

**PROGETTI DI “RICERCA CORRENTE 2021”**  
**RELAZIONE FINALE**

**N. identificativo progetto: IZS LT 08/21 RC**

**Progetto presentato da:**

**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE**

**LAZIO E TOSCANA “M. ALEANDRI”**

**Area tematica: sanità animale**

**Titolo del progetto: Applicazione di metodiche biomolecolari per lo screening e la caratterizzazione profonda di parassiti di rilevanza zoonosica, in animali da reddito, da compagnia e selvatici nell’attività di sorveglianza passiva sui territori di Lazio e Toscana.**

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute

**Responsabile Scientifico: Manuela Iurescia**

## SINTESI

**Titolo Applicazione di metodiche biomolecolari per lo screening e la caratterizzazione profonda di parassiti di rilevanza zoonosica, in animali da reddito, da compagnia e selvatici nell'attività di sorveglianza passiva sui territori di Lazio e Toscana.**

Parole chiave: parassiti zoonotici, *Echinococcus granulosus*, *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*, screening e caratterizzazione molecolare

Lo scopo di tale progetto è quello di sviluppare protocolli di screening per l'identificazione delle diverse specie/assemblaggi/genotipi di alcuni parassiti zoonotici di particolare rilevanza sanitaria (es. *Echinococcus granulosus* sensu lato, *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp.), tramite l'applicazione di tecniche biomolecolari, che prevedano l'amplificazione di target genetici rappresentativi (mediante PCR/RealTime PCR) e sequenziamento mediante "Sanger sequencing". In particolare, l'applicazione di tali protocolli permetterebbe di identificare gli eventuali assemblaggi e sottoassemblaggi nel caso di *G. duodenalis* e specie e genotipi nel caso di *Cryptosporidium* spp. con potenziale zoonotico, in tempi rapidi. Permetterebbe, inoltre, la caratterizzazione attraverso genotipizzazione di *E. granulosus* sensu stricto, discriminando specialmente i genotipi (es. G1 e G3) circolanti nelle regioni di competenza. Saranno inoltre condotti approfondimenti di caratterizzazione molecolare in eventuali parassiti di rilevanza zoonosica riscontrati nelle attività di sorveglianza passiva (es. diagnostica anatomo-patologica, esami parassitologici delle feci etc.) da animali selvatici; tali tecniche molecolari saranno di ausilio e affiancate alle più tradizionali valutazioni macro e microscopiche per l'identificazione morfologica.

Questo progetto si prefigge l'obiettivo di ottenere una collezione di campioni rappresentativi e di particolare interesse che potrà essere sottoposta successivamente ad un'ulteriore caratterizzazione profonda tramite applicazione di tecniche di sequenziamento massivo ad alto potere risolutivo (High-Throughput Sequencing, HTS).

## SUMMARY

The aim of this project is to develop screening protocols for the identification of the different species/assemblages/genotypes of some zoonotic parasites of particular sanitary relevance (e.g. *Echinococcus granulosus* sensu lato, *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp.), through the application of biomolecular techniques, which foresee the amplification of representative genetic targets (by PCR/RealTime PCR) and sequencing by 'Sanger sequencing'. In particular, the

application of such protocols would make it possible to identify possible assemblages and subassemblages in the case of *G. duodenalis* and species and genotypes in the case of *Cryptosporidium* spp. with zoonotic potential, quickly. It would also allow the characterisation by genotyping of *E. granulosus sensu stricto*, especially discriminating genotypes (e.g. G1 and G3) circulating in the relevant regions. Molecular characterisation studies will also be carried out on any parasites of zoonotic significance found in passive surveillance activities (e.g. anatomico-pathological diagnostics, parasitological examinations of faeces, etc.) from wild animals; these molecular techniques will be supported and flanked by the more traditional macro- and microscopic assessments for morphological identification. The aim of this project is to obtain a collection of representative samples of particular interest that can subsequently be subjected to further in-depth characterisation through the application of high-throughput sequencing (HTS) techniques.

Key words: zoonotic parasites, *Echinococcus granulosus*, *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*, screening and molecular characterisation

## INTRODUZIONE

La presenza e la diffusione di parassiti in animali da reddito, da compagnia e selvatici rappresentano una problematica di grande rilevanza sia in ambito zootecnico che sanitario. Oltre a compromettere il benessere e la produttività degli animali, molte parassitosi hanno implicazioni zoonotiche, potendo costituire un rischio per la salute umana. Per affrontare efficacemente queste problematiche, è cruciale disporre di strumenti diagnostici avanzati, in grado di identificare in modo rapido e accurato i parassiti presenti in diverse popolazioni animali. In questo contesto, le metodiche biomolecolari rappresentano una risorsa fondamentale per lo screening e la caratterizzazione profonda di parassiti, grazie alla loro sensibilità, specificità e capacità di individuare diverse specie parassitarie con un'alta precisione. Le infezioni parassitarie causate da *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum* ed *Echinococcus* spp. rappresentano una rilevante problematica per la salute animale e pubblica. Questi parassiti sono responsabili di zoonosi diffuse che colpiscono animali da reddito, da compagnia e selvatici, potenzialmente trasmissibili all'uomo.

Il *Cryptosporidium* è un protozoo che fa parte del phylum Apicomplexa, che infetta un'ampia varietà di vertebrati. Alcune specie infettano l'uomo, provocando un'enterite acuta che si manifesta con diarrea simile a quella colerica e dolori addominali. L'infezione avviene tramite ingestione di oocisti vitali emesse con le feci e veicolate dall'acqua o dal cibo.