



**Identification and testing of
ticks collected from patients**

ILARIA PASCUCCI
Istituto Zooprofilattico Sperimentale
dell'Umbria e delle Marche -Italy

**Training school « citizens science as
a research tool for tick and tick borne
diseases risk prevention»**

Novi Sad, Serbia 26-27 September
2024

COST Action 21170 Pragmatick

Who and where we are

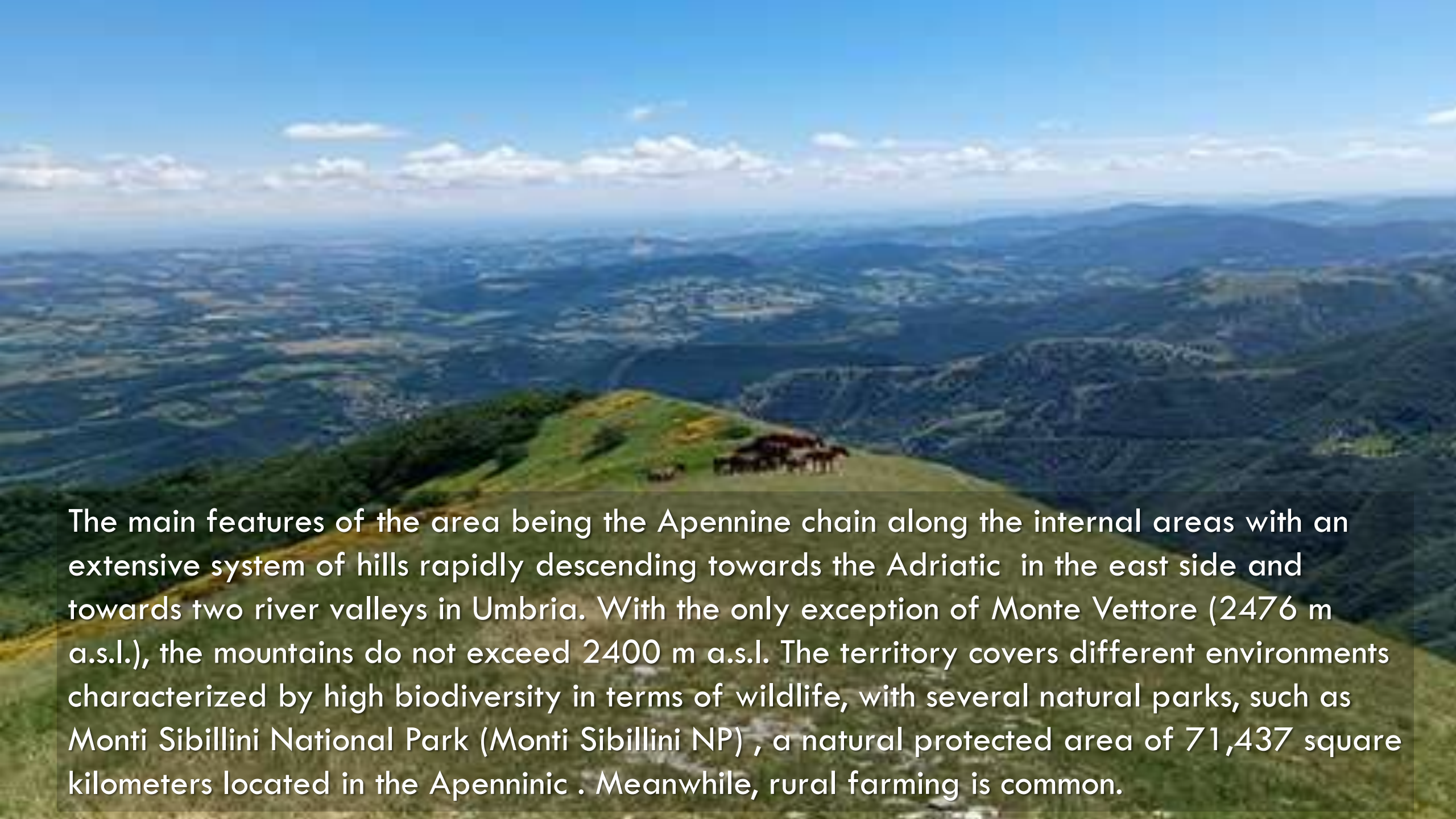
- IZS**
- IZS Abruzzo e Molise
 - IZS Lazio e Toscana
 - IZS Lombardia e Emilia Romagna
 - IZS Mezzogiorno
 - IZS Piemonte, Liguria e Val d'Aosta
 - IZS Puglia e Basilicata
 - IZS Sardegna
 - IZS Sicilia
 - IZS Umbria e Marche
 - IZS Venezia



Bi-Regional center for vectors and vector-borne diseases



A network of 10 Institutes with a total of 88 lab- units



The main features of the area being the Apennine chain along the internal areas with an extensive system of hills rapidly descending towards the Adriatic in the east side and towards two river valleys in Umbria. With the only exception of Monte Vettore (2476 m a.s.l.), the mountains do not exceed 2400 m a.s.l. The territory covers different environments characterized by high biodiversity in terms of wildlife, with several natural parks, such as Monti Sibillini National Park (Monti Sibillini NP), a natural protected area of 71,437 square kilometers located in the Apenninic. Meanwhile, rural farming is common.



Tick ID



From 2016 to 2019, 509 **ticks** have been collected from humans All ticks were preserved in ethanol 70% or +4 identified by morphology using the dichotomous key (Manilla 1998) and tested TBD.

Ticks and TBPs in Humans

Out of 512 ticks removed from humans, 509 were identified

Species	%	Number
<i>Dermacentor marginatus</i>	0,8%	4
<i>Haemaphysalis parva</i>	0,4%	2
<i>Ixodes ricinus</i>	95,9%	488
<i>Rhipicephalus pusillus</i>	0,4%	2
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	2,6%	13
Tot	100,0%	509

Ticks and TBPs in Humans from 2016 to 2019

Out of 509 collected, 256 were tested (since 2016), 38 ticks were positive for at least one of the pathogens.

17 (6,6%) ticks tested positive for *Rickettsia* sp.

15 (5,9%) ticks tested positive for *Anaplasma phagocytophilum*

8 (3,1 %) Ticks tested positive for *Borrelia burgdorferi* s.l.

2 (0.8%) ticks for *Babesia* sp.

Co-infection were also detected :

Rickettsia-Babesia

***Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* s.l.**

Ticks and TBPs in Humans

At the Bi-Regional center for vectors and vector-borne diseases (CERVe), located at IZSUM in Ancona, since 2016 has been activated a service for tick identification and pathogen testing in ticks removed from humans. In 2020 some changes have been made

ZONDIAC Centro Riferimento bi-regionale Entomologico delle malattie da Vettore (CERVe) Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche

COSA FARE PER PREVENIRE IL MORSO DI ZECCA E L'EVENTUALE TRASMISSIONE DELLE MALATTIE

Ilaria Pascucci lpascucci@izsum.it - Stefano Gavudan sgavudan@izsum.it

INFORMARSI sulle aree potenzialmente a rischio nel nostro percorso.

**P
R
I
M
A**

VESTITI OPPORTUNAMENTE: Indossare abiti lunghi e chiari, per limitare superfici facilmente accessibili alle zecche, scarpe chiuse (meglio stivali), maglia a maniche lunghe ed infilata dentro i pantaloni, pantaloni lunghi con le estremità infilate dentro i calzini/calzottoni, cappello o copricapo.

NON INDOSSARE ABITI LEGATI IN VITA che possono avere l'effetto coperta strisciata.

SPRUZZARE sulla cute repellenti a base di DEET (diethyltoluamide) o Icaridrina e sugli abiti e su tende o altre attrezzature prodotti repellenti a base di permetrina, ripetere l'applicazione più volte secondo le istruzioni del prodotto.



SCUOTERE EVENTUALI PANNI (coperte, tovaglie) che siano stati stesi sull'erba prima di entrare all'interno delle abitazioni.

CONTROLLARE I VESTITI, eventualmente spazzolare gli indumenti prima di portarli all'interno delle abitazioni.

CONTROLLARE ogni area del corpo al fine di scovare le eventuali zecche infisse nella cute, prestare particolare attenzione al cuoio capelluto nei bambini e a tutte le zone con presenza di reticolo venoso (ascelle, inguine, incavo del ginocchio).

ASPORTARE al più presto le eventuali zecche, afferrandole quanto più possibile vicino alla cute, tirando e ruotando delicatamente con un paio di pinzette o servendosi di appositi uncini reperibili in commercio (prima delle 24-72 ore, anche se la zecca è infetta, è improbabile la trasmissione di *Borrelia burgdorferi* s.l.).
Se il rostro della zecca rimane all'interno della pelle, estrarlo con l'aiuto di un ago sterile.
Applicare disinfettanti sulla parte soltanto dopo l'estrazione della zecca, evitando quelli che colorano la pelle (tintura di iodio, mercurocromo) perché potrebbero mascherare reazioni locali.

Le zecche che più comunemente si trovano sull'uomo sono generalmente non ingorgate per questo hanno dimensioni di pochi mm e facilmente possono passare inosservate.

NON APPLICARE nessun tipo di sostanza (alcol, etere, olio) per togliere la zecca: queste, infatti, inducono il riflesso di rigirgolo nella zecca facilitando la trasmissione di *Borrelia burgdorferi* s.l.

CONSERVARE la zecca a temperatura ambiente e conferirla in un barattolo alla sede dell'Istituto Zooprofilattico più vicino per una corretta identificazione di specie che possa supportare un eventuale sospetto clinico di malattia.

CONTROLLARE, se morsi da una zecca, l'area del morso per almeno 30-40 giorni al fine di riconoscere l'eventuale comparsa di reazioni cutanee (eritema cronico migrante), la somministrazione di antibiotici per uso sistemico o locale nel periodo di osservazione è sconsigliata poiché può mascherare eventuali sintomi e/o segni di malattia e rendere più complicata la diagnosi.

RIFERIRE AL MEDICO LA PUNTURA DI ZECCA nel caso si presenti febbre o altra sintomatologia durante il periodo di osservazione.

**S
E
M
P
R
E**

CONTROLLARE il cane ogni volta che si rientra da una passeggiata prestando attenzione alle zecche non ancora attaccate che possono essere presenti sul pelo.

MANTENERE LIBERI DA ZECCHE gli animali da compagnia mediante applicazione di antiparassitari seguendo le indicazioni del produttore.

CURARE IL VERDE PRIVATO e sfalcare l'erba alta regolarmente.



A sample collection form has been distributed amongst, primary care units, local hospitals, public diagnostic laboratories.

Furthermore a booklet has been published on the web site of IZSUM

Moreover, a campaign was carried out to raise awareness of the problem of tick bite and diseases transmitted among doctors

CENTRO REGIONALE SORVEGLIANZA ENTOMOLOGICA DELLE MALATTIE DA VETTORE IZSUM centro vector@izsum.it

NUMERO ACCETTAZIONE

MODELLO ZECCHEREV.003_1_M_2021

MODULO PER L'INVIO AL LABORATORIO DI ZECCHE PRELEVATE DA UOMO PER IDENTIFICAZIONE e RICERCA PATOGENI

QUESTO DIAGNOSTICO: ENZEC-PIANO NAZ. SORVEG. ENCEFAL. VIR. DA ZECCHE/ALTRE ARBOVIRUS-HANTAVIRUS

Dottor/Dott.ssa: _____

<input type="checkbox"/> MEDICO DI MEDICINA GENERALE	<input type="checkbox"/> PEDIATRA DI LIBERA SCELTA	<input type="checkbox"/> ALTRO: _____
<input type="checkbox"/> MEDICO DI PRONTO SOCCORSO SPECIFICARE IL PRESIDIO OSPEDALIERO _____		<input type="checkbox"/> MEDICO DEL REPARTO DI _____ SPECIFICARE IL PRESIDIO OSPEDALIERO _____

RECAPITO MEDICO TEL. _____ COMUNE _____

VIA _____

PEC/MAIL (DOVE VERRANNO INVIATI I RISULTATI DEGLI ESAMI) _____

ISTRUZIONI OPERATIVE IMPORTANTI: La zecca deve essere tolta senza utilizzare disinfettanti, olio o repellenti, con delle pinzette vicino al punto di infusione nella cute ed effettuando una rotazione e trazione delicata ma continua in maniera da asportare completamente il rostro. Controllare che questo sia stato completamente rimosso, nel caso rimuoverlo con un ago sterile. Disinfettare con disinfettanti incolore che non mascherino eventuali comparse di reazioni cutanee, non utilizzare terapia antibiotica a scopo profilattico. Tenere in osservazione il punto di infusione per un periodo fino ad un mese e riferire al medico eventuali comparse di reazioni cutanee e altri sintomi durante il periodo di osservazione. Il campione va inviato in barattolo con tappo a vite o provetta chiusa e contenente cotone appena umido a temperatura ambiente o refrigerato.

DATA DI PRELIEVO DELLA ZECCA _____

CODICE ACCETTAZIONE PAZIENTE/C.F. _____

LOCALITA' PRESUNTA DI ATTACCO DELLA ZECCA _____

SI INVIANO _____ ZECCHE PER L'IDENTIFICAZIONE DI SPECIE E SUCCESSIVE ANALISI MOLECOLARI

NOTE: _____

Io sottoscritto dichiaro di aver fornito completa informazione ai sensi dell'art. 13 del D.lgs. n. 196/03 "Codice in materia di protezione dei dati personali", ed esprimo la propria autorizzazione al trattamento dei dati personali esclusivamente ai fini degli adempimenti di legge concernenti la ricerca di interesse scientifico, culturale, statistico, sanitario e gestione amministrativa nel rispetto in ogni caso del trattamento dei dati da parte dell'istituto sanita, comunque, improntato a principi di correttezza, liceità e trasparenza nonché di tutela della riservatezza e dei diritti del soggetto interessato.

DATA CONSEGNA CAMPIONI: _____ FIRMA _____

Sedi dell'IZSUM "TOGO ROSATI" DOVE POTER FAR PERVENIRE I CAMPIONI:

PERUGIA: Via G. Salemmi, 1 - 06126 - Tel. 075.3431
ANCONA: Via Capo di Posatora, 3 - 60100 - Tel. 071.41760
TOLENTINO: Via Maestri del Lavoro, Contrada Cisterna-40229 - Tel. 0733.262206

TERNI: Via Carlo Alberto della Chiesa, - 05100 - Tel. 0744.402476
FERMO: Contrada S. Martino, s. - 63023 - Tel. 0734.621489
PESARO: Via Canonici, 140 - 61100 Villa Postiglioni - Tel. 0721.281677

Although the service has been active since 2016, in 2022 a letter was sent to all doctors and hospitals to raise awareness of the service.

Oggetto: attività diagnostica dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche per identificazione zecche e ricerca patogeni trasmessi

Al fine di supportare i Medici nella diagnosi delle malattie da zecche, il Centro di Riferimento biregionale per l'Entomologia e le malattie trasmesse da Vettori (CERVE) dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (IZSUM) ha attivato un servizio di identificazione di specie e ricerca degli eventuali patogeni nelle zecche asportate dai pazienti. Tale attività viene eseguita nell'ambito del Piano di Sorveglianza Nazionale sulle Arbovirosi e, come attività istituzionale, non comporta nessun costo a carico dell'utente.

I campioni di zecche prelevati sul territorio potranno essere conferiti presso le sedi diagnostiche dell'IZSUM con la compilazione della scheda allegata.

Al fine di promuovere tale servizio si prega di diffondere l'informativa allegata ai Medici di Medicina Generale, pediatri di Libera Scelta, Unità Patologia Clinica, Reparti di Malattie Infettive, Pronto Soccorso.

Distinti saluti.

Il Direttore Generale
Istituto Zooprofilattico Sperimentale
Umbria e Marche

Training meetings have been organised with hiking guides who accompany people along the numerous nature itineraries. Materials for the tick collection have been delivered



**Centro Regionale per le
malattie trasmesse da
vettori e malattie degli
animali selvatici**

**"Salute dell'ambiente e
dell'uomo: ruolo della fauna
selvatica nel ciclo dei patogeni
trasmissibili all'uomo ed agli
animali con particolare
riferimento ai patogeni
trasmessi da zecche"**

29 marzo 2023 15,30-18,30

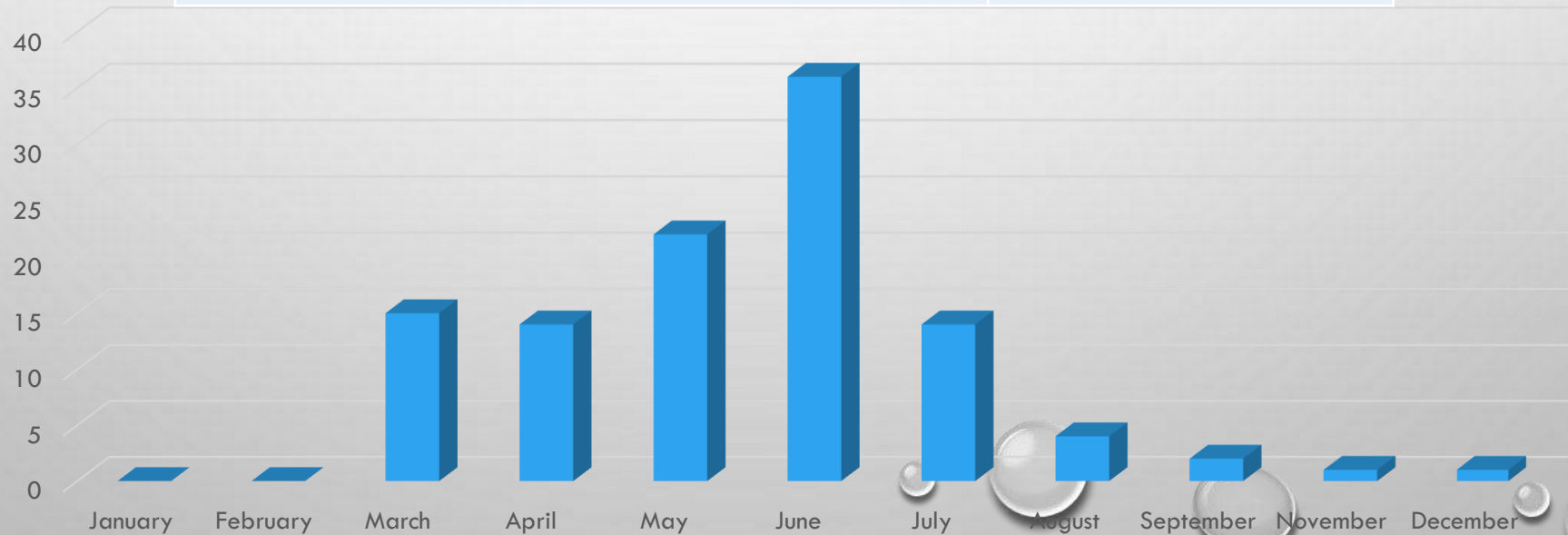
**Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e
Marche
Sede di Ancona**

A QR code linking directly to all the documents was created and shared amongst the guides and the citizens



TICK ID FROM 2022 TO 2024

Species	Number
<i>Dermacentor marginatus</i>	16
<i>Hyalomma marginatum</i>	1
<i>Ixodes hexagonus</i>	1
<i>Ixodes ricinus</i>	70
<i>Rhipicephalus sanguineus</i> group	14
Not suitable	3
Total	105



TICK TESTING FROM 2022 TO 2024

- 311 test
- 100 for Rickettsia SFG (11 positives) (3 *R.monacensis* 3 *R.helvetica* 3 *R.slovaca* 1 *R. raoultii* and 1 *R.massiliae*)
- 86 test per *A.phagocytophilum* (3 positive) and *Borrelia burgdorferi* s.l. (1 positive *B.lusitaniae*)
- 86 test for Flavivirus (all negative)
- 39 for *Babesia* sp. (all negative)

CASE REPORT OF SUSPECTED SENLAT

SENLAT (or DEBONEL-Dermacentor-borne necrotic erythema and lymphadenopathy) is a Rickettsiosis caused mainly by *R. slovaca* and *R. raoultii* and characterized by enlarged neck lymph nodes and scalp eschar after a tick bite, mainly belonging to *Dermacentor* genus.

Dermacentor acts as reservoir being *Rickettsia slovaca* vertically transmitted (FI 99% for *D. variabilis*)



CASE REPORT OF SUSPECTED SENLAT

A 60 years old woman was bitten by a tick in the countryside of Perugia around the 16th of March 2022. Three days later the tick was removed at home and preserved at room temperature (19 March)



- Gentamicin was used locally for few days.
- 5 days later a necrotic painful lesion, enlargement of cervical lymph nodes were reported . General treatment by Amoxicilin and Clavulanic acid has been started

CASE REPORT OF SUSPECTED SENLAT



- After one week of treatment by Amoxicilin and Clavulanic acid, the lesion worsened, and the lymph node continued to be enlarged and painful, the 2nd of April general Doxiciclin therapy was initiated.

CASE REPORT OF SUSPECTED SENLAT



- In the meanwhile, we were called for a consultancy, and, according the clinical history and epidemiological information (the season and the environmental feature of the suspected biting site), Rickettsiosis was suspected.
- The tick was delivered IZSUM Lab and identified as an almost fully engorged *Dermacentor marginatus* female.
- The tick tested positive for *Rickettsia* sp. by PCR and *gltA* gene sequencing had identified *R. slovaca* with a 100% of homology with *R. slovaca* isolated from a tick in Corsica in 2018 (MK608660). Sequence has been registered in GenBank (AN ON316844).

CASE REPORT OF SUSPECTED SENLAT

Results of our test were communicated to the local hospital infectious diseases dept Doxycycline therapy was continued for two weeks and the lesion resolved , while cervical lymph nodes took longer to reduce.

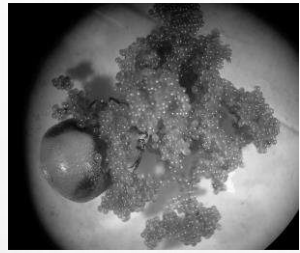
Unfortunately, serological test only for *R.conorii* was performed 6 days after the tick bite with negative results, and it was not repeated .

DERMACENTOR MARGINATUS IN CENTRAL ITALY

Dermacentor marginatus is a three-host tick species reported in almost all the Italian territory. It's present in open environments characterized by xerophilic plant communities like oak woods, shrub steppe and medium and high mountain pastures generally above the 1000 m. s. l.



DERMACENTOR MARGINATUS IN CENTRAL ITALY



Eggs

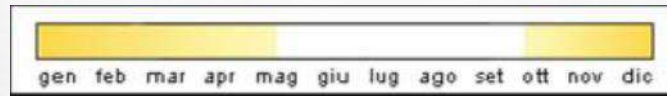
Environment



Environment

Larva

Adults' host are mainly Artiodactyls, immatures feed mainly on rodents, hedgehogs and hares are active during spring and summer.



Adults

It's mainly a winter tick, comparing to Central Europe, in Central Italy activity of adults begin later in October but it extends all along the wintertime till spring.



Adult

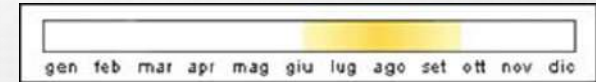
Environment



Environment



Nymph



Larvae and Nymphs





- Ungulates are the main hosts of adults of *D.marginatus*.
- In Central Italy *D.marginatus* is strictly associated to wild boars (80%-99%), that can easily spread it.
- A role of wild boars in *D. marginatus* breeding aggregations and in the transmission of *Rickettsia slovaca* is hypothesized in literature



- Increased density of wild boars has been reported during the past decades.
- Hunting pressure and food availability induced them to live in close proximity to human activities enhancing the risk of contact with pathogens

WHAT WE HAVE LEARNED

- Building knowledge's network in a One Health perspective is essential for managing the risk and to support the diagnosis of tick borne diseases
- This approach is even more necessary in a rural context in a conserved natural environment, wherein humans, domestic and wild animals, vectors, and transmitted pathogens interact easily.



WHAT WE ARE DOING AND WHAT WE WANT TO DO

- Improve the service of tick ID and pathogen testing for humans make it known as much as possible also amongst citizens
- Design a communication plan
- Networking with human health side is ongoing by organization of meetings and courses and sharing protocols

THANKS FOR THE ATTENTION

