

## **Progetti di ricerca:**

Caratterizzazione dei focolai virali e analisi epidemiologico-molecolare degli isolati naturali di virus trasmessi da artropodi.

**Responsabile: Maria Grazia Ciufolini**

E' noto che l'epidemiologia multifattoriale dei virus trasmessi dagli artropodi può favorire l'emergenza di varianti virali. In questo ambito lo studio dei focolai naturali può risultare importante al fine di una previsione del potenziale epidemico di questi agenti.

Negli ultimi anni in nell'Italia settentrionale si è verificato un enorme aumento della popolazione di zecche con conseguenti numerosi casi sia della malattia di Lyme sia di Tick-borne encephalitis (TBE). La sorveglianza dei vettori in questo territorio ha portato all'isolamento di alcuni ceppi di virus TBE da zecche raccolte in differenti zone. Sebbene studi di epidemiologia molecolare riportati fino ad ora siano a favore di una grande stabilità degli isolati naturali, l'analisi comparativa delle proteine dell'involucro dei Flavivirus rivela domini variabili, dove possono essere presenti mutazioni aminoacidiche determinanti diversi fenotipi ai quali potrebbe essere associato un differente spettro di patogenicità.

Studi di ecologia virale in focolai naturali hanno mostrato la presenza simultanea nella stessa popolazione di flebotomi di più Phlebovirus (es. Toscana ed Arbia) e di più meccanismi di mantenimento e di amplificazione virale operanti in natura (trasmissione transovarica e venerea). Tali caratteristiche della nicchia ecologica, unite alla natura segmentata del genoma, potrebbero favorire l'emergenza di eventuali riassortanti. Inoltre le differenze rilevate nella risposta immune verso le diverse proteine virali ed diverso spettro clinico dell'infezione sembrerebbero indicare la cocircolazione di differenti genotipi.

Il nostro studio si propone il monitoraggio dell'infezione dei vettori nei focolai in modo da poter costruire una mappa di rischio dell'infezione e la caratterizzazione biologica e molecolare dei differenti ceppi di virus trasmessi da artropodi, con particolare riguardo alla zona di origine, all'animale ospite ed al potenziale patogeno per l'uomo.

## **Pubblicazioni recenti:**

Dionisio D., Valassina M., Ciufolini M.G., Vivarelli A., Esperti F., Cusi M.G., Marchi A., Mazzoli F., Lupi C. Encephalitis without Meningitis due to Sandfly Fever virus serotype Toscana. *CLINICAL INFECTIOUS DISEASES*; 2001, 32: 1241-3.

Di Bonito P., Bosco S., Mochi S., Accardi L., Ciufolini M.G., Nicoletti L., Giorgi C. Human antibody response to Toscana virus glycoproteins expressed by recombinant baculovirus. *J. MED. VIROL.* 2002;68:615-619

Francisci D., Papili R., Camanni G., Morosi S., Ferracchiato S., Valente M., Ciufolini M.G., Baldelli F. Evidence of Toscana Virus circulation in Umbria: first report. *EUR. J. EPIDEMIOL.* 2002 ; 18: 457-459,2003

Baldelli F., Ciufolini M.G., Francisci D., Marchi A., Venturi G., Fiorentini C., Luchetta M.L., Bruto L., Pauluzzi L. Life-threatening Toscana virus meningoencephalitis: an unusual presentation. *CLINICAL INFECTIOUS DISEASES* 2004, 38: 515-520 (February 15)

Studio del ruolo degli Arbovirus nei casi di malattia neurologica acuta.

**Responsabile: Maria Grazia Ciufolini**

La diagnosi in casi di malattia neurologica acuta costituisce una problematica aperta. Infatti, nonostante i miglioramenti delle metodiche, ogni anno una grossa percentuale di pazienti con queste patologie viene dimesso con diagnosi di “eziologia sconosciuta”. D'altra parte l'importanza di una diagnosi di queste infezioni, è di grande rilevanza in quanto numerosi sono i virus potenzialmente responsabili di meningiti o meningoencefaliti (Herpes, Mumps, Coxackie, Phlebovirus, Flavivirus etc.) ed una diagnosi differenziale permette di individuare o escludere un agente patogeno e quindi di poter intervenire terapeuticamente ed anche di prevedere il decorso della malattia.

La maggior parte dei dati sull'incidenza delle infezioni trasmesse da artropodi si riferisce a studi in aree circoscritte ed i dati finora pubblicati si riferiscono principalmente ad infezioni neurologiche acute ed ospedalizzate. In tali studi pilota, condotti in aree endemiche, ad esempio è risultato che più del 50% delle meningiti estive “ad eziologia sconosciuta” sono causate dal Phlebovirus Toscana. Tali casi costituiscono probabilmente la punta di un iceberg, dato che non sono stati effettuati studi sulle patologie più lievi che possono essere associate a questi virus e che non richiedono ospedalizzazione.

La cross-reattività dei saggi attualmente disponibili per la diagnosi dei virus trasmessi da artropodi quali i Phlebovirus e soprattutto i Flavivirus in alcuni casi non permette di identificare con precisione l'agente eziologico coinvolto. Per una corretta identificazione infatti occorrono più metodiche, di complessa esecuzione e che necessitano di reagenti non reperibili in commercio. Tali saggi nel nostro laboratorio vengono associati al tentativo di isolamento virale da campioni idonei che, nel caso di positività, conferma definitivamente l'eziologia della malattia.

La diagnosi dei casi clinici associati al virus Toscana e a Flavivirus circolanti nel nostro territorio e potenzialmente emergenti (Tick borne encephalitis ,West Nile ) potrà consentire una più corretta valutazione dell'incidenza e della distribuzione delle malattie trasmesse da artropodi.

In considerazione del fatto che l'infezione causata da questi virus può essere presente con manifestazioni subcliniche, è evidente l'importanza del monitoraggio sierologico dei soggetti a rischio, che permetta l'individuazione di situazioni “emergenti” in cui i tempi di intervento ed eventuale eradicazione devono essere estremamente rapidi.

### **Publicazioni recenti**

Dionisio D., Valassina M., Ciufolini M.G., Vivarelli A., Esperti F., Cusi M.G., Marchi A., Mazzoli F., Lupi C. Encephalitis without Meningitis due to Sandfly Fever virus serotype Toscana. CLINICAL INFECTIOUS DISEASES 2001, 32: 1241-3.

Di Bonito P., Bosco S., Mochi S., Accardi L., Ciufolini M.G., Nicoletti L., Giorgi C. Human antibody response to Toscana virus glycoproteins expressed by recombinant baculovirus. J. MED. VIROL. 68:615-619, 2002.

Francisci D., Papili R., Camanni G., Morosi S., Ferracchiato S., Valente M., Ciufolini M.G., Baldelli F. Evidence of Toscana Virus circulation in Umbria: first report. EUR. J. EPIDEMIOL. 2002 ; 18: 457-459,2003

Baldelli F., Ciufolini M.G., Francisci D., Marchi A., Venturi G., Fiorentini C., Luchetta M.L., Bruto L., Pauluzzi L.  
Life-threatening Toscana virus meningoencephalitis: an unusual presentation.

CLINICAL INFECTIOUS DISEASES; 38:515-520, February 15,2004

Romi R., Pontuale G., Ciufolini M.G., Fiorentini G., Marchi A., Nicoletti L., Cocchi M., Tamburro A. Potential vectors of West Nile Virus following an equine disease outbreak in Italy. MED. VET. ENTOMOL. 18: 1-6, 2004.

Studio dei fattori coinvolti nella trasmissione, nel mantenimento e nell'emergenza dei virus trasmessi da artropodi

**Responsabile: Maria Grazia Ciufolini**

Studi di differenti situazioni epidemiologiche mostrano quanto i sistemi di mantenimento in natura dei virus trasmessi da artropodi possono evolvere in risposta a situazioni ambientali spesso risultanti dall'intervento dell'uomo. L'incremento degli scambi commerciali, del turismo di massa e del fenomeno dell'immigrazione favoriscono l'introduzione di nuove specie di insetti, potenziali vettori di patogeni, e di patologie importate, creando in alcuni casi l'emergenza di problemi sanitari.

E' stato dimostrato che l'innalzamento della temperatura di incubazione accorcia il ciclo replicativo in alcune popolazioni di zanzare ed aumenta la produzione virale in sistemi cellulari di questi insetti infettati con Arbovirus. Dati ottenuti nel nostro laboratorio, mostrano un incremento della produzione virale in cellule di zanzare infettate con il virus Toscana ed incubate a temperature superiori alle normali e l'implicazione del meccanismo dell'apoptosi in questo fenomeno. E' riportato che l'apoptosi gioca un ruolo fondamentale nell'oogenesi e nello sviluppo larvale di varie specie di insetti. Lo studio dei fattori implicati nell'evoluzione dei meccanismi di trasmissione e mantenimento degli Arbovirus è quindi importante per la previsione del rischio di epidemie ed il conseguente allestimento di idonee misure di prevenzione.

Poiché una variazione climatica degli ultimi anni è costituita dal progressivo aumento della temperatura del nostro pianeta ("effetto serra"), ci proponiamo di esaminare gli effetti della temperatura sui meccanismi molecolari e biochimici coinvolti nella competenza vettoriale nelle specie di artropodi, circolanti in Italia o di recente importazione e sui meccanismi di mantenimento dei virus da essi trasmessi.

Link:

Valutazione del ruolo dell'apoptosi nelle infezioni da virus Toscana in cellule di mammifero e di artropode.

**Responsabile: Loredana Nicoletti**

Patologia d'importazione: la Dengue

**Responsabile: Loredana Nicoletti**

Le infezioni importate hanno assunto in tempi recenti un ruolo sempre più significativo come causa di malattie nell'uomo, in conseguenza della maggiore facilità di trasporto che ha permesso di accorciare notevolmente le distanze tra vari paesi. La diffusione del turismo di massa in zone tropicali, dove sono presenti malattie infettive endemiche, ha portato ad un incremento del numero di casi di malattia causata da microrganismi cosiddetti "esotici",

in particolare ad un aumento delle malattie trasmesse all'uomo dalla puntura di artropodi, in special modo zanzare.

Negli ultimi 30 anni, la febbre di dengue e la dengue emorragica (DHF)/dengue shock syndrome (DSS) descritta per la prima volta nella metà degli anni '50, sono emerse come le più importanti malattie trasmesse dagli artropodi.

Ogni anno numerosi casi di dengue vengono riportati negli USA in persone che hanno viaggiato in zone tropicali ma molti casi rimangono indubbiamente non segnalati. Una incidenza simile probabilmente avviene in Europa. In Italia in questi ultimi anni si è rivelato un costante aumento del numero dei casi segnalati tra i viaggiatori italiani, probabilmente dovuto ad una maggiore diffusione del turismo o anche ad una migliore informazione del personale sanitario.

Numerosi fattori devono essere presi in considerazione per effettuare una corretta diagnosi di infezione da virus Dengue. In primo luogo la concomitante circolazione di altri flavivirus. I test sierologici più semplici e più comunemente usati, infatti, evidenziano anticorpi che reagiscono in maniera crociata, a vari livelli, con altri virus della stessa famiglia, mentre i test sierologici più specifici sono più complessi e di impiego meno ampio. Questo complica la diagnosi in particolar modo in quelle zone dove circolano, insieme ai virus Dengue, altri Flavivirus o per quei soggetti che sono stati vaccinati nei confronti di un altro Flavivirus (Encefalite Giapponese, Febbre gialla, Encefalite trasmessa da zecche).

Il nostro studio si propone di valutare l'incidenza dei casi di malattia di dengue importata e di definire la risposta anticorpale omologa ed eterologa diretta verso le singole proteine virali in soggetti vaccinati contro l'Encefalite Giapponese o contro la Febbre gialla, con o senza sospetta dengue.

#### Publicazioni recenti

Nicoletti L., Ciufolini M.G., Fiorentini C., Marchi A., Magurano F., Vincenti S., Fortuna C. Diagnosi di laboratorio della dengue e delle principali arbovirosi. *GIORNALE DI MEDICINA MILITARE*, fascicolo 6/2000, p. 261-264.

Ciufolini M.G., Fiorentini C., Marchi A., Nicoletti L. Il virus Toscana: caratteristiche epidemiologiche e virologiche. *QUADERNI DI IGIENE PUBBLICA E VETERINARIA*. Malattie infettive emergenti di interesse medico e Veterinario. Atti 2002: 81-86.

Nicoletti L., Ciufolini M.G., Verani P. Febbri emorragiche causate da Arenavirus. *NOTIZIARIO DELL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'*, 15: 15-16, 2002.

Nicoletti L., Ciufolini M.G., Fiorentini C., Marchi A., Magurano F., Vincenti S., Fortuna C. Diagnosi di laboratorio delle infezioni da Flavivirus. *QUADERNI DI IGIENE PUBBLICA E VETERINARIA*. Malattie infettive emergenti di interesse medico e Veterinario. Atti 2002: 81-86.

Peragallo M.S., Nicoletti L., Polidori P., Lista F., Giattino M., Capobianchi M.R., Ciufolini M.G., Marchi A., Fiorentini C., Magurano F., Stella A., Sarnicola G., Calì G., Di Zenzo P., Germani M.A., Fascia G., Biselli R and D'Amelio R. "Dengue in Italian troops during a multinational military deployment to East Timor, 1999-2000" *EMERG INFECT DIS* 9:876-880, 2003