

**Presenza e diffusione in aree urbane ed extraurbane della provincia di Roma di *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* spp. e *Anaplasma phagocytophilum*: individuazione dell'infezione nelle zecche vettrici.**

Progetto di ricerca corrente del Ministero della Salute  
**IZS LT 13/10 RC**

Responsabile scientifico:  
Manuela Scarpulla

## SINTESI

**Presenza e diffusione in aree urbane ed extraurbane della provincia di Roma di *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* spp. e *Anaplasma phagocytophilum*: individuazione dell'infezione nelle zecche vettrici.**

**Parole chiave:** Zecche, *Rickettsia* spp., *Coxiella burnetii*, *Anaplasma phagocytophilum*, Italia.

### Obiettivi

La presente ricerca ha come obiettivo quello di rilevare la presenza e la diffusione degli agenti zoonotici *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* spp. e *Anaplasma phagocytophilum* in alcune aree del comune e della provincia di Roma mediante esami biomolecolari e/o sierologici in ruminanti domestici e nei vettori rappresentati da zecche *free living* o prelevate dagli animali. Ha inoltre l'obiettivo di verificare la relazione tra la diffusione dei diversi agenti patogeni e la presenza e la diffusione delle diverse specie di zecche vettrici.

### Materiali e metodi

E' stato definito un campione multistrato rappresentativo della popolazione bovina, ovina e caprina della provincia di Roma sul quale effettuare analisi sierologiche nei confronti di *C. burnetii* e *A. phagocytophilum* rispettivamente con metodica (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ed Immunofluorescenza Indiretta (IFI). E' stata effettuata un'analisi statistica dei risultati ottenuti con gli esami sierologici, unitamente alla valutazione delle caratteristiche ecologiche del territorio, al fine di individuare le aree a rischio dove raccogliere le zecche. Le aree di studio sono state scelte nel territorio della provincia di Roma, sulla base delle caratteristiche ecologiche e dei dati di circolazione degli agenti patogeni oggetto di studio. Sono state raccolte zecche sia *free living* che sugli animali nel corso delle stagioni di attività del vettore in aree urbane ed extraurbane precedentemente identificate nell'ambito della provincia di Roma. Le catture di zecche sono state effettuate utilizzando i metodi del dragging, del flagging ed il prelievo diretto sugli animali. Gli esemplari venivano raccolti e collocati in una provetta fino all'arrivo in laboratorio, dove erano conservati in alcool etilico al 70% fino al momento dell'identificazione. L'identificazione delle zecche a livello di specie è stata effettuata sulla base della loro morfologia seguendo chiavi identificative standardizzate. Sono stati quindi effettuati esami biomolecolari sulle zecche raccolte al fine di ricercare *C. burnetii*, *Rickettsia* spp. e *A. phagocytophilum* e di identificare a livello di specie i batteri appartenenti al genere *Rickettsia*. L'estrazione del DNA dalle zecche è stata eseguita tramite l'utilizzo di un kit commerciale apportando lievi modifiche alle istruzioni del produttore. I target genici utilizzati sono stati i seguenti: *gltA*, codificante la citrato sintetasi di *Rickettsia* spp.; *ompA*, codificante l'antigene di superficie OmpA (rickettsial outer membrane protein A, rOmpA) di *Rickettsia* spp.; *ompB*, codificante l'antigene di superficie OmpB (rickettsial outer membrane protein B, rOmpB) comune alle rickettsie SFG e TG; *16S rRNA* di *A. phagocytophilum*; *IS1111* associata all'operone *heat shock-inducible* htpAB di *Coxiella burnetii* e *16S rRNA* di *Borrelia burgdorferi* s.l.. I campioni di DNA relativi ai frammenti dei geni *gltA*, *ompA* e *ompB*, amplificati e purificati, sono stati sequenziati al fine di identificare a livello di specie le rickettsie. Le sequenze dei due filamenti ottenute per ciascun amplificato, determinate mediante il metodo di Sanger, sono state assemblate mediante il "software" "SeqMan" e il relativo "contig" cimentato nella base dati pubblica GenBank, mediante l'applicazione nBLAST (NCBI). In particolare le sequenze ottenute sono state allineate con le sequenze di *Rickettsia* spp. riportate su GeneBank per confermarne l'identificazione. I criteri utilizzati per identificare a livello di genere e specie le rickettsie da noi rilevate con i metodi biomolecolari sono quelli stabiliti da Raoult D. e collaboratori nel 2005.