

Piano Regionale della Prevenzione (PRP) 2020-2025

MO 6.17: Piano di monitoraggio della resistenza a prodotti insetticidi nei vettori

INTRODUZIONE E STATO DELL'ARTE

RESISTENZA AI BIOCIDI

Al fine di contenere i rischi di diffusione di malattie infettive (es. arbovirosi) trasmesse da artropodi vettori come le zanzare è fondamentale assicurare l'efficacia dei principi attivi biocidi impiegati per il loro controllo. Tuttavia, la situazione appare critica a livello globale per diverse ragioni tra cui:

- la gamma di prodotti biocidi disponibili è molto limitata;
- l'uso degli insetticidi rimane la strategia più facile da attuare e anche l'unica disponibile in situazioni di emergenza;
- lo sviluppo di resistenza agli insetticidi da parte degli insetti è molto frequente.

La resistenza agli insetticidi è definita come la capacità ereditaria di una popolazione di sopravvivere a una dose di insetticida che normalmente risulterebbe letale per una popolazione suscettibile della stessa specie, somministrata nelle stesse condizioni. Attraverso opportune strategie di *Insecticide Resistance Management* (IRM) è possibile:

- prevenire l'insorgenza di resistenza nelle popolazioni suscettibili;
- rallentarne l'evoluzione

A questo scopo, il primo passo è il monitoraggio della resistenza

- nello spazio
- e nel tempo

Nel caso si rilevi l'insorgenza di fenomeni di resistenza, sarà necessario intervenire con strategie atte a contenerne gli effetti. Ciò presuppone anche che venga compreso il meccanismo di insorgenza della stessa. Quest'ultimo spesso è una conseguenza di adattamenti genetici nella popolazione come l'insorgenza di mutazioni rispetto ai siti di azione dei principi attivi e di cambiamenti che riguardano gli enzimi metabolici, o l'affermazione di genotipi presenti all'interno della variabilità genetica naturale della popolazione. Alcuni fattori sono poi predisponenti rispetto a certe specie, come l'elevata fecondità e la rapidità del ciclo.

Diversi studi hanno messo in evidenza come mutazioni puntiformi determinino la presenza di alleli specificamente correlati all'insorgenza di resistenza ad alcuni principi attivi da parte di diverse popolazioni di zanzare rispetto al *wild type* suscettibile.

Il monitoraggio della resistenza di una popolazione locale può dunque essere determinato attraverso i seguenti approcci:

-Saggi biologici (biosaggi) in laboratorio. Si tratta di test di suscettibilità (es. dose-risposta) agli insetticidi eseguiti in laboratorio su individui raccolti in campo rispetto a una popolazione di

riferimento a suscettibilità nota. Gli stessi test possono poi essere ripetuti e confrontati nel tempo per rilevare eventuali variazioni di suscettibilità. Questo tipo di approccio fornisce un'indicazione della resistenza dal punto di vista fenotipico. Tuttavia, benché sia pratico, questo metodo permette di identificare lo sviluppo di resistenza solo a posteriori, cioè dopo che si è già affermata nella popolazione.

- Analisi molecolari e biochimiche. Consistono in test di laboratorio finalizzati a determinare il profilo genetico e l'attività di enzimi correlati alla resistenza agli insetticidi o ai processi di detossificazione, in popolazioni test rispetto a popolazioni di riferimento. Gli strumenti di diagnostica molecolare associati a biosaggi possono fornire dati importanti per identificare le cause della resistenza al fine di implementare adeguate strategie per la sua gestione. Questo approccio può permettere 1) di identificare precocemente nella popolazione la presenza di alleli per la resistenza e 2) aiutare a scegliere i principi attivi più efficaci.

Situazione locale

Il progresso degli studi sulle popolazioni di zanzare in diverse parti del globo non ha ancora visto in Sardegna l'implementazione di adeguati programmi finalizzati a conoscere meglio, sia sotto il profilo della suscettibilità agli insetticidi che sotto il profilo genetico, le popolazioni locali. Un piano di monitoraggio diventa dunque di vitale importanza ed è necessario che sia approntato con tecniche al passo con i tempi, anche per verificare e prevedere l'insorgenza di fenomeni di resistenza ai biocidi disponibili, che renderebbero inefficaci o poco efficaci gli interventi di contenimento.

OBIETTIVO GENERALE

Monitorare nello spazio e nel tempo l'insorgenza di fenomeni di resistenza nelle popolazioni di ditteri vettori (i.e., zanzare), come strumento informativo e necessario per supportare 1) la scelta dei prodotti disponibili e degli interventi massimizzandone l'efficacia e 2) lo sviluppo di un piano di gestione della resistenza.

Obiettivi specifici

- Monitorare la presenza e l'andamento della densità di popolazione di specie vettori di arbovirosi dell'uomo, con particolare riferimento alle zanzare *Culex pipiens* e *Aedes albopictus* in Sardegna.
- Monitorare i livelli di resistenza delle popolazioni degli insetti target provenienti da siti sentinella delle quattro provincie attraverso saggi biologici e analisi genetiche
- Definire protocolli di gestione della resistenza e di intervento per una maggiore efficacia

UNITA' OPERATIVE COINVOLTE

Unità Operativa 1	Compiti
Dip. Agraria in collaborazione con IZS e Province	<p>Censimento dei prodotti biocidi</p> <p>Censimento prodotti storicamente e attualmente in uso nelle province target e in contesti extraregionali. (Interviste agli enti coinvolti negli interventi e verifica presso la Città metropolitana di Cagliari, la Provincia di Sassari e la Provincia di Oristano; Individuazione prodotti disponibili sul mercato nazionale (Ricerca di mercato)</p> <p>Analisi della letteratura scientifica per individuare innovazioni tecnologiche disponibili anche per proporre interventi di tipo sperimentale da svolgere in condizioni di sicurezza e adeguatamente autorizzati dal Ministero della Salute.</p>
	<p>Biosaggi in laboratorio per monitoraggio della resistenza</p> <p>Sviluppo metodiche standardizzate per testare i prodotti biocidi sugli insetti in allevamento.</p> <p>Test di efficacia periodici con diversi prodotti commerciali su stadi giovanili, finalizzati a monitorare i livelli di efficacia dei prodotti e l'eventuale variazione nel tempo possibilmente associata allo sviluppo di resistenza.</p>
	<p>Analisi del profilo genetico di ecotipi locali</p> <p>Analisi di campioni di insetti prelevati dal campo prima e dopo un trattamento, finalizzata a studiare in maniera mirata il profilo genetico associato alla resistenza rispetto ai principi attivi comunemente impiegati (es. frequenza di alleli per la resistenza, basato su analisi di singoli individui). Si potrà in particolare fare riferimento alla ricerca di mutazioni specifiche e note (es. mutazioni kdr per i piretroidi).</p> <p>Studio preliminare per l'individuazione di geni target su cui basare le analisi (analisi in database, allineamenti di sequenze note, etc.)</p> <p>Sviluppo di protocolli di analisi standardizzate e ripetibili nel tempo che includono:</p> <p>Estrazione del DNA totale da zanzare raccolte in campo (adulti);</p> <p>Amplificazione di geni target mediante PCR</p> <p>Purificazione ampliconi e sequenziamento</p>

	Analisi delle sequenze
	Valutazione di innovazioni a basso impatto ambientale Studi in laboratorio mirati a testare e studiare soluzioni innovative che provengono dal campo della ricerca scientifica
Unità Operativa 2 IZS in collaborazione con Province	Monitoraggio in siti sentinella Selezione di siti rappresentativi in Sardegna Monitoraggio delle popolazioni mediante trappole per adulti Raccolta di insetti presso i siti, da destinare a biosaggi e analisi genetiche
	Allevamento di insetti in laboratorio Mantenimento in laboratorio di una linea di ciascuna specie di zanzara (<i>Culex pipiens</i> e <i>Aedes albopictus</i>). Collezione di insetti in campo e loro mantenimento in laboratorio per saggi biologici. Gli allevamenti saranno condotti presso il Laboratorio di Entomologia del IZS

OUTPUT DEL PROGETTO

Report annuale entro il mese di febbraio di ciascun anno a partire dal 2024 che riporta tutti i risultati del progetto con indicazioni e discussione sullo stato delle popolazioni di ditteri vettori monitorate dal punto di vista della resistenza agli insetticidi disponibili.

RISORSE FINANZIARIE PER CIASCUNA UNITA' OPERATIVA (a partire dal 2023)**MO 6.17**

Unità Operativa 1		
VOCE DI COSTO	DESCRIZIONE	IMPORTO (EURO)
Personale a contratto	Borse di studio (1 o 2) Mansioni: allevamento insetti, rilievi di campo, biosaggi in laboratorio	20.000,00
Materiali di consumo	Costi direttamente imputabili all'attività di ricerca: rientrano in questa categoria libri, software, materiali di consumo vari per i biosaggi e per il laboratorio di biologia molecolare, reagenti, il materiale complementare alle attrezzature e strumentazioni, trappole entomologiche	25.000,00
Servizi esterni	Servizi di analisi da commissionare all'esterno perché non disponibili, comunemente svolti da terzi affidatari (es. servizio di sequenziamento, analisi NGS, produzione di oligonucleotidi)	5.000,00
Missioni e pubblicazioni	Costo delle missioni per raggiungere i siti di rilievo in campo e per partecipare a meeting locali, nazionali e internazionali (inclusa eventuale iscrizione a congressi). Pubblicazione dei risultati delle attività di monitoraggio e ricerca su riviste a carattere scientifico e divulgativo.	5.000,00
Spese generali	Altre spese connesse direttamente e indirettamente alle attività progettuali (normalmente da rendicontare forfettariamente), incluso il prelievo di Ateneo per costi amministrativi.	10.000,00
totale		65.000,00

Unità Operativa 2

VOCE DI COSTO	DESCRIZIONE	IMPORTO (EURO)
Spese generali	spesa connesse al materiale impiegato, prestazioni tecnico-professionali ed a quant'altro si rendesse necessario ai fini dello svolgimento della ricerca ed (comprese spese gestionali eventuali a carico delle Province)	15.000,00
totale		15.000,00
totale complessivo		80.000,00