

Biotecnologie entomologiche basate su simbionti batterici per il controllo di zanzare vettori di patologie emergenti

Cambiamento climatico, globalizzazione e urbanizzazione stanno favorendo la diffusione in Europa di nuove specie di zanzare in grado di veicolare pericolosi virus di origine tropicale. L'ENEA si occupa da quasi due decenni dello sviluppo di strategie innovative per il controllo degli insetti vettori di malattie attraverso lo sfruttamento del comune ed innocuo batterio *Wolbachia*. Nell'ultimo quinquennio, il grado di maturità di questa biotecnologia ha consentito di arrivare alla sperimentazione in campo aperto e al trasferimento tecnologico alle imprese con risultati che lasciano ampie prospettive per un suo impiego su larga scala.

DOI 10.12910/EAI2025-070

di Riccardo Moretti, Elena Lampazzi, Maurizio Calvitti - Dipartimento Sostenibilità, circolarità e adattamento al cambiamento climatico dei Sistemi Produttivi e Territoriali, Divisione Sistemi Agroalimentari Sostenibili, Laboratorio Agri 4.0 - ENEA

La situazione emergenziale legata alle arbovirosi in Europa

Alcune specie di zanzare sono vettori specializzati di virus di origine tropicale come quelli di dengue, chikungunya, Zika e febbre del West Nile. In Europa, i casi di trasmissione locale di questi virus stanno costantemente aumentando oltre a riguardare porzioni di territorio sempre più ampie. Questa diffusione è supportata dal rapido spostamento di merci e persone tra le varie aree del globo, dal perfetto adattamento di alcune specie di zanzare, come la zanzara tigre (*Aedes albopictus*), al contesto urbano, dall'allungamento della stagione riproduttiva e della graduale espansione dell'areale di diffusione delle zanzare verso le alte latitudini che sono facilitati dal riscaldamento globale. Virus come quelli menzionati potrebbero divenire presto endemici anche nel nostro continente

col rischio di determinare un ingente aumento della spesa pubblica per far fronte alla gestione di epidemie. A questo quadro emergenziale è associata l'inconsistenza delle attuali strategie di controllo dei vettori, dovuta anche al rapido sviluppo di resistenza a vari insetticidi evidenziato ormai da molte popolazioni urbane di zanzare.

Sfruttare comuni simbionti delle zanzare per combatterle

In questo contesto, sviluppare nuove strategie di controllo innovative che si dimostrino efficaci ma anche sicure per la salute umana, per quella degli organismi non target e per l'ambiente, è una priorità assoluta. Vari gruppi di ricerca in tutto il mondo stanno concentrando i propri sforzi nello sviluppo di strategie di controllo innovative che possano integrarsi con gli attuali metodi di controllo in modo da contribuire ad abbattere le popolazioni di

zanzare oppure a renderle meno pericolose inibendo la loro capacità di veicolare virus. Questi obiettivi sono principalmente perseguiti attraverso metodi biologici, sfruttando in particolare il simbiote batterico *Wolbachia*, o sfruttando tecniche di editing genetico, non ancora regolamentate però nell'Unione Europea (Calvitti e Moretti, 2016).

Wolbachia è un batterio molto comune, diffuso in circa il 50% delle specie di insetti, in altri artropodi e nei nematodi, mentre non è compatibile con la fisiologia dei vertebrati. Il suo stile di vita è strettamente intracellulare e senza alcuno stadio che sia in grado di diffondersi nell'ambiente. Infatti, la trasmissione del batterio avviene generalmente per via transovarica, cioè per passaggio dagli ovari a tutte le uova prodotte dalle femmine. La sua presenza in un ospite può essere talvolta neutrale ma è

più spesso associata ad alcuni meccanismi di regolazione che contribuiscono alla sopravvivenza e alla riproduzione dell'insetto, indirettamente favorendo anche la sopravvivenza e la diffusione del batterio (Bourtzis et al., 2014).

Tra gli effetti noti, *Wolbachia* è in grado di indurre un meccanismo di sterilità post-copula che si manifesta qualora un maschio infetto feconda una femmina non infetta o portatrice di un ceppo del batterio diverso da quello del maschio e non compatibile. Questo fenomeno è noto come Incompatibilità Citoplasmatica (IC). Un'altra interessante proprietà di alcuni ceppi di *Wolbachia* è quella di contrastare le infezioni da parte di molti virus a RNA, con l'effetto di proteggere il proprio ospite. Entrambi questi fenomeni possono essere replicati artificialmente, trasferendo un opportuno ceppo del batterio in una popolazione di laboratorio di una specie di insetto di interesse tramite tecniche di micromanipolazione e microiniezione embrionale.

Nel caso dei ceppi di *Wolbachia* induttori di IC, la popolazione di insetti ottenuta può essere moltiplicata in modo da rendere disponibili grandi quantità di maschi sterilizzanti che, liberati periodicamente in natura, possono rendere sterili le femmine selvatiche della specie, riducendo così la capacità della popolazione bersaglio di riprodursi. Questa strategia di soppressione è nota come "tecnica dell'insetto incompatibile" (IIT). Un ceppo di *Wolbachia* protettivo nei confronti dei virus può essere invece sfruttato per inibire la replicazione e diffusione di virus eventualmente acquisiti con un pasto di sangue da insetti vettori, riducendo così la loro capacità di ritrasmetterli. Questo principio è la base di una strategia di lotta che è definita "Population Replacement" che ha l'obiettivo di

promuovere la sostituzione di popolazioni di zanzare vettori di virus con popolazioni modificate in laboratorio in modo da non essere più in grado di veicolarli.

Queste due strategie di controllo dei vettori basate su *Wolbachia* sono in via di sperimentazione in un numero crescente di aree del mondo (Moretti et al., 2025).

La biotecnologia ENEA per combattere la zanzara tigre

Nel 2008, l'ENEA sviluppò una linea di zanzara tigre (*Aedes albopictus*) utilizzabile per sopprimere le popolazioni selvatiche della specie grazie al fenomeno dell'IC. Un trattamento antibiotico preliminare permise di eliminare i ceppi di *Wolbachia* (*wAlbA* e *wAlbB*) naturalmente ospitati dalla specie. Tramite transinfezione embrionale, venne quindi introdotto in questa linea un ceppo del batterio (il ceppo *wPip*) invece presente nella zanzara comune (*Culex pipiens*) (Calvitti et al., 2010). Maschi e femmine della linea ottenuta, ARwP, risultano essere perfettamente interfertili ma i maschi ARwP sono in grado di

indurre la totale sterilità di tutte le uova prodotte da un accoppiamento con le femmine selvatiche (Calvitti et al., 2012). In modo analogo, sono totalmente sterili anche tutte le uova prodotte da un accoppiamento tra un maschio selvatico ed una femmina ARwP (Figura 1).

La linea ARwP è stata testata per diversi anni in condizioni di laboratorio per valutare la stabilità della simbiosi artificiale, gli effetti determinati sull'ospite, il livello di sterilità indotta, l'adattabilità della linea a protocolli di allevamento massale, la competitività sessuale dei maschi (Moretti e Calvitti, 2013; Puggioli et al., 2016). Gli ottimi risultati ottenuti hanno consentito di elevare gradualmente il livello di maturità della biotecnologia fino alla programmazione di sperimentazioni in campo aperto.

Sicurezza della strategia ed efficacia dimostrata in campo

Oltre ad essere sicuro, l'utilizzo di *Wolbachia* è considerato rispettoso per l'ambiente perché non prevede l'introduzione in natura di alcun organismo o molecola che non sia già

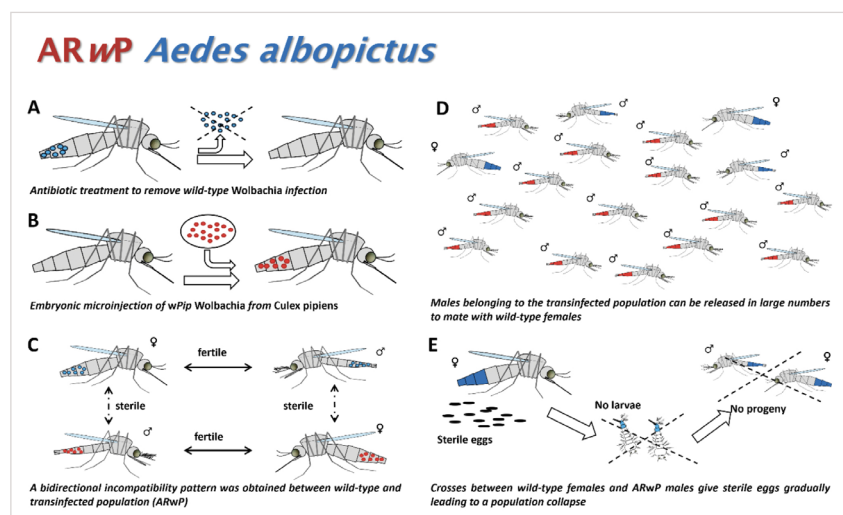


Figura 1 - Realizzazione di una popolazione di zanzara tigre in grado di produrre maschi sterilizzanti attraverso lo sfruttamento di un naturale meccanismo di incompatibilità riproduttiva mediato da un batterio comune ed innocuo (da Calvitti e Moretti 2016).

presente (Moretti et al., 2025). Nel caso, ad esempio, della linea ARwP, sia la zanzara tigre, sia il ceppo di *Wolbachia* ospitato dai maschi rilasciati sono comunemente presenti in Europa. Inoltre, l'applicazione dell'IIT non produce alcun residuo che possa sopravvivere alla sperimentazione perché i maschi rilasciati non possono riprodursi e *Wolbachia* non sopravvive alla morte dell'ospite. Attraverso la "Decisione di esecuzione (UE) 2018/1623 della Commissione del 29 ottobre 2018, a norma dell'articolo 3, paragrafo 3, del regolamento (UE) n. 528/2012 del Parlamento europeo e del Consiglio, relativa alle zanzare artificialmente infettate da *Wolbachia* utilizzate a fini di controllo dei vettori", l'utilizzo di *Wolbachia* per fini sperimentali è oggi consentito anche in Europa.

L'IIT in campo aperto fu sperimentato per la prima volta in Europa dall'ENEA nel 2018 e 2019, grazie anche al supporto dell'Università di Roma la Sapienza che rese disponibile un'adatta area sperimentale e collaborò nel monitoraggio dei risultati della sperimentazione. Questa esperienza, pur se condotta su piccola scala (2,5 ettari) e per un periodo di tempo limitato (6 settimane) consentì di dimostrare in un contesto reale l'efficacia dell'approccio portando all'abbattimento di quasi il 40% della fertilità media delle uova della zanzara tigre nonostante il rapporto tra maschi incompatibili e selvatici fosse vicino alla parità (Caputo et al., 2023; Figura 2).

Nell'ambito del progetto SYMPATHRY (finanziato dal PNRR), l'ENEA ha condotto nel 2025 un nuovo esperimento in campo su un'area molto più ampia, l'intero centro Ricerche ENEA-Casaccia (circa 60 ettari) e per un periodo di tre mesi. I risultati, ancora non pubblicati, sembrano confermare le potenzialità di questa strategia di ridurre in modo significativo la capa-

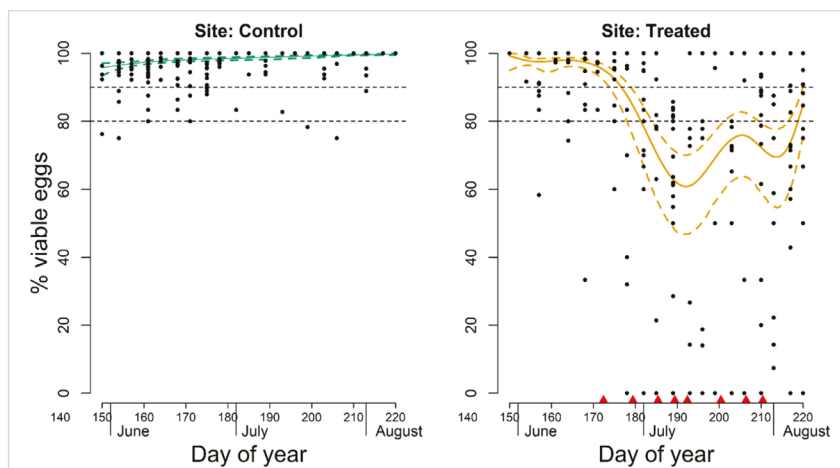


Figura 2 - Applicazione a Roma della tecnica biotecnologica di controllo della zanzara tigre sviluppata da ENEA nel 2019: Il rilascio di un numero di maschi di zanzara tigre incompatibili (ottenuti tramite lo sfruttamento del batterio simbiote *Wolbachia*) approssimativamente uguale a quelli selvatici causò una riduzione della fertilità della popolazione selvatica vicina al 40% (da Caputo et al., 2023).

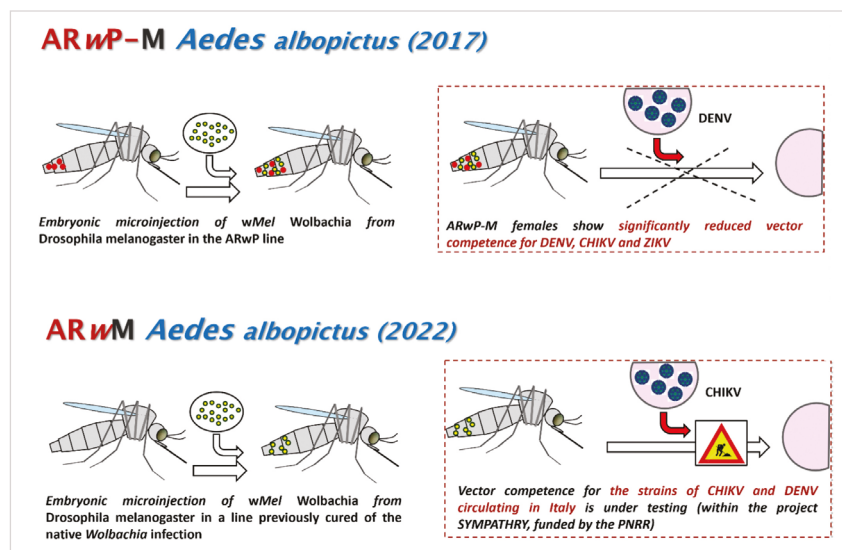


Figura 3 - Realizzazione di popolazioni di zanzara tigre in grado di produrre maschi sterilizzanti e femmine non più in grado di trasmettere virus di origine tropicale che iniziano a circolare in Europa (virus di dengue, Zika, chikungunya) grazie allo sfruttamento di *Wolbachia*.

rità riproduttiva della zanzara tigre. Questa attività è supportata da Google LLC che da alcuni anni collabora con i principali gruppi di ricerca attivi nel settore a livello mondiale per valorizzare l'IIT e testarlo su larga scala in modo da poter valutare efficacia e sostenibilità della strategia. Nel contesto dello stesso progetto,

ENEA, in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità, sta portando avanti un programma di ricerca volto alla selezione e stabilizzazione di nuove linee di *Ae. albopictus* infettate con ceppi esogeni di *Wolbachia* in grado di coniugare l'induzione della funzione sterilizzatrice dei maschi con la riduzione della competenza vettoria-

le nelle femmine, al fine di sviluppare strategie più efficaci per il controllo della trasmissione dei patogeni (Moretti et al., 2018; Figura. 3).

Il trasferimento tecnologico alle imprese e le prospettive applicative

L'utilizzo della linea ARWP per l'applicazione dell'IIT ha oggi raggiunto un TRL7 e, oltre alla recente collaborazione con Google LLC, questa strategia di controllo ENEA aveva

già in precedenza attratto l'interesse di investitori. Tra 2019 e 2024, l'ENEA è stata protagonista di un progetto di collaborazione con uno spinoff dell'Università di Camerino, BiovecBlok S.r.l. che, supportato economicamente da un'iniziativa di crowdfunding, ebbe l'obiettivo di arrivare all'allestimento di una biofabbrica da dedicare alla sperimentazione dell'IIT. La pandemia del covid-19 ed un quadro normativo Europeo ancora non maturo per consentire uno

sfruttamento commerciale della tecnologia frenarono in modo decisivo il programma. Tuttavia, le prospettive di collaborazione con investitori di maggior peso e la costruzione di una rete europea volta alla valorizzazione e alla sperimentazione dell'IIT nell'area Mediterranea incoraggiano a proseguire nello sviluppo di questa biotecnologia.

per info: riccardo.moretti@enea.it

Riferimenti bibliografici

- Bourtzis K, Dobson SL, Xi Z, Rasgon JL, Calvitti M, Moreira LA et al. (2014) Harnessing mosquito-Wolbachia symbiosis for vector and disease control. *Acta Tropica* 132S: 150S-163S. doi: 10.1016/j.actatropica.2013.11.004.
- Calvitti M, Moretti R, Lampazzi E, Bellini R e Dobson SL (2010). Characterization of a new *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) - *Wolbachia pipiens* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) symbiotic association generated by artificial transfer of the wPip strain from *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 47(2): 179-187.
- Calvitti M, Moretti R., Skidmore AR, Dobson SL (2012) *Wolbachia* strain wPip yields a pattern of cytoplasmic incompatibility enhancing a *Wolbachia*-based suppression strategy against the disease vector *Aedes albopictus*. *Parasites and Vectors* 5: 254.
- Calvitti M. e Moretti R (2016). La tecnica dell'insetto sterile per il controllo integrato di insetti nocivi: evoluzione e prospettive. *Energia Ambiente e Innovazione*, 3/2016. doi: 10.12910/EAI2016-037
- Caputo B, Moretti R, Virgillito C, Manica M, Lampazzi E, Lombardi G, Serini P, Pichler V, Beebe NW, della Torre A and Calvitti M (2023), A bacterium against the tiger: further evidence of the potential of non-inundative releases of males with manipulated *Wolbachia* infection in reducing fertility of *Aedes albopictus* field populations in Italy. *Pest Management Science*, 79: 3167-3176. <https://doi.org/10.1002/ps.7495>.
- Moretti R. and Calvitti M. (2013). Male mating performance and cytoplasmic incompatibility in a wPip *Wolbachia* trans-infected line of *Aedes albopictus* (*Stegomyia albopicta*). *Medical and Veterinary Entomology*, 27(4): 377-86. doi: 10.1111/j.1365-2915.2012.01061.x.
- Moretti R, Lim JT, Ferreira AGA, Ponti L, Giovanetti M, Yi CJ, Tewari P, Cholvi M, Crawford J, Gutierrez AP, Dobson SL, Ross PA (2025). Exploiting *Wolbachia* as a Tool for Mosquito-Borne Disease Control: Pursuing Efficacy, Safety, and Sustainability. *Pathogens*, 14(3): 285. doi: 10.3390/pathogens14030285.
- Moretti R, Yen P-S, Houé V, Lampazzi E, Desiderio A, Failloux A-B, Calvitti M. (2018) Combining *Wolbachia*-induced sterility and virus protection to fight *Aedes albopictus*-borne viruses. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 12(7): e0006626.
- Puggioli A, Calvitti M, Moretti R, Bellini R (2016) wPip *Wolbachia* contribution to *Aedes albopictus* SIT performance: advantages under intensive rearing. *Acta Tropica*, 164: 473-481. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.10.014.