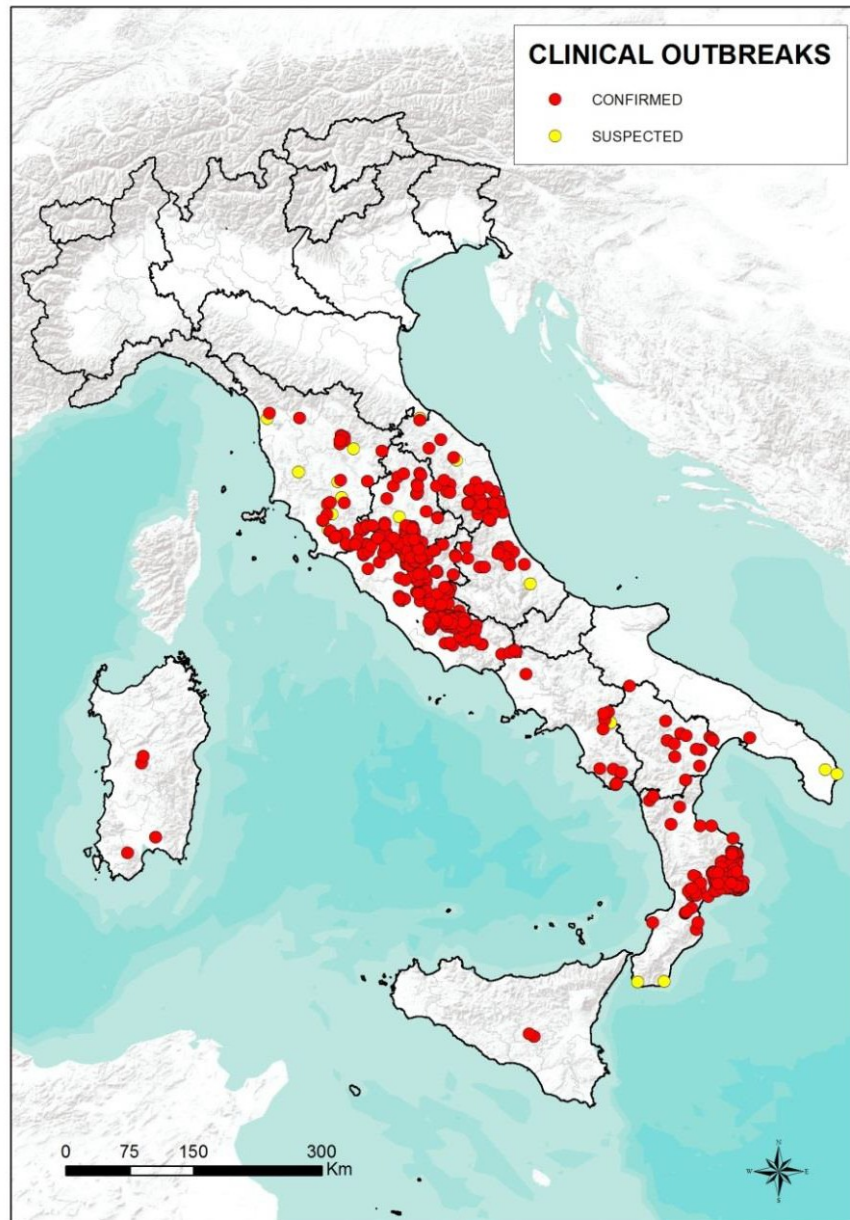


**BT: sierotipi circolanti in Europa - 2008**

# BT - 2014

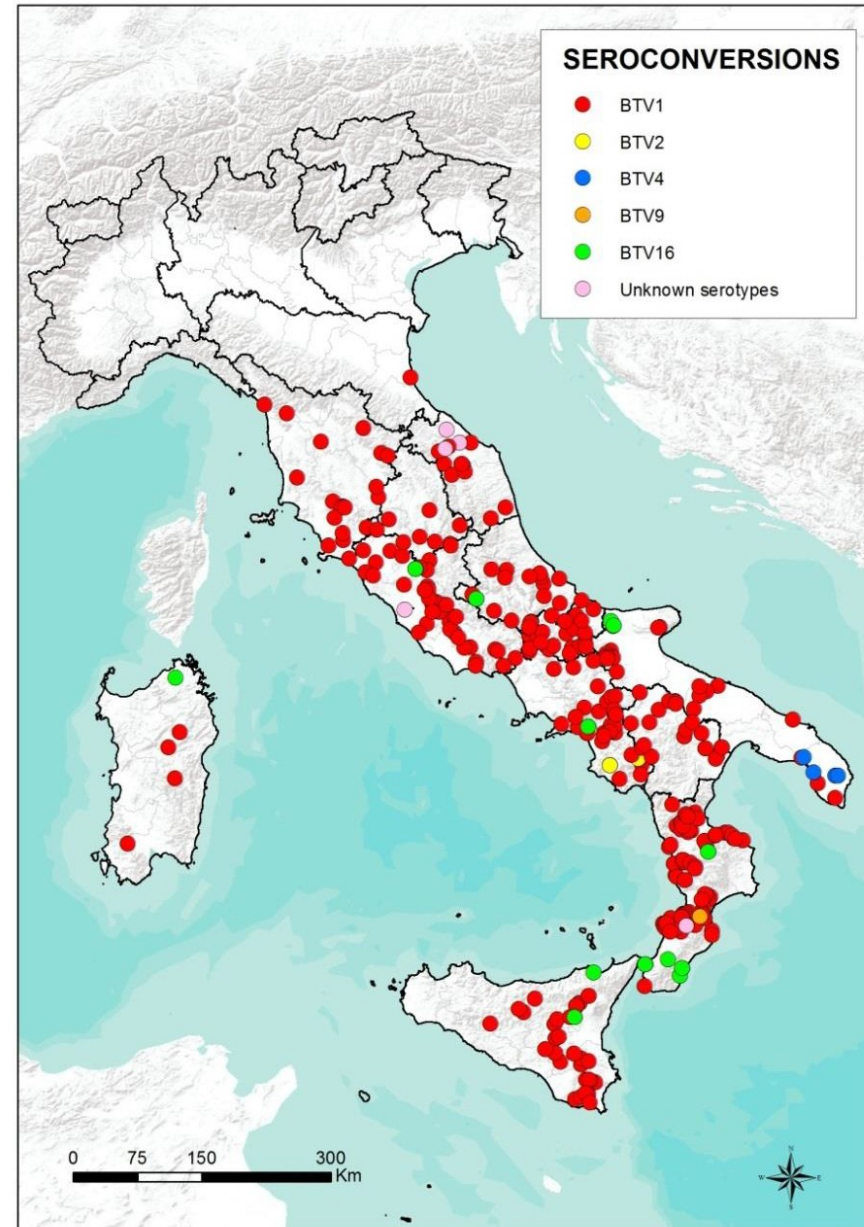
## CLINICAL OUTBREAKS

- CONFIRMED
- SUSPECTED



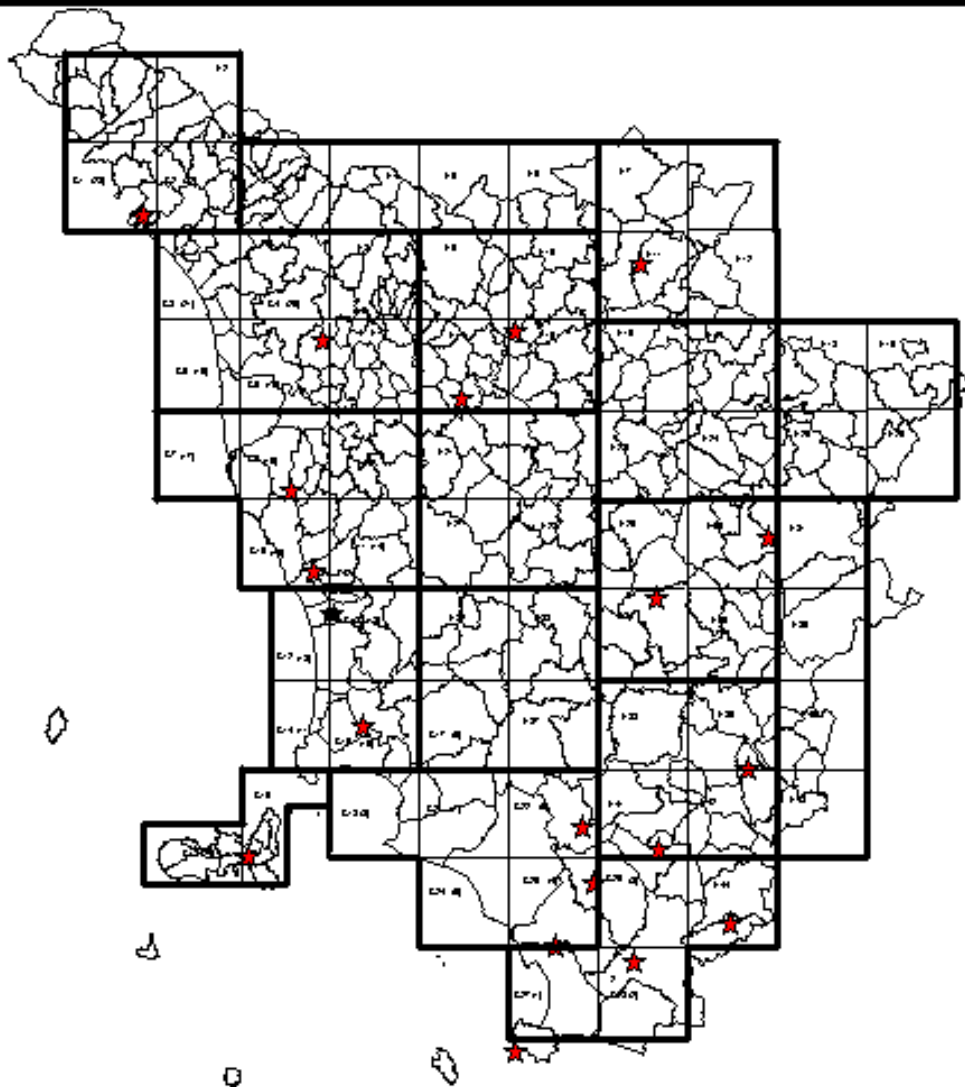
## SEROCONVERSIONS

- BTV1
- BTV2
- BTV4
- BTV9
- BTV16
- Unknown serotypes





# Attività di Sorveglianza (bovini sentinella ed entomologia)



Dal 2001  
“alla ricerca di  
*C. imicola*”

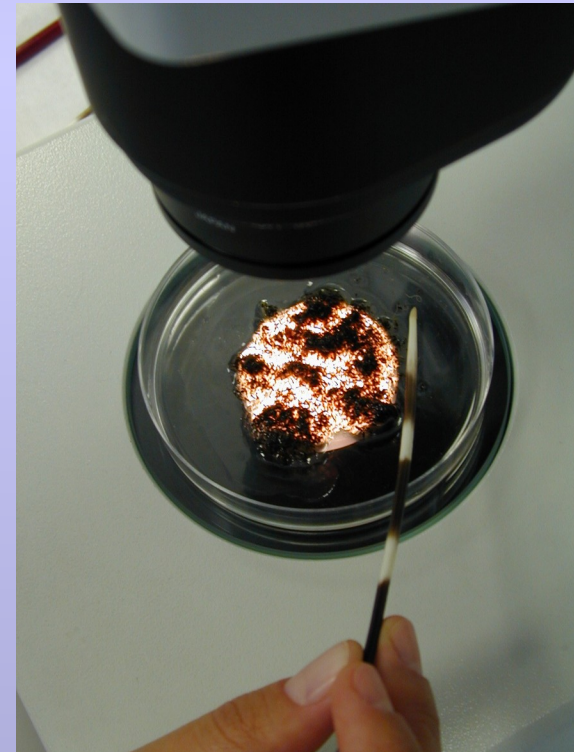
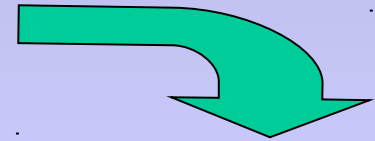
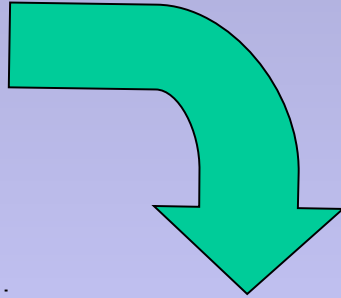
## La black-light trap modello Onderstepoort







**Cattura max.  
40.000 *Culicoides*  
in una notte**





*Culicoides imicola*





*C. imicola*



*C. obsoletus* group:  
*obsoletus* ss., *chiopterus*, *dewulfi*, *scoticus*

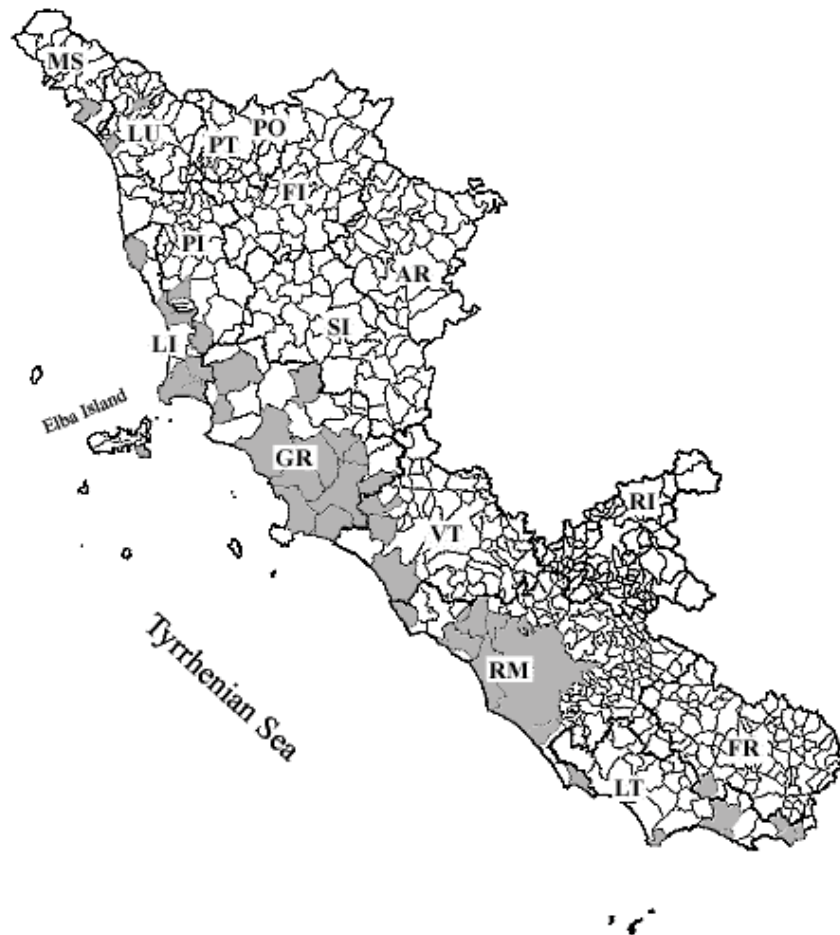


## Risultati

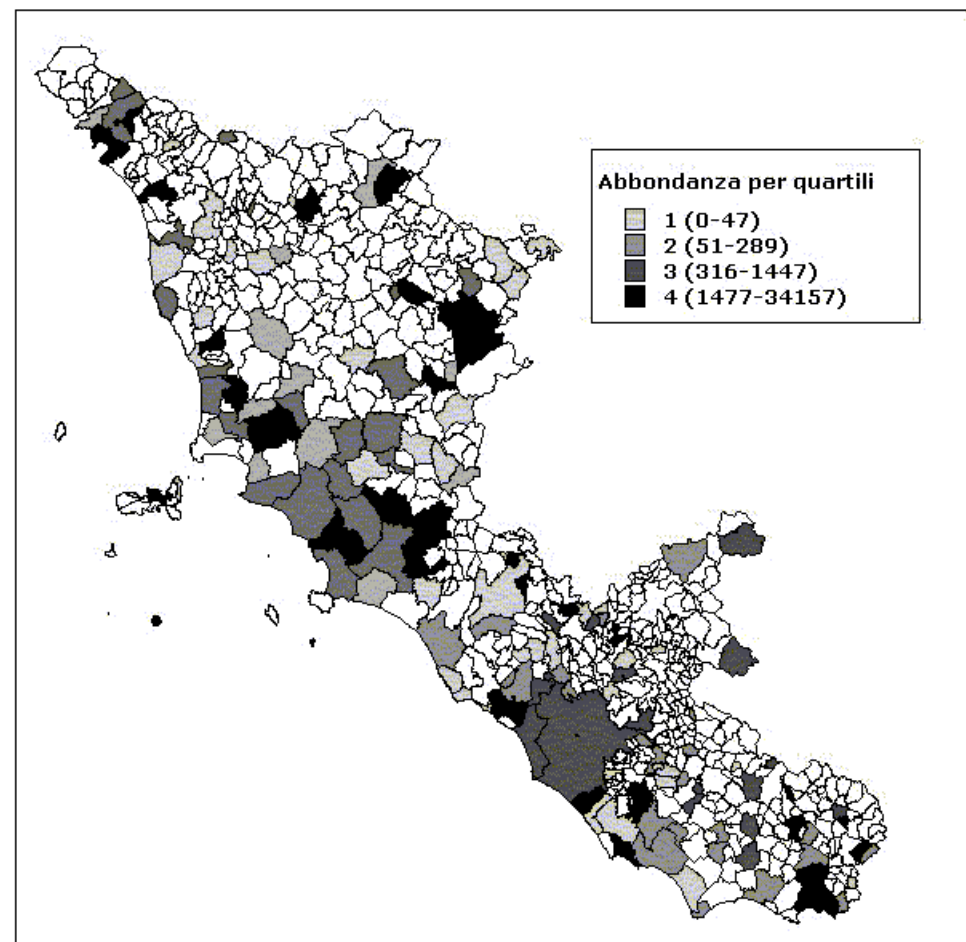
- ***C. imicola***  solo 30% siti interessati da circolazione virale (la **coincidenza di distribuzione geografica tra artropode e patogeno è uno dei canoni seguiti dall'OMS per identificare un vettore**)
- Consistenza numerica scarsa
- ***C. obsoletus***  ubiquitario, abbondante (**40.000 esemplari a cattura**)

## Isolamento BTV da *C. obsoletus*

- Settembre 2002 focolai provincia di Frosinone
- *C. imicola* assente
- Presenza abbondante di *C. obsoletus*
- Cattura finalizzata isolamento virale (**femmine pare-non replete**)
- Virus isolato da *C. obsoletus* (**isolamento-PCR-sequenziamento**)
- Conferma ruolo di un altro vettore ed importanza epidemiologica (**nuove aree a rischio, overwintering**)
- Isolamento da *C. pulicaris* in Sicilia



Distribuzione di  
*C. imicola* in Lazio e Toscana



Distribuzione di *C. obsoletus* in  
Lazio e Toscana

Gruppo “*obsoletus*” vettore della BT  
in tutta Europa



## Studio sull'attività invernale indoor dei ditteri del genere *Culicoides*, vettori della bluetongue, in Italia Centrale

Perchè:

- 1) La presenza di popolazioni di *Culicoides* attive in inverno nelle stalle è stata considerata un possibile mezzo di overwintering del BTV in Europa Centrale;
- 2) Durante l'epidemia centro europea del 2006, le autorità sanitarie consigliavano la stabulazione indoor degli animali come mezzo per proteggerli dal contagio, a causa delle presunte esofilia ed esofagia dei *Culicoides*.

Precedenti studi su endofilia *Culicoides* con risultati contraddittori, da qui l'interesse di capire cosa accade alle nostre latitudini.



## Over-Wintering

**Come fa la BT a superare la stagione sfavorevole al vettore?**

- viremia nell'ospite di pochi giorni
- vita media *Culicoides* 20 giorni
- periodo inattività vettori più lungo della viremia nell'ospite

**Come ha risolto?**

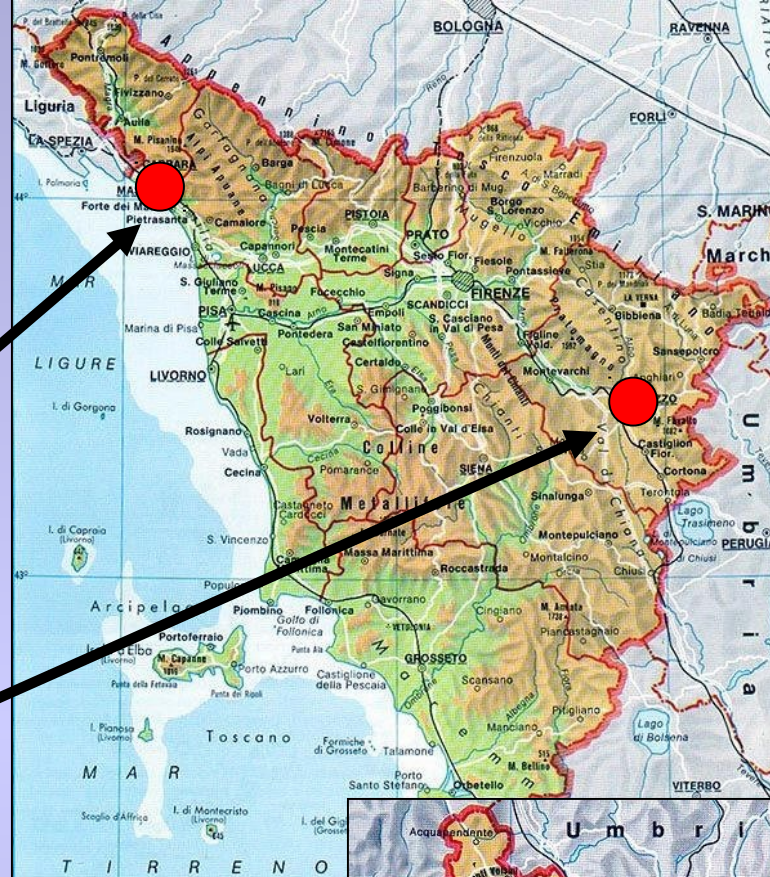
- *Culicoides* adulti svernanti
- trasmissione continua anche in inverno anche se a livelli ridotti
- popolazioni di vettori attive anche in inverno al chiuso

3 siti di studio

Massa – 0 m.a.s.l.

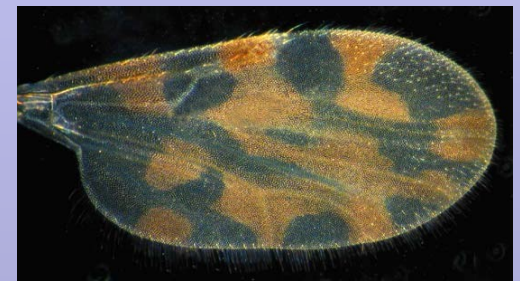
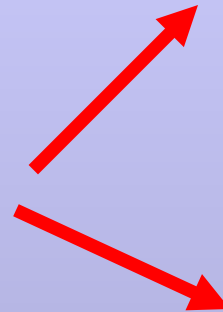
Arezzo – 291 m.a.s.l.

Rieti – 178 m.a.s.l.





- presenza di bestiame sia indoor che outdoor;
  - nessun uso di insetticidi;
- 
- catture settimanali da novembre a marzo per 3 stagioni (2010-2013);
  - Onderstepoort black-light traps;
  - 2 trappole lavoravano contemporaneamente, dentro e fuori la stalla;
- 
- *Culicoides* spp. identificati morfologicamente (*C. imicola*, *C. obsoletus* and *C. pulicaris* groups);
  - femmine classificate come nullipare, pare e relpete.





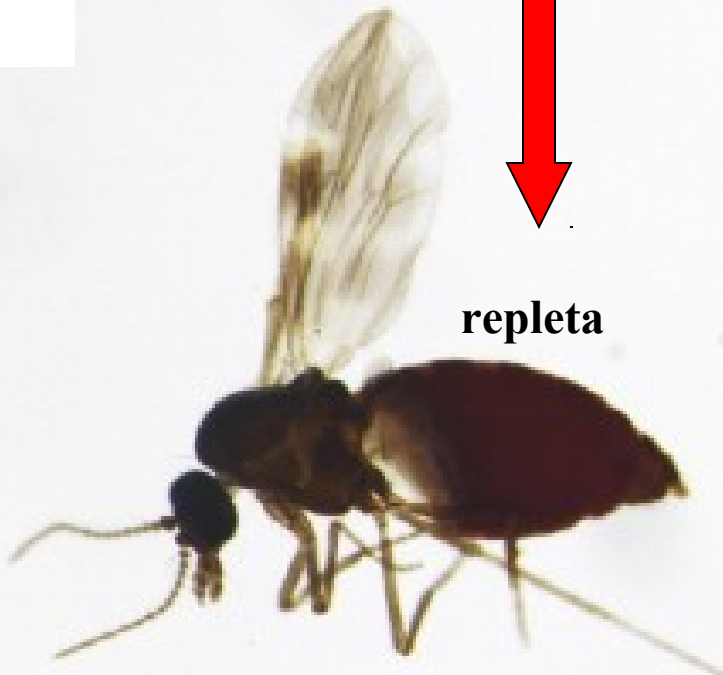
**nullipara**

***C. obsoletus* sl**  
**stato fisiologico delle**  
**femmine**

**la % di femmine pare è un**  
**indice della maturità della**  
**popolazione**



**repleta**



**para**



- 336 catture;
- 17.487 *Culicoides*, 11.586 outdoor e 5.901 indoor;
- C. obsoletus* group 98.2% dei *Culicoides* catturati;
- Tutte le specie catturate indoor, anche *C. imicola*, considerato strettamente esofilo (e non attivo in inverno);
- Nelle catture indoor femmine in tutti gli stati fisiologici (nullipare, pare, replete).\_

Tab.1 – *Culicoides* spp. females mean catches: tot = total; par = parous; nul = nulliparous; eng = engorged; obs = *C. obsoletus* group; pul = *C. pulicaris* group; imi = *C. imicola*; O = outdoor; I = indoor.

	Culicoides tot		obs tot		obs par		obs eng		obs nul		pul tot		imi tot	
Site	O	I	O	I	O	I	O	I	O	I	O	I	O	I
M	114,4	52,8	113,1	52,7	24,1	10,7	10,3	13,5	77,5	27,5	0,8	0,1	0,1	0,03
A	15,0	30,8	14,4	30,1	4,7	16,6	0,5	5,8	9,2	7,7	0,3	0,3	0,0	0,0
R	73,9	21,1	72,1	19,5	19,9	5,9	1,1	0,1	51,0	13,1	1,3	0,3	0,0	0,0

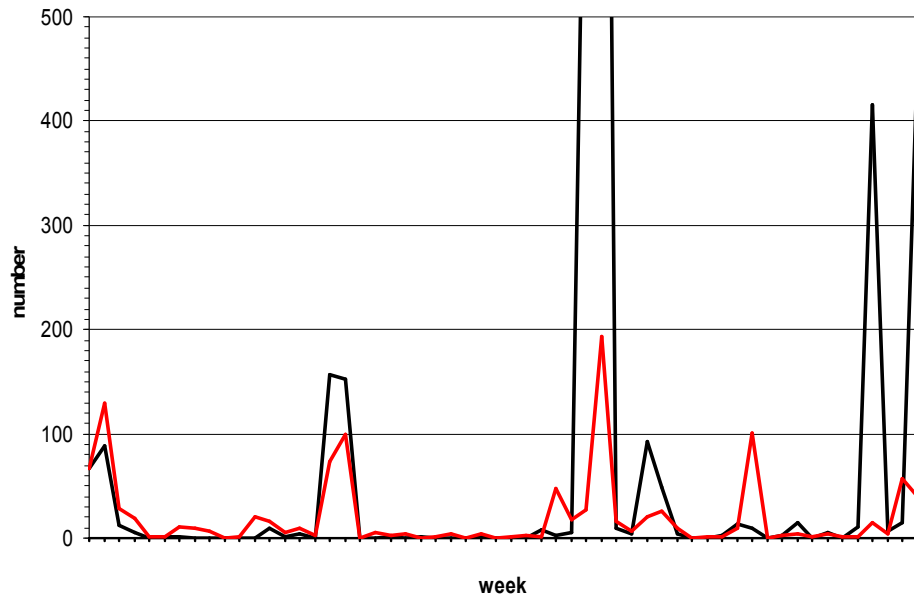


Tab.1 – *Culicoides* spp. females mean catches: tot = total; par = parous; nul = nulliparous; eng = engorged; obs = *C. obsoletus* group; pul = *C. pulicaris* group; imi = *C. imicola*; O = outdoor; I = indoor.

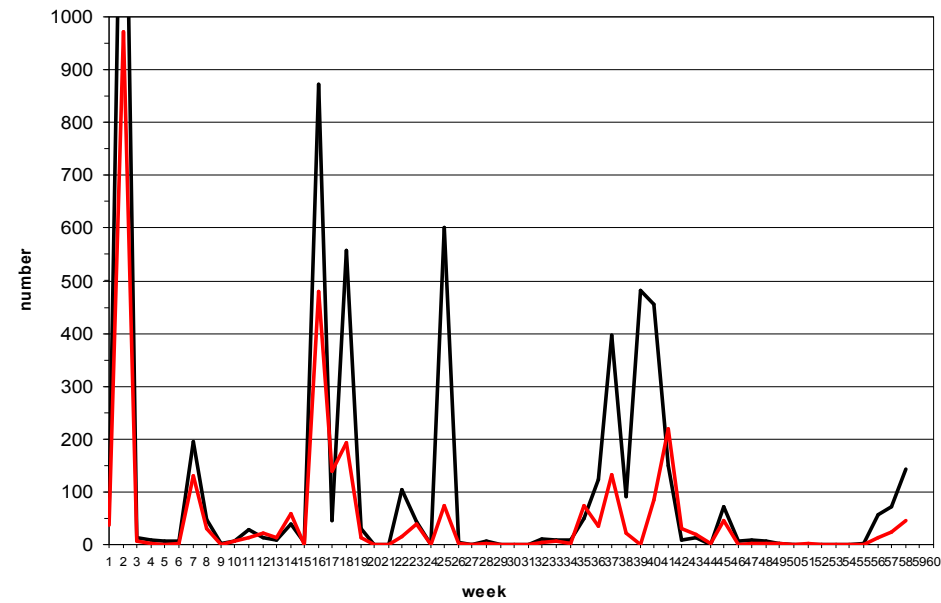
	Culicoides tot		obs tot		obs par		obs eng		obs nul		pul tot		imi tot	
Site	O	I	O	I	O	I	O	I	O	I	O	I	O	I
M	114,4	52,8	113,1	52,7	24,1	10,7	10,3	13,5	77,5	27,5	0,8	0,1	0,1	0,03
A	15,0	30,8	14,4	30,1	4,7	16,6	0,5	5,8	9,2	7,7	0,3	0,3	0,0	0,0
R	73,9	21,1	72,1	19,5	19,9	5,9	1,1	0,1	51,0	13,1	1,3	0,3	0,0	0,0

- in 2 siti femmine replete più numerose indoor;
- ad Arezzo catture indoor più abbondanti di quelle outdoor;
- Femmine nullipare sempre più abbondanti outdoor.

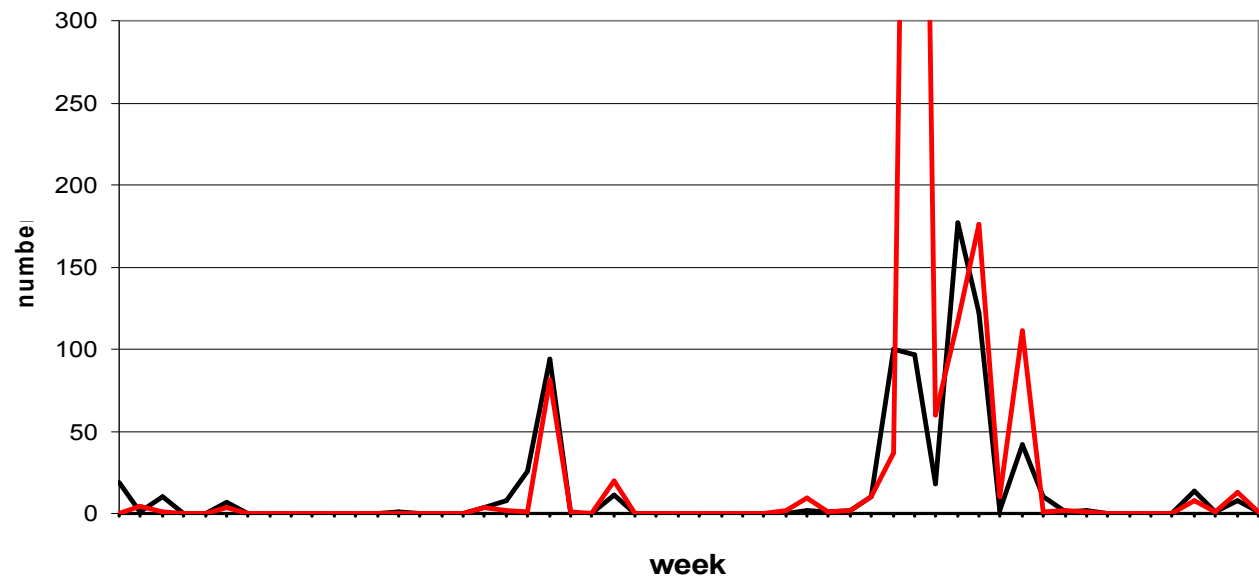
# Rieti



# Massa

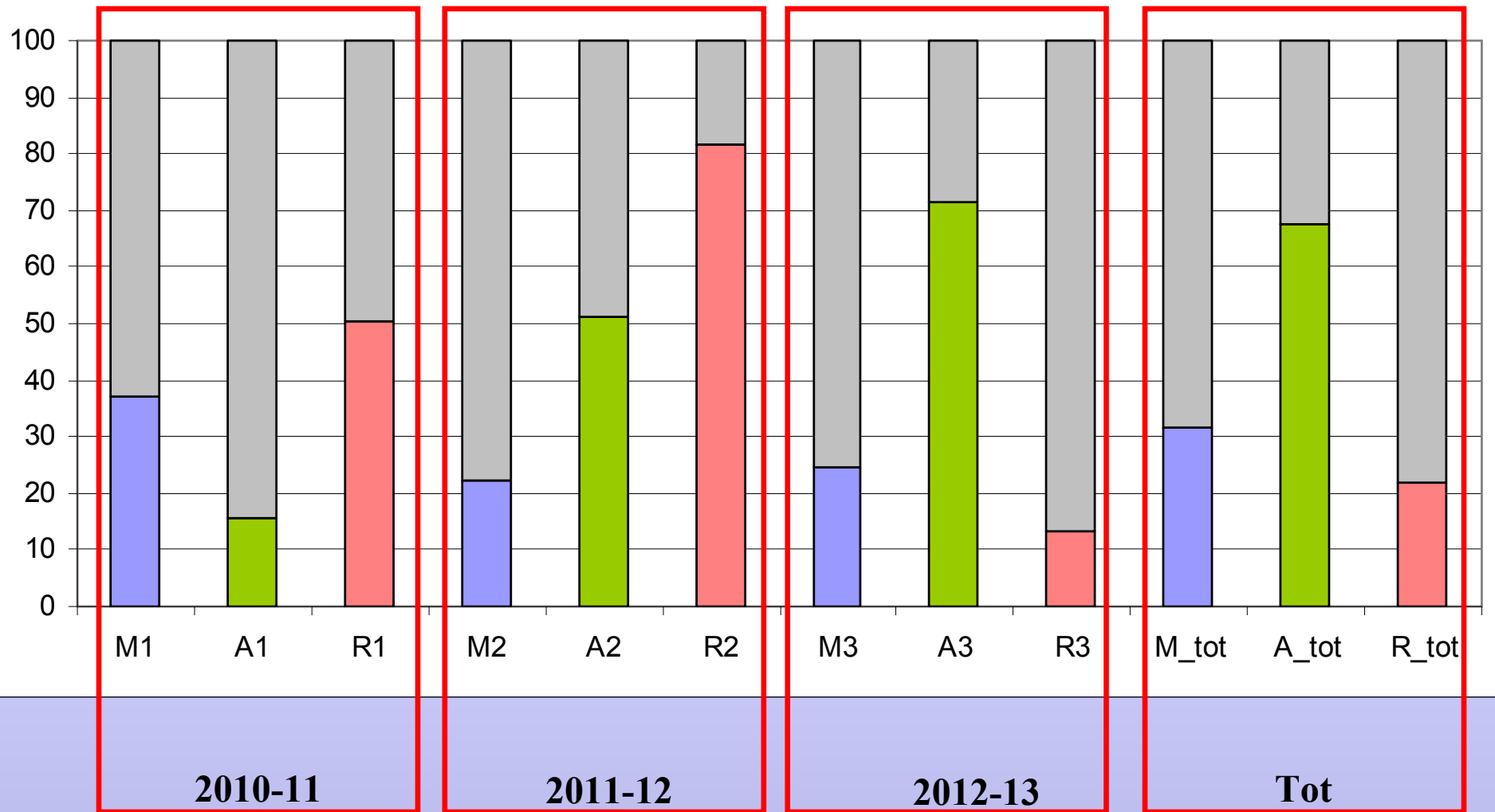


# Arezzo



**— = outdoor**

**— = indoor**



***C. obsoletus* Indoor Trapping Rate = indoor catch/indoor + outdoor catch**

<b>2010-2011</b>	<b>%Par_O</b>	<b>%Par_I</b>	<b>%Rep_O</b>	<b>%Rep_I</b>
<b>M</b>	<b>16,79</b>	<b>27,76</b>	<b>11,38</b>	<b>28,89</b>
<b>A</b>	<b>31,91</b>	<b>45,45</b>	<b>26,56</b>	<b>0,00</b>
<b>R</b>	<b>31,66</b>	<b>31,56</b>	<b>0,40</b>	<b>3,50</b>
<b>2011-2012</b>				
<b>M</b>	<b>36,31</b>	<b>25,98</b>	<b>7,81</b>	<b>17,66</b>
<b>A</b>	<b>30,83</b>	<b>42,72</b>	<b>0,00</b>	<b>17,60</b>
<b>R</b>	<b>18,75</b>	<b>16,44</b>	<b>5,88</b>	<b>0,00</b>
<b>2012-2013</b>				
<b>M</b>	<b>27,49</b>	<b>30,47</b>	<b>5,50</b>	<b>21,58</b>
<b>A</b>	<b>35,14</b>	<b>70,83</b>	<b>1,51</b>	<b>19,41</b>
<b>R</b>	<b>27,67</b>	<b>32,69</b>	<b>1,65</b>	<b>2,80</b>
<b>Total</b>				
<b>M</b>	<b>23,70</b>	<b>27,99</b>	<b>9,20</b>	<b>26,12</b>
<b>A</b>	<b>34,26</b>	<b>68,42</b>	<b>3,32</b>	<b>19,14</b>
<b>R</b>	<b>28,13</b>	<b>31,07</b>	<b>1,51</b>	<b>2,93</b>



**Alte % di femmine pare denotano popolazioni mature, potenzialmente in grado di trasmettere il BTV**

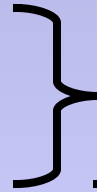
## Risultati rilevanti:

- 1) tutte le specie catturate anche indoor, in tutti gli stati fisiologici;
  - 2) temperature esterne più basse inducono più *Culicoides* ad entrare nelle stalle (es. Arezzo e Rieti nelle prime 2 stagioni);
  - 3) alta % replete indoor nei siti A ed M dovuta ad una propensione all'endofagia e/o a trovare rifugio nelle stalle dopo aver fatto il pasto di sangue all'aperto;
- a) l'ipotesi di popolazioni di *C. obsoletus* attive tutto l'inverno grazie ad un'alternanza di attività indoor ed outdoor (femmine nullipare sempre più abbondanti all'esterno) viene confermata;
- b) le alte % di femmine pare catturate indoor evidenziano “popolazioni mature”, e dunque una circolazione continua del BTV nei mesi invernali non può essere esclusa!



# **Studio sull'attività invernale indoor dei ditteri del genere *Culicoides*, vettori della bluetongue, in Italia Centrale**

**Adele Magliano  
Paola Scaramozzino**



**. Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana**

**Grazia Cincinelli – ASL 8 Arezzo, Zona Valdarno**

**Annalisa Moni – ASL 1, Massa-Carrara**

**Patrizia Silvestri – ASL Rieti, Distretto Mirtense**