



Titolo

Monitoraggio molecolare del virus dell'influenza pandemica A(H1N1)v 2009

Continuazione

Responsabile: Alberta Azzi

Il 10 agosto 2010 l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha annunciato la conclusione della fase pandemica e il passaggio al periodo post-pandemico sottolineando tuttavia l'importanza di mantenere una attenta vigilanza da parte delle autorità sanitarie di tutti i paesi.

Nell'emisfero Sud, il virus pandemico H1N1 ha circolato in maniera prevalente rispetto agli altri virus stagionali, mantenendo il comportamento, dal punto di vista clinico, che lo ha contraddistinto nel periodo pandemico, causando più frequentemente casi lievi di influenza e, in minor misura, casi gravi in soggetti con condizioni di base predisponenti, ma talvolta anche in soggetti precedentemente sani. Negli ultimi 3 mesi in Inghilterra si sono verificati 10 casi mortali di influenza da virus H1N1, alcuni dei quali in soggetti senza condizioni di rischio note.

Nel corso di questo periodo post-pandemico la diagnosi di laboratorio di influenza continuerà a rivestire un interesse particolare nei reparti di rianimazione, ma anche per i pazienti oncologici, in pediatria e in ostetricia e ginecologia.

Nella prima parte dello studio sono emersi due aspetti di rilievo:

- E' stata individuata una mutazione nel sito di legame al recettore dell'emoagglutinina del virus H1N1 2009, D222E, che compare con frequenza (ma non esclusivamente) nei ceppi isolati da casi gravi di influenza. Una mutazione più rara, nella stessa posizione (D222G) sembra essere coinvolta nella patogenicità del virus, come suggerito da diversi studi *in vitro* e *in vivo* in animali da esperimento, riportati in letteratura.
- E' stata rilevata con frequenza elevata una mutazione responsabile della resistenza ad Oseltamivir soprattutto in pazienti pediatrici immunodepressi.

Scopo della prosecuzione del progetto è quello:

- monitorare la diffusione della mutazione D222E anche nella prossima stagione epidemica e stabilire se tale mutazione possa contribuire a modificare la patogenicità del virus.
- monitorare la diffusione della resistenza agli antivirali anche nella prossima stagione epidemica e estendere la ricerca anche ad altre mutazioni correlabili al fenomeno.

Fasi della ricerca



Università degli Studi di Firenze
Dipartimento di Sanità Pubblica
Direttore: prof. Nicola Comodo

- nel corso della nuova stagione epidemica verrà svolta la sorveglianza virologica dell'influenza sia attraverso la collaborazione dei medici sentinella che sui pazienti ricoverati (in particolare nei reparti di terapia intensiva, di pneumologia, di ematologia e di ostetricia e ginecologia). I ceppi di virus influenzali individuati saranno analizzati alla ricerca delle mutazioni correlabili a patogenicità e a resistenza agli antivirali.
- Per chiarire il significato della mutazione D222E si procederà all'infezione *in vitro* di linee di cellule dell'apparato respiratorio umano (tra cui le A549) con virus H1N1 2009 con D in posizione 222 dell'EA e con virus che presentino la mutazione D222E. Verrà confrontata la capacità di replicazione dei diversi ceppi virali a vari tempi dopo l'inoculazione, sia tramite RT-PCR real time che tramite il metodo delle placche. Lo stesso confronto verrà eseguito anche infettando cellule MDCK, il comune substrato di isolamento dei virus influenzali. Inoltre, verrà confrontata l'espressione di diverse citochine nelle colture di cellule A549 infettate ai vari tempi con i diversi ceppi virali, essendo noto che alla base della patogenicità dei virus influenzali ci può essere anche una diversa capacità di indurre la produzione di alcune citochine e di inibire l'attività dell'interferon.
- Per quanto riguarda la resistenza verranno raccolti, dai pazienti ricoverati, diversi campioni respiratori in successione, uno all'inizio del trattamento antivirale e uno nei giorni successivi, fino alla fine del trattamento o fino alla completa eliminazione del virus, per individuare la comparsa della mutazione H274Y ma anche di altre mutazioni (anche secondo indicazioni della letteratura) sia a carico della neuraminidasi che dell'emoagglutinina.

Risultati attesi

- Conoscenza del ruolo della mutazione D222E nella patogenicità
- Conoscenza della diffusione della resistenza ad oseltamivir e sue basi molecolari

Queste conoscenze possono contribuire ad indirizzare gli studi per la preparazione di vaccini e per affrontare il problema della terapia antivirale.