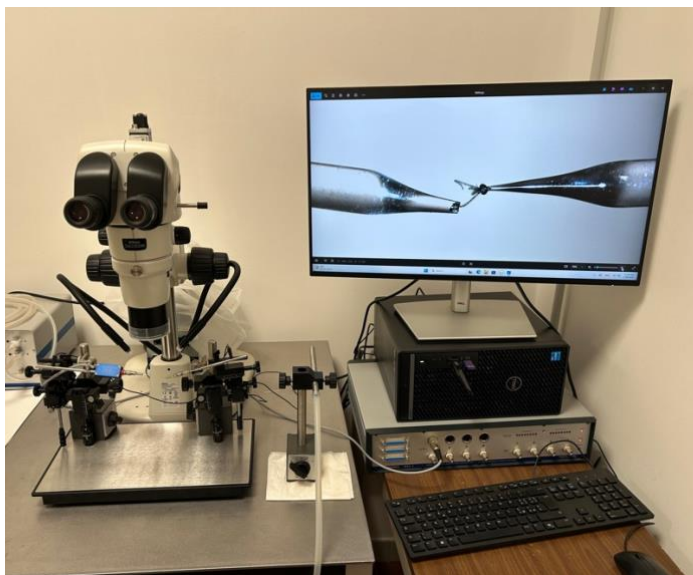


RISE

Infrastruttura di ricerca UNIBA

STEREOMICROSCOPIO CON ELETTROANTENNOGRAFO



Per informazioni rivolgersi al responsabile scientifico:

Prof. Domenico Otranto

Domenico.otranto@uniba.it

Polo Agraria Veterinaria

Dipartimento di Medicina Veterinaria (DiMeV)

Valenzano (BA), 70010

ENG: Within the framework of the National Recovery and Resilience Plan (PNRR), the Department of Veterinary Medicine (DiMeV) of the University of Bari Aldo Moro contributes to the INF-ACT extended partnership (PE000000007), dedicated to emerging infectious diseases through an integrated One Health approach. DiMeV contributes particularly to Research Node 2, 'Arthropod Vectors and Vector-Borne Pathogens', which aims to deepen knowledge of vector bionomics and vector-host-pathogen interactions and to develop innovative approaches for surveillance and eco-friendly vector control. In this research context, the Electroantennography (EAG) System supports experimental studies on the chemical ecology of insect vectors by measuring their antennal responses to volatile organic compounds (VOCs) and other semiochemicals.

What is this technique?

Electroantennography (EAG) is an electrophysiological technique that records the summed change in electrical potential across an insect antenna after exposure to an odour stimulus. The response, generally expressed in millivolts (mV), provides a rapid measure of antennal olfactory sensitivity and is used to identify compounds that are physiologically detected by the insect. EAG is therefore a valuable screening tool for selecting candidate semiochemicals for subsequent behavioural assays. Importantly, an EAG response demonstrates antennal detection but does not, by itself, indicate whether a compound is attractive or repellent;

electrophysiology is consequently most informative when combined with olfactometric, semi-field or field experiments.

How does it work?

The insect head or antenna is positioned under a stereomicroscope and connected between a reference electrode and a recording electrode using micromanipulators. A controlled pulse of the test odour is introduced into a continuous stream of filtered, humidified air directed towards the antennal preparation. The stimulus-induced electrical deflection is amplified, digitized and recorded as an electroantennogram, allowing comparison among compounds, mixtures and doses. In the study by Bezerra-Santos et al. (2024), female *Phlebotomus perniciosus* were examined using capillary electrodes, AgCl-coated silver wires, an IDAC-4 amplifier and EAG Pro software. Twenty-eight host-associated VOCs were screened; fourteen elicited high antennal responses (≥ 0.30 mV) and were selected for behavioural testing. In Y-tube assays, nonanal was significantly attractive, whereas myrcene and p-cymene showed repellent activity.

The EAG platform enables rapid prioritization of biologically relevant VOCs from complex host- or environment-associated odour profiles and can be integrated with chemical analyses and behavioural bioassays. For vector research, this approach can support the identification of attractants, repellents and other olfactory cues involved in host seeking, with potential applications in the development of improved traps, monitoring systems and environmentally sustainable vector-control strategies.

ITA: Nell'ambito del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR), il Dipartimento di Medicina Veterinaria (DiMeV) dell'Università degli Studi di Bari Aldo Moro partecipa al partenariato esteso INF-ACT (PE00000007), dedicato alle malattie infettive emergenti secondo un approccio integrato One Health. Il DiMeV contribuisce in particolare al Research Node 2, 'Arthropod Vectors and Vector-Borne Pathogens', finalizzato ad approfondire la conoscenza della bionomia dei vettori e delle interazioni vettore-ospite-patogeno, nonché a sviluppare approcci innovativi per la sorveglianza e il controllo eco-sostenibile dei vettori. In questo contesto di ricerca, il sistema di elettroantennografia (EAG) supporta studi sperimentali sull'ecologia chimica degli insetti vettori, consentendo di misurare le risposte antennali ai composti organici volatili (VOC) e ad altri semiochimici.

Cos'è questa tecnica?

L'elettroantennografia (EAG) è una tecnica elettrofisiologica che registra la variazione complessiva del potenziale elettrico dell'antenna di un insetto in seguito all'esposizione a uno stimolo odoroso. La risposta, generalmente espressa in millivolt (mV), fornisce una misura rapida della sensibilità olfattiva antennale e consente di individuare i composti percepiti fisiologicamente dall'insetto. L'EAG rappresenta quindi uno strumento di screening utile per

selezionare i semiochimici da sottoporre a successivi saggi comportamentali. È importante sottolineare che la risposta EAG dimostra la percezione antennale, ma non permette da sola di stabilire se un composto sia attrattivo o repellente; per questo motivo l'elettrofisiologia viene integrata con prove olfattometriche, semi-field o di campo.

Come funziona?

La testa o l'antenna dell'insetto viene posizionata sotto stereomicroscopio e collegata, mediante micromanipolatori, tra un elettrodo di riferimento e un elettrodo di registrazione. Un impulso controllato della sostanza odorosa viene immesso in un flusso continuo di aria filtrata e umidificata diretto verso la preparazione antennale. La variazione elettrica indotta dallo stimolo viene amplificata, digitalizzata e registrata come elettroantennogramma, permettendo il confronto tra composti, miscele e differenti dosi. Nello studio di Bezerra-Santos et al. (2024), femmine di *Phlebotomus perniciosus* sono state analizzate utilizzando elettrodi capillari, fili d'argento rivestiti di AgCl, un amplificatore IDAC-4 e il software EAG Pro. Sono stati sottoposti a screening 28 VOC associati all'ospite; quattordici hanno indotto elevate risposte antennali ($\geq 0,30$ mV) e sono stati selezionati per i saggi comportamentali. Nei test con olfattometro a Y, il nonanale è risultato significativamente attrattivo, mentre mircene e p-cimene hanno mostrato attività repellente.

La piattaforma EAG consente di prioritizzare rapidamente i VOC biologicamente rilevanti presenti in profili odorosi complessi di origine animale o ambientale e può essere integrata con analisi chimiche e bioassay comportamentali. Nella ricerca sui vettori, questo approccio può contribuire all'identificazione di attrattivi, repellenti e altri segnali olfattivi coinvolti nella ricerca dell'ospite, con potenziali applicazioni nello sviluppo di trappole più efficienti, sistemi di monitoraggio e strategie di controllo dei vettori a ridotto impatto ambientale.

References

- Bezerra-Santos MA, Zeni V, Pistillo OM, Bedini S, D'Isita I, Benelli G, Germinara GS, Volf P, Otranto D. *Phlebotomus perniciosus* response to volatile organic compounds of dogs and humans. *PLoS Negl Trop Dis*. 2024 Dec 30;18(12):e0012787. doi: 10.1371/journal.pntd.0012787. PMID: 39774440; PMCID: PMC11723633.
- Bezerra-Santos MA, Benelli G, Germinara GS, Volf P, Otranto D. Smelly interactions: host-borne volatile organic compounds triggering behavioural responses in mosquitoes, sand flies, and ticks. *Parasit Vectors*. 2024 May 16;17(1):227. doi: 10.1186/s13071-024-06299-1. PMID: 38755646; PMCID: PMC11100076.
- Pistillo OM, Farina P, Bezerra-Santos MA, D'Isita I, Volf P, Otranto D, Benelli G, Germinara GS. A simplified system for the detection of antennal responses to host-borne volatile organic compounds in sand flies. *Parasit Vectors*. 2025 Aug 19;18(1):352. doi: 10.1186/s13071-025-06998-3. PMID: 40830491; PMCID: PMC12363082.

