



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO di SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea
SCIENZE BIOLOGICHE

La genomica nella caratterizzazione del virus Ebola

Viral genomics in Ebola virus research

Tesi di Laurea di:
Morozencu Andreea

Docente Referente
Prof.ssa **Vignaroli Carla**

Sessione di Laurea: autunnale- Dicembre 2020
Anno Accademico: 2019/20

Viral genomics in Ebola virus research

Di Paola N, Sanchez-Lockhart M, Zeng X, Kuhn JH, Palacios G.

Nat Rev Microbiol. 2020 Jul;18(7):365-378. doi: 10.1038/s41579-020-0354-7.

RIASSUNTO

I Filovirus sono una famiglia appartenente all'ordine dei Mononegavirales, comprende sei generi tra cui: Cuevavirus, Ebola e Marburg. Le infezioni causate da questi virus sono una minaccia crescente per l'umanità. Fino a poco tempo fa, il salto di specie di questi virus era un evento raro, ma tra Dicembre 2013 e Aprile 2020 sono state registrate diverse epidemie nell'Africa occidentale con circa 13.000 morti dovuti a Filovirus. Dal 2013, sfruttando il continuo sviluppo e miglioramento delle tecniche di sequenziamento, sono diventate disponibili le sequenze complete di più di 800 genomi di Filovirus. Tra i virus ad alto rischio, ovvero quelli del gruppo IV, la diversità genomica dei Filovirus sta diventando la più caratterizzata. In questo studio viene dimostrata l'importanza delle nuove tecniche di genomica nell'ampliamento delle conoscenze sul virus Ebola. La genomica e le tecniche di sequenziamento si sono dimostrate fondamentali non solo nella caratterizzazione del patogeno ma sono anche diventate uno strumento utile nel definire le vie di trasmissione del virus e nell'identificazione dei serbatoi naturali, non umani. Inoltre la trascrittomiche virale aiuta a comprendere la risposta dell'ospite all'infezione virale e a riconoscere lo stato di portatore asintomatico. Infine i dati di genomica possono essere utilizzati per predire prima della sperimentazione in vitro e in vivo l'efficacia dei farmaci disponibili e guidare nella scelta delle terapie più appropriate.

Identificazione e distribuzione globale dei Filovirus

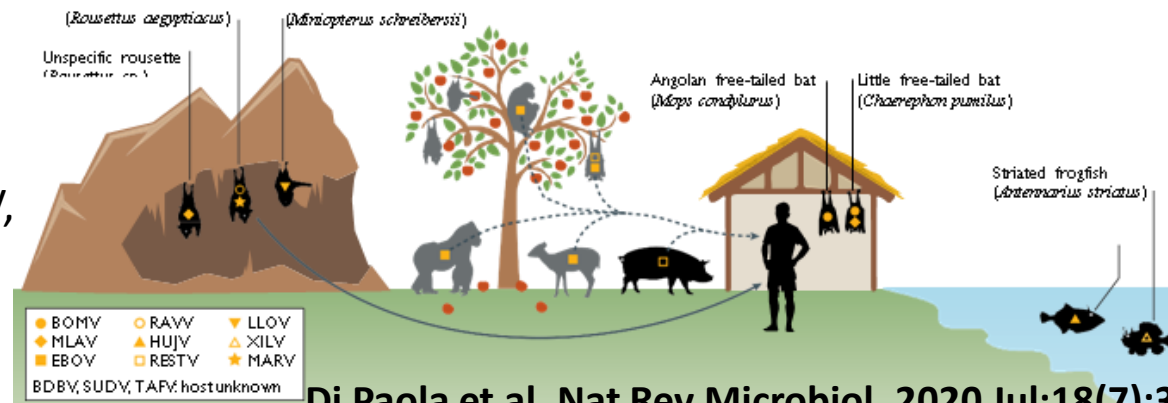
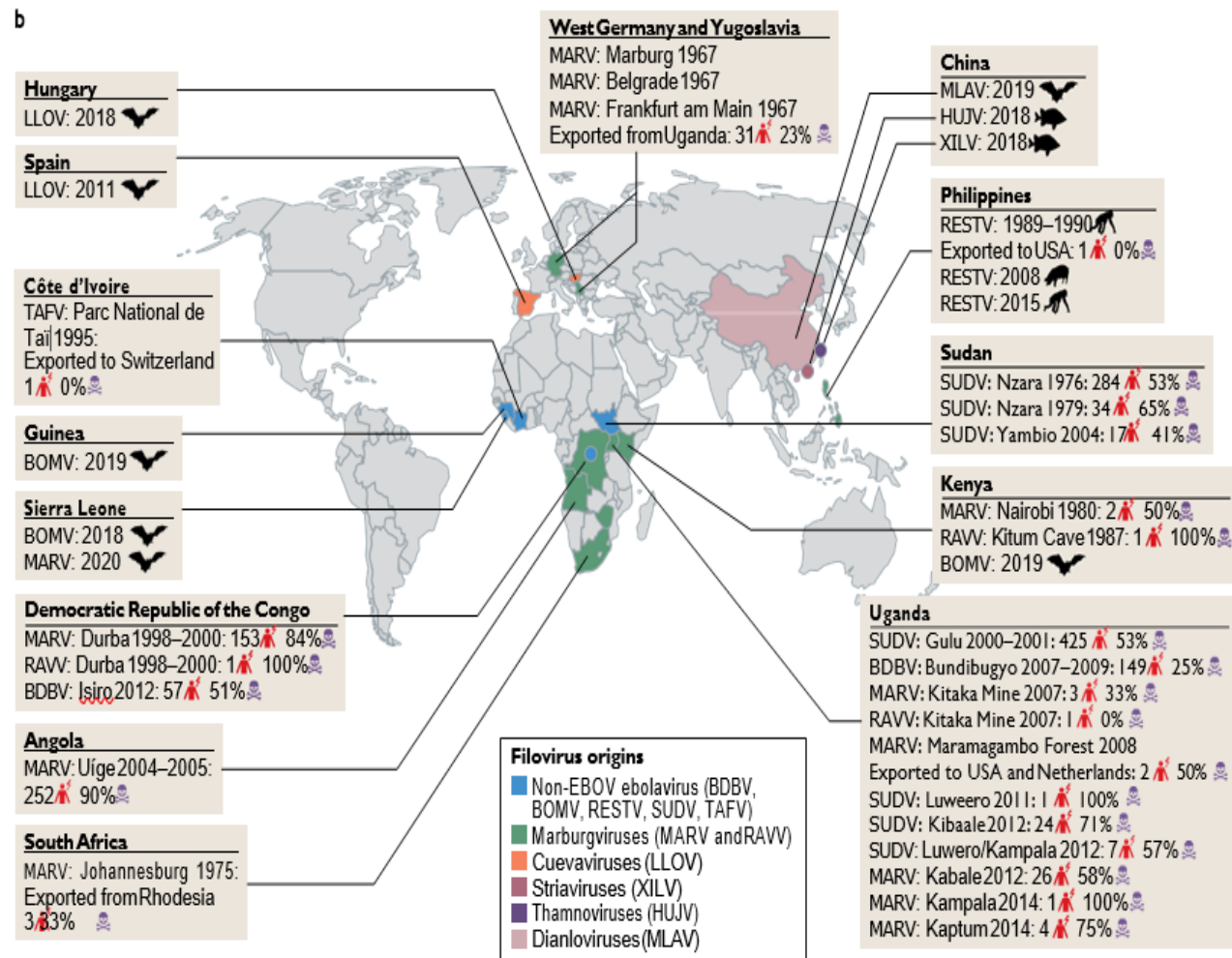
Dai dati di sequenza 12 tipi di Filovirus sono stati identificati di cui 7 sono stati associati ad infezioni umane e appartengono al

genere Ebolavirus (BDBV, **EBOV**, RESTV, SUDV TAFV) oppure al genere Marburgvirus (MARV e RAVV)

Le forme più gravi e letali nell'uomo sono causate da EBOV

Mentre i restanti 5 tipi di Filovirus sono stati identificati in:

- macachi mangiatori di granchi in cattività, in strutture di allevamento nelle Filippine;
- Diverse specie di pipistrelli (LLOV, MLAV);
- in piccoli pipistrelli molossoidi a coda libera (BOMV)
- Specie ittiche di interesse commerciale (HUJV, XILV)



Biosorveglianza

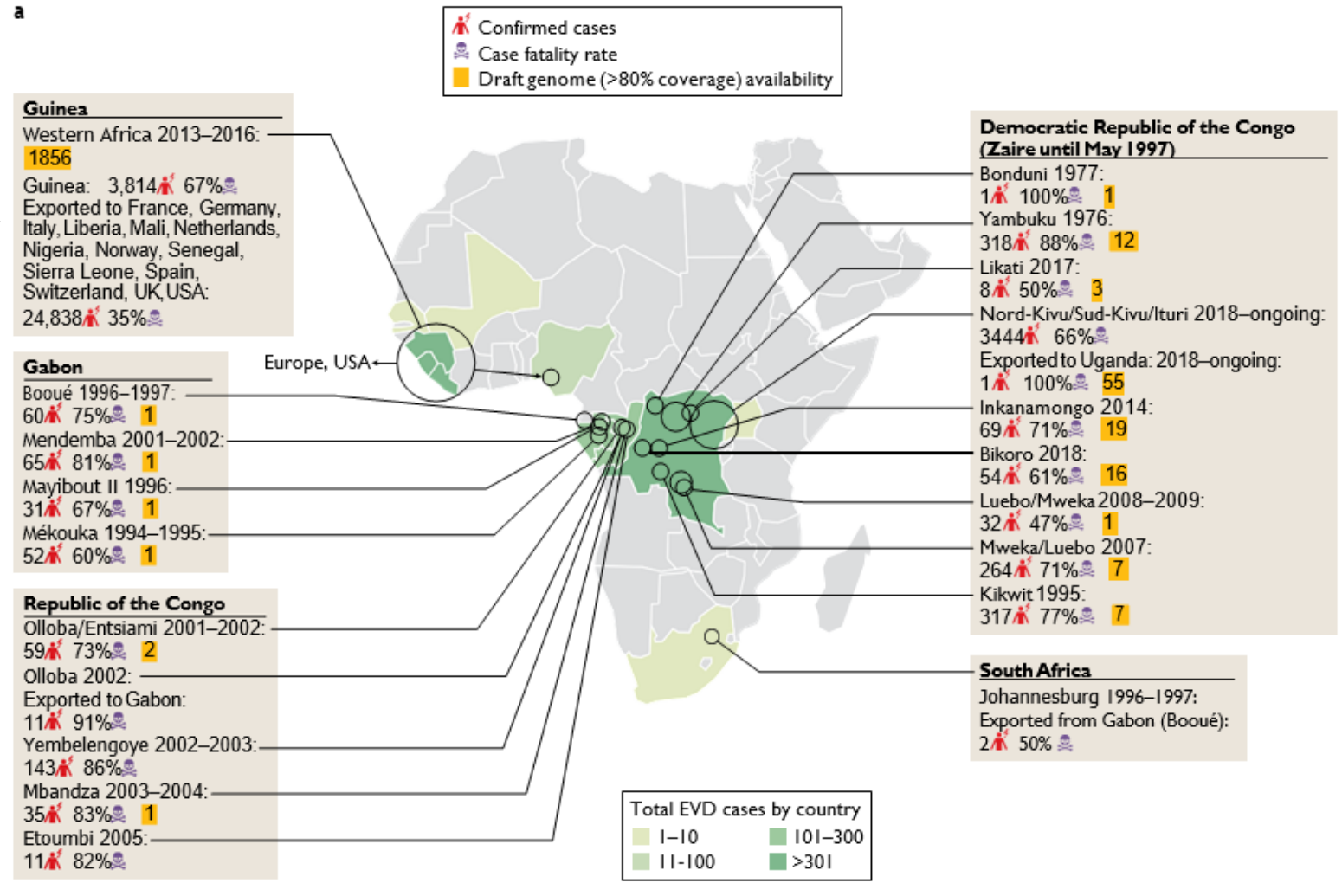
La caratterizzazione di virus inattesi e co-circolanti durante epidemie virali su larga scala richiede delle strategie di sequenziamento affidabili, che possono essere applicate senza sapere quale virus è presente.

La genomica è stata cruciale nell'identificazione e caratterizzazione dei filovirus responsabili delle ultime epidemie:

2013-2016- variante EBOV/Mak

2018 – variante EBOV/Tum e

EBOV/Itu in aree diverse del Congo

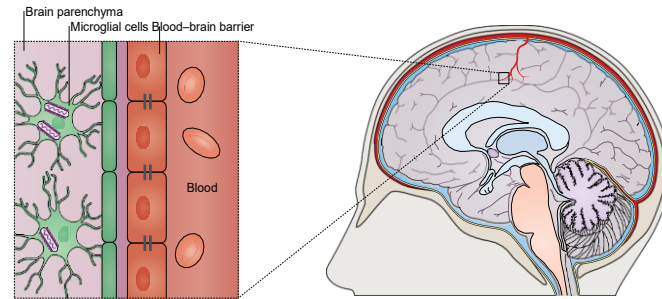


Persistenza del virus

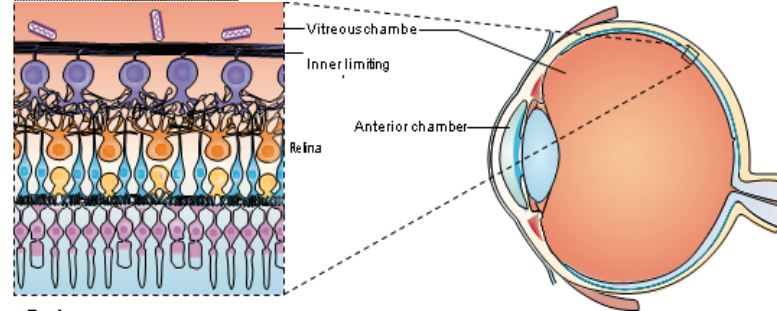
L'EBOV inizialmente infetta i **macrofagi** e le **cellule dendritiche**, provocando necrosi focali e infiammazione che possono portare alla sindrome da disfunzione multiorgano, infine alla morte. Le risposte immunitarie in alcuni casi possono bloccare la replicazione e disseminazione virale. Il virus può persistere in alcuni siti del corpo:

a) Siti corporei NON sottoposti a «immunosorveglianza»

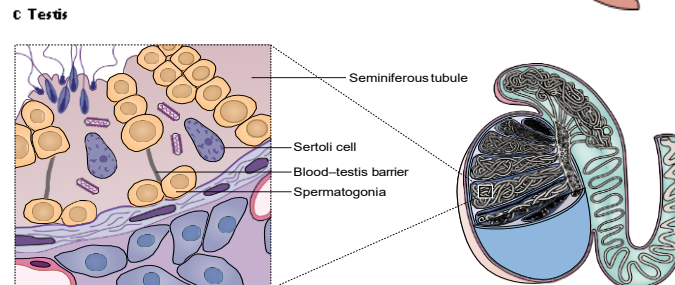
- Cervello



- Occhi



- testicoli



b) Siti corporei sottoposti a «immunosorveglianza»

- Latte materno di donne sopravvissute all'EVD
- sangue e fegato di topi di laboratorio che sono stati infettati sperimentalmente con EBOV

Recentemente è stata segnalata la persistenza in questi siti anche per:

- CCHFV (Crimean–Congo hemorrhagic fever):
- LASV (virus della febbre di Lassa)

La trasmissione del virus

EBOLA THE FACTS

TRANSMISSION

In Africa a particular species of **fruit bat** is considered to be the possible host for Ebola virus

Primary host Fruit bat

Secondary hosts

Gorillas

Chimpanzees

Antelopes

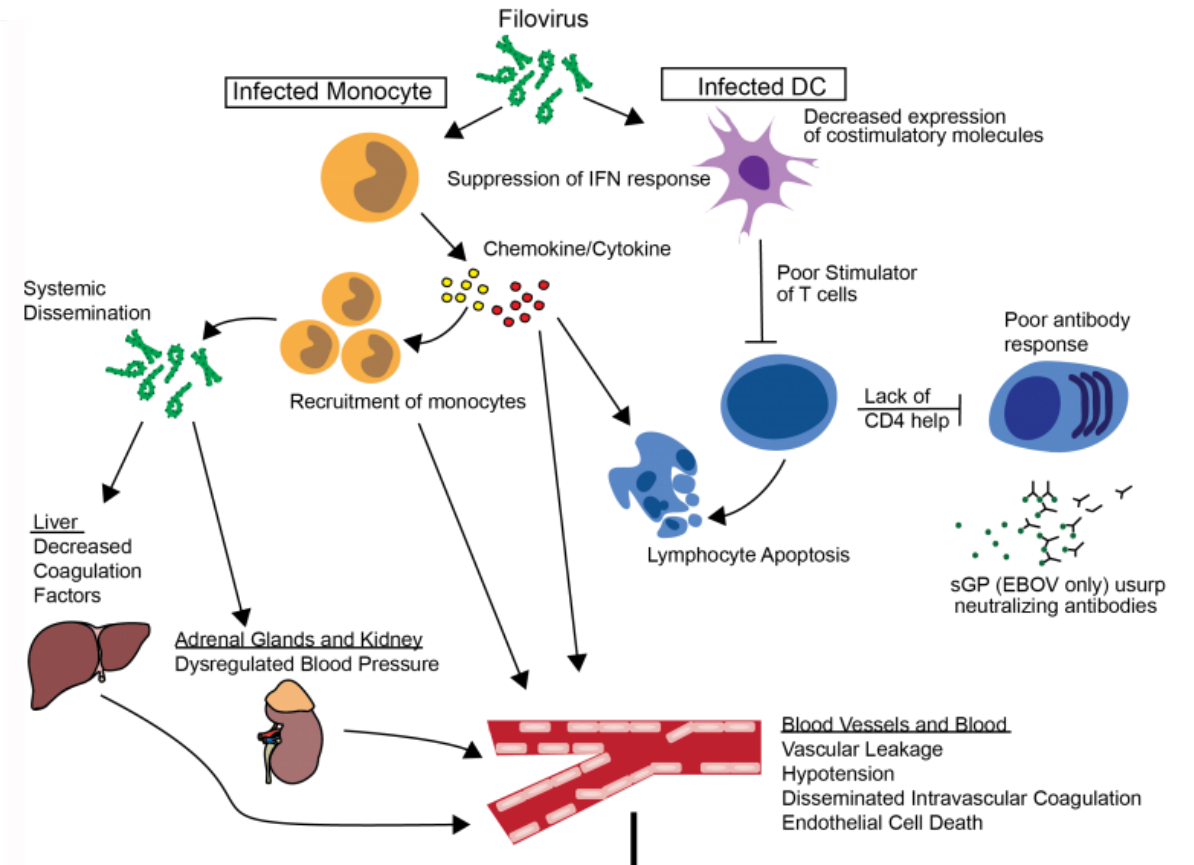
Pigs



1
Humans are infected by close contact with the **blood, secretions, organs or other bodily fluids** of infected animals



2
Ebola then spreads through human-to-human transmission, with infection resulting from direct contact **through broken skin or mucus or other bodily fluids** of infected people



Fonte: <https://www.independent.co.uk/life-style/health-and-families/health-news/ebola-virus-pandemic-should-be-treated-same-way-threat-posed-nuclear-weapons-security-officials-say-9771219.html>

Fonte: <https://faculty.sites.uci.edu/messaoudilab/filovirus/>

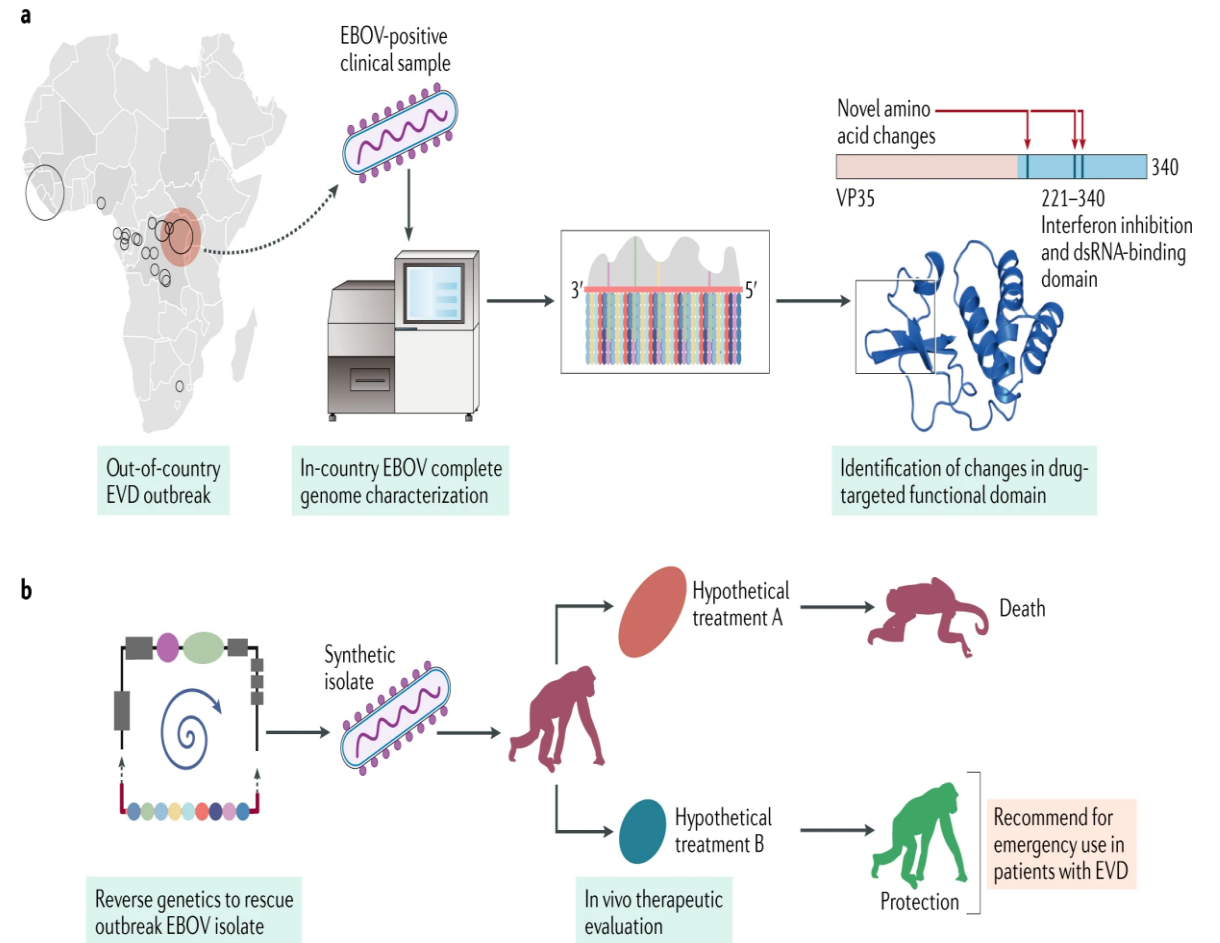
La genomica funzionale e la genetica inversa nella caratterizzazione di un patogeno

La caratterizzazione genomica di un patogeno che causa epidemie può essere facilitata dalla genomica funzionale inversa.

Questo tipo di genomica si basa su:

- Individuare nel ceppo epidemico eventuali mutazioni
- la clonazione della sequenza mutata in un isolato di riferimento;
- utilizzare «l'isolato sintetico» nella sperimentazione in vitro e in vivo

I filovirus «sintetici» possono essere utilizzati per studiare l'adattamento dell'ospite, nonché per rilevare l'efficacia delle terapie



La genomica in prevenzione e terapia

Sono stati sviluppati diversi MCM contro l'infezione da EBOV, compresi anticorpi monoclonali (mAb).

La dinamica della popolazione e l'evoluzione dell'EBOV sono influenzate da:

- mutazioni nell'RNA
- dai tassi di ricombinazione dell'RNA
- effetto «collo di bottiglia» che seleziona una sottopopolazione virale
- dalla selezione naturale e dalla fitness
- dallo spettro di ospiti e dalla modalità di trasmissione

La genomica aiuta a individuare genotipi mutanti che emergono durante l'epidemia e ad intervenire con terapie mirate per prevenire il fallimento terapeutico

I regimi di vaccinazione contro EBOV non sono stati completamente determinati.

Il primo vaccino EBOV ad essere approvato dalla FDA e successivamente dall'OMS a Novembre 2019 è un vaccino ricombinante del virus della stomatite vescicolare (rVSV) che esprime la glicoproteina GP_{1,2} del virus Ebola. Il nome commerciale del vaccino è Ervebo

L'immunoterapia è stata utilizzata con successo anche come terapia per l'EVD, in particolare durante l'epidemia in corso nella Repubblica Democratica del Congo. Lo studio (PALM) ha recentemente valutato quattro terapie sperimentali nel trattamento dell'EVD:

1. Zmapp;
2. remdesivir;
3. mAb114;
4. REGN-EB3.

La mappatura dei determinanti antigenici di EBOV GP ha permesso l'identificazione di diversi residui amminoacidici che sono cruciali per il legame degli anticorpi alla GP.

La genomica può ancora una volta essere utile per identificare mutazioni che potrebbero essere cruciali nell'immunoterapia

