

Progetto di ricerca:

**ALLESTIMENTO DI METODI MOLECOLARI PER LA DIAGNOSI QUALI-  
QUANTITATIVA DELLE DIVERSE SPECIE DI TORQUETENOVIRUS (TTV) E STUDIO  
DEL LORO RUOLO NEL PAZIENTE TRAPIANTATO DI ORGANO SOLIDO**

Proponente:

Prof. Fabrizio Maggi, Dipartimento di Ricerca Translazionale, Università di Pisa e UOC Virologia  
Universitaria, AOUP, Via Paradisa 2, 56100 Pisa. Tel.: 050993756; cell. 3480301436; email:  
[fabrizio.maggi@unipi.it](mailto:fabrizio.maggi@unipi.it)

Gruppo di Ricerca:

- Dr.ssa Lisa Macera, Dipartimento di Ricerca Translazionale, Università di Pisa, Via del Brennero 2, 56127 Pisa. Email: [lisa.macera@unipi.it](mailto:lisa.macera@unipi.it)
- Dr. Pietro Giorgio Spezia, Dipartimento di Ricerca Translazionale, Università di Pisa, Via del Brennero 2, 56127 Pisa. Email: [piergiorgiospezia@gmail.com](mailto:piergiorgiospezia@gmail.com)

**Scopo.** Il progetto ha come scopo lo sviluppo di protocolli molecolari, diagnostici e standardizzati, specifici per ciascuna delle 29 specie genetiche, in cui attualmente è classificato Torquetenovirus (TTV) e l'applicazione di questi protocolli per determinare la presenza e quantificare la viremia di ciascuna specie nel sangue di pazienti trapiantati di fegato. Gli obiettivi sono quelli di 1. comprendere la cinetica di ogni singola specie correlandola con la concentrazione di farmaco immunosoppressore e l'eventuale comparsa di complicanze nel follow-up post-trapianto; 2. dimostrare un ruolo patogenetico delle diverse specie di TTV e il loro impatto nella risposta al trapianto.

**Basi scientifiche.** TTV è il più abbondante componente del viroma dell'uomo, strettamente correlato alla funzionalità del sistema immune dell'ospite infettato. Per queste sue peculiari caratteristiche, la misura della replica del virus è utilizzata nei pazienti trapiantati di organo solido come bio-marcatore predittivo della comparsa di complicanze infettive e/o di rigetto nel medio e lungo periodo. TTV è un virus geneticamente molto complesso, attualmente distinto in 29 specie caratterizzate da un elevato grado di variabilità genomica. Significato e impatto clinico dell'infezione da ogni singola specie nel paziente trapiantato sono al momento completamente sconosciuti. Dimostrata è invece l'esistenza di co-infezioni con multiple specie nel sangue della maggior parte dei soggetti infettati da TTV. TTV è ancora oggi considerato un virus apatogeno, non associato ad alcuna patologia nell'uomo. Non è improbabile tuttavia che le specie di TTV possano avere un diverso significato clinico e che una o più delle 29 specie possa avere un ruolo in qualche malattia e/o una diversa relazione con la funzionalità del sistema immune. Ciò in linea con quanto succede per altri virus (es. papillomavirus) e con alcuni recenti studi che ipotizzano un ruolo della specie 7 nella malattia di Kawasaki e/o una diversa cinetica della viremia delle specie di TTV in alcuni pazienti immunocompromessi.

**Metodi.** lo studio si propone di investigare l'andamento della viremia delle specie di TTV in almeno 50 pazienti (massimo 100) trapiantati di fegato, già arruolati e con prelievi disponibili prima del trapianto e ad intervalli regolari (ogni 2 giorni) nei primi 15 giorni post-trapianto e poi, a partire dal 1° mese, ogni 10 giorni fino al 3° mese di follow-up. La presenza e i livelli di ciascuna specie di TTV saranno determinati utilizzando metodiche di TaqMan real-time PCR disegnata nei nostri laboratori sulla regione codificante (ORF1) del genoma virale. Tale regione risulta infatti altamente variabile fra le specie di TTV e ci consentirà di disegnare protocolli di PCR in grado di amplificare e quantificare con assoluta specificità ogni singola specie di TTV. Il disegno di questi protocolli si avvarrà *in silico* di strumenti informatici atti al confronto di tutte le sequenze di TTV presenti in banca dati e all'elaborazione di specifici primers e probe di amplificazione.

**Risultati attesi e sviluppi applicativi.** I potenziali risultati di questo studio sono molteplici e di assoluto interesse scientifico e applicativo. Lo sviluppo di metodi molecolari specifici per ogni specie di TTV ci consentirà di dotarci di un armamentario diagnostico assolutamente innovativo. Al

momento infatti non esiste alcun metodo che consenta questa valutazione, ne deriva che la standardizzazione di questi metodi e la loro disseminazione all'interno della comunità scientifica contribuirà a dare un notevole impulso alla ricerca in questo ambito. L'applicazione poi di questi protocolli molecolari nel management del paziente trapiantato potrà contribuire da un lato a verificare l'esistenza di una diversa patogenicità fra le specie di TTV e dall'altro a monitorare potenziali nuovi bio-marcatori che indirizzino con maggiore efficacia verso una medicina sempre più personalizzata e di precisione.

#### Riferimenti bibliografici.

1. Nishizawa et al. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 241, 92-97 (1997).
2. De Vlamincq et al. Temporal response of the human virome to immunosuppression and antiviral therapy. *Cell* 155, 1178-1187 (2013).
3. Maggi, et al. Immunobiology of the torque teno viruses and other anelloviruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 331, 65-90 (2009).
4. Fernandez-Ruiz et al. Monitoring of alphatorquevirus DNA levels for the prediction of immunosuppression-related complications after kidney transplantation. *Am. J. Transpl.* (2018).
5. Maggi et al. Early post-transplant torquetenovirus viremia predicts cytomegalovirus reactivations in solid organ transplant recipients. *Sci. Rep.* 8, 15490 (2018)
6. Macera et al. Comparative evaluation of molecular methods for the quantitative measure of torquetenovirus viremia, the new surrogate marker of immune competence. *J. Med. Virol.* 2019 Apr 19. doi: 10.1002/jmv.25488
7. Thissen et al. A novel variant of torque teno virus 7 identified in patients with Kawasaki disease. *PLoS One.* 13, e0209683 (2018).

**Richiesta Finanziamento.** L'importo richiesto è di 20.000 euro comprensivi dei reagenti e/o materiale d'uso (materiale per biologia molecolare, kit di estrazione acidi nucleici, plastiche, ecc...) per la sperimentazione.

Pisa, 20 dicembre 2019

Prof. Fabrizio Maggi

