

P1.1a - CARATTERIZZAZIONE GENETICA DI ELMINTI A TRASMISSIONE ZONOSICA CIRCOLANTI NEL BACINO DEL MEDITERRANEO [S. D'AMELIO]

Borsista FILAS: Serena CAVALLERO, Laurea in Scienze Biologiche; Dottore di Ricerca in Sanità Pubblica e Microbiologia

Data di attivazione della borsa di studio (6 mesi): Agosto 2016.

Obiettivi: 1) caratterizzazione degli agenti eziologici di elmintosi a trasmissione zoonotica; 2) mappatura del rischio di trasmissione nel bacino del Mediterraneo

Risultati del I anno di ricerca nell'ambito del progetto

Gli agenti eziologici di elmintosi a trasmissione zoonosica oggetto degli studi condotti nell'ambito del progetto FILAS sono due: *Echinococcus granulosus* e *Ascaris lumbricoides*, agenti eziologici rispettivamente dell'idatidosi e dell'ascariasi. Entrambe le parassitosi vengono incluse nella lista delle cosiddette "malattie tropicali neglette" (Daumerie et al 2010): un insieme di 18 malattie infettive causate da batteri, protozoi, virus e parassiti elminti endemici in 149 paesi, che affliggono più di 1 miliardo di persone e ne mettono a rischio altri 2 miliardi.

L'idatidosi è una delle parassitosi più gravi per l'uomo, seconda per importanza nella lista dei parassiti trasmessi dagli alimenti (FAO/WHO report 2012); l'ascariasi colpisce circa 1 miliardo e mezzo di persone, di cui circa un terzo di età inferiore ai 14 anni.

Nel primo anno di progetto ci siamo occupati di caratterizzare a livello genetico esemplari di *Echinococcus* spp. e di *Ascaris* spp. da vari ospiti animali e da pazienti con lo scopo di stimare i genotipi circolanti nelle regioni di studio (Paesi del Mediterraneo).

Idatidosi: Gli esemplari studiati fin ora sono stati campionati in tre regioni europee, in particolare: dall'Italia sono stati analizzati 9 cisti di origine umana e 4 da ovini; dalla Spagna 15 cisti da ovini e dall'Iraq 46 cisti da ovini, 44 da bovini, 3 da ovicaprini e 8 da pazienti. L'identificazione a livello di genotipo/strain è stata effettuata mediante sequenziamento della regione mitocondriale della subunità 1 del gene codificante per la citocromo ossidasi, marcatore noto di valore tassonomico (Bowles et al 1992; Thompson, 2008). I risultati descrivono almeno tre genotipi noti circolanti in questi paesi e alcune "microvarianti" (varianti dello strain di riferimento per alcuni nucleotidi non diagnostici per altri strain): nei pazienti ospedalizzati in Italia si osserva la presenza dei genotipo G1, G3 e G7 mentre negli ovini i soli genotipi G1 e G3; in Spagna e in Iraq si osserva la sola presenza del genotipo G1 e delle forme microvarianti. Rispetto ai dati noti in letteratura per gli strains di *Echinococcus* spp. si osserva un numero maggiore di casi umani di idatidosi in Italia dati dal genotipo G3 in confronto con altre regioni. Rispetto agli approcci diagnostici classici in uso, che si basano su tecniche di immagine e su analisi sierologiche scarsamente specifiche e sensibili, ottenere informazioni sulla genetica del parassita potrebbe rivelare aspetti non ancora chiari sulla patogenicità dei vari strain per gli ospiti intermedi.

Ascariasi: Gli esemplari di *Ascaris* spp studiati fin ora sono stati campionati dall'ospite umano e dal suino, rispettivamente appartenenti alle specie riconosciute *lumbricoides* e *suum*. In totale sono stati analizzati 12 nematodi da pazienti ospedalizzati in Italia, 15 in Slovacchia e 8 in Colombia; inoltre sono stati genotipizzati anche 187 nematodi da suini di origine italiana.

Le specie valide ad oggi sono *A. suum*, nel suino, e *A. lumbricoides* nell'uomo. Sono state descritte però anche forme intermedie, ossia ibridi tra le due specie che insieme ai casi noti di infestazione crociata mettono in discussione la validità delle due specie e suggeriscono un ruolo zoonosico per *A. suum* (Leles et al 2012; Cavallero et al 2013; Betson et al 2016). I nostri risultati confermano la presenza del genotipo tipicamente suino circolante nei pazienti provenienti da Paesi considerati non endemici, come l'Italia, mentre il genotipo tipicamente umano sembra essere prevalente in zone endemiche come la Colombia. I campioni Slovacchi, collezionati in situazioni di disagio sociale (campi nomadi) mostrano in tutti i casi il genotipo tipicamente umano, come osservato nei paesi endemici.

Attività previste per il II anno del progetto.

Si prevede di aumentare il campionamento includendo altri Paesi per lo studio dell'echinococcosi, e un numero maggiore di suini da zone endemiche e non endemiche per lo studio dell'ascariasi. Inoltre, grazie ai fondi associati alla borsa di studio, si prevede di analizzare mediante microsatelliti i campioni di *Ascaris* precedentemente genotipizzati mediante l'approccio PCR-RFLP della regione nucleare ribosomale ITS, per ridurre il numero dei falsi positivi ibridi osservati con tale metodo. Questo approccio ci permetterà di fare studi di popolazione e stimare il reale flusso genico tra le due entità tassonomiche, e di conseguenza di contribuire a chiarire lo status tassonomico, aspetto di fondamentale importanza per lo sviluppo di tecniche di diagnosi e di controllo efficaci. In ultimo, verrà studiato un aspetto complementare come la possibile associazione tra le attività lavorative e il rischio di infestazione (ad es. pastori, addetti alla macellazione, allevatori, agricoltori, macellai, veterinari, conciatori), attraverso uno screening sierologico mirato a determinare la sieroprevalenza di echinococcosi cistica in lavoratori potenzialmente esposti al parassita e a valutare i fattori di rischio occupazionale associati.