



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di laurea in Scienze Biologiche

**LA CONTINUA MINACCIA DELL'EMERGENZA DI
NUOVI FLAVIVIRUS.**

THE CONTINUED THREAT OF EMERGING FLAVIVIRUSES.

Laureanda:

Giuseppina Barrasso

Matricola:

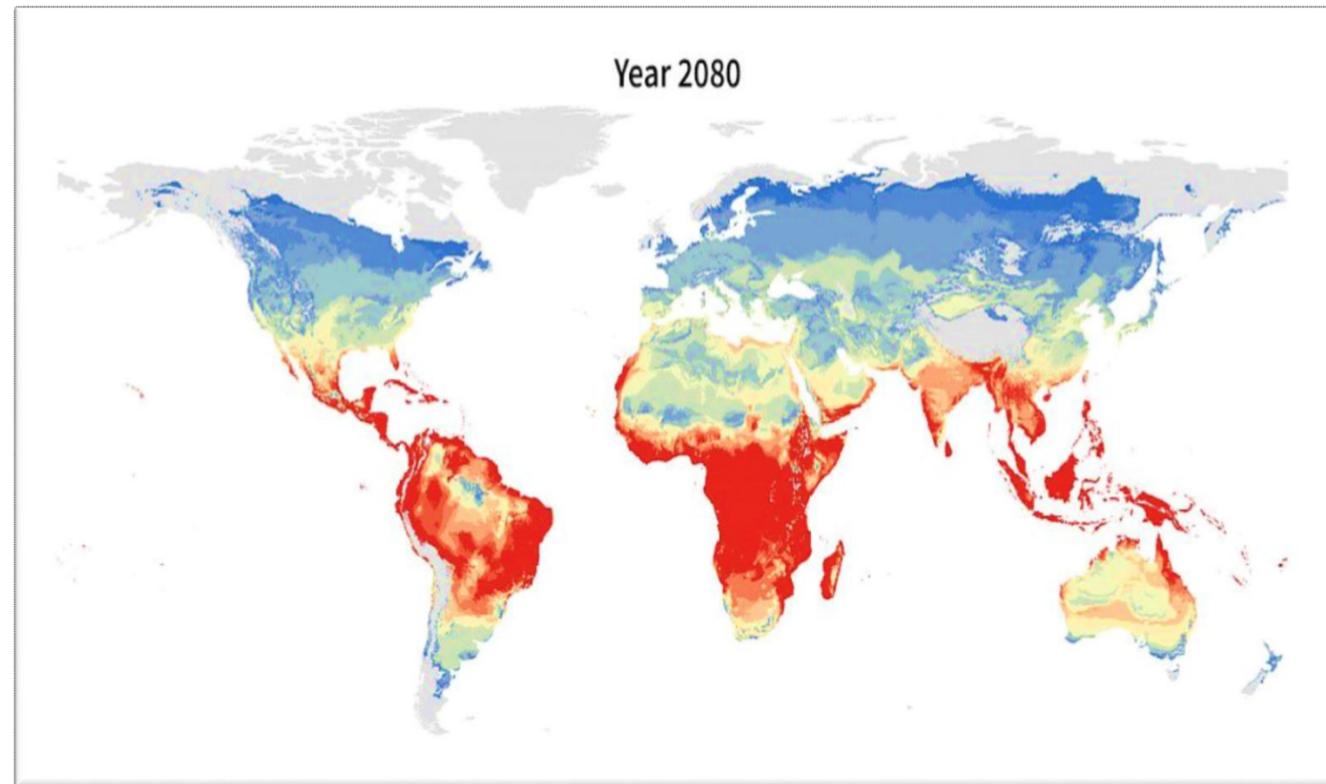
1083647

Docente referente:

Chiar.ma Francesca Biavasco

ANNO ACCADEMICO 2020/2021

FLAVIVIRUS



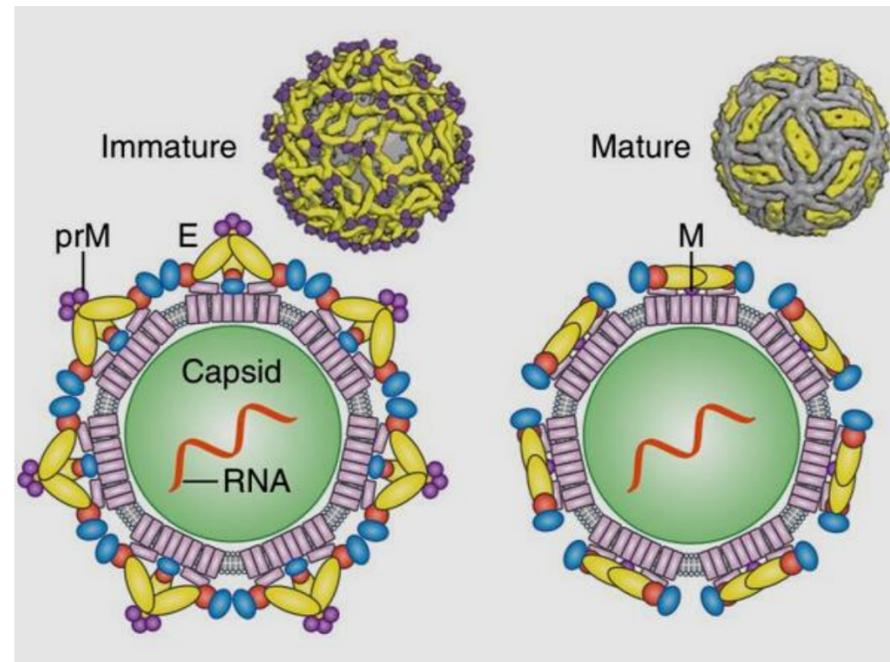
DIFFUSIONE GLOBALE DEI FLAVIVIRUS PREVISTA NEL 2080.

COSA SONO I FLAVIVIRUS?

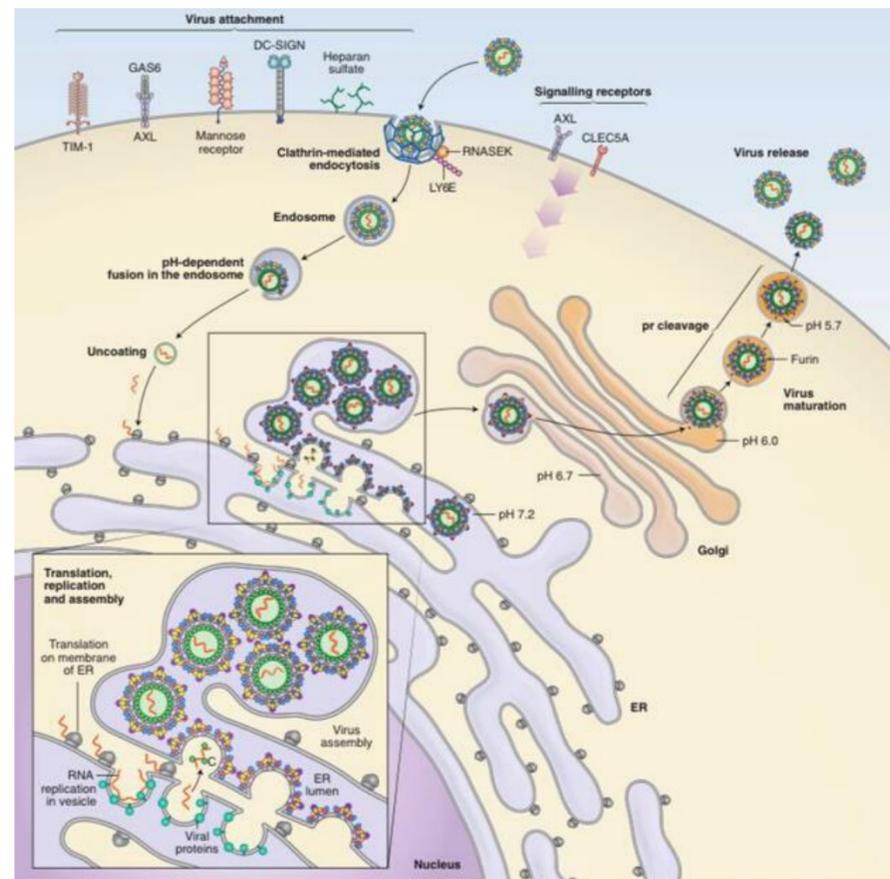
- VIRUS AD RNA;
- FAMIGLIA FLAVIVIRIDAE;
- VEICOLATI DA ARTROPODI;
- CAUSANO GRAVI MALATTIE NEGLI ESSERI UMANI;
- NOTEVOLE AUMENTO DELLA DIFFUSIONE NEGLI ULTIMI 7 DECENNI;
- DISTRIBUZIONE A LIVELLO GLOBALE;
- 400 MILIONI DI CONTAGI ANNUALMENTE.

FLAVIVIRUS

COME SONO FORMATI I FLAVIVIRUS?



STRUTTURA DEL VIRIONE.



REPLICAZIONE FAVIVIRUS

- VIRUS A (+)ssRNA;
- DOTATI DI CAPSIDE E PERICAPSIDE;
- VIRIONI DI FORMA SFERICA;
- GENOMA LUNGO 10-12 kb;
- IL GENOMA CODIFICA PER 3 PROTEINE STRUTTURALI (E,M,C) E 7 NON STRUTTURALI.
- L'ASSEMBLAGGIO AVVIENE NEL RE;
- LA MATURAZIONE AVVIENE NELL'APPARATO DI GOLGI;
- REPLICAZIONE AVVIENE MEDIANTE INTERMEDIO AD RNA CON POLARITA' NEGATIVA;

MALATTIE CAUSATE DA FLAVIVIRUS:

La presentazione clinica dell'infezione acuta da flavivirus nell'uomo varia dalla malattia lieve (infezione asintomatica o autolimitante episodi febbrili) a malattie gravi e pericolose per la vita (febbre emorragica, sindrome da shock, encefalite, paralisi, epatite e insufficienza epatica).

- **MALATTIA VISCERALE:**

Causata dal Virus Dengue (DENV), dal Virus della Febbre Gialla (YFV) e dallo Zika Virus (ZIKV). Si ritiene che nell'infezione da DENV le cellule mieloidi nel sangue e nei tessuti inducano una risposta immunitaria a cascata con conseguente fuoriuscita vascolare, trombocitopenia, sanguinamento anormale, emocoagulazione e ipotensione.

YFV si replica ad alti livelli nelle cellule del fegato, e questo si traduce in una grave epatite, emorragia, shock e morte.

ZIKV infetta l'epitelio e le cellule mieloidi, causa lesioni al tratto riproduttivo maschile e femminile e all'occhio.

ZIKV persiste nel liquido seminale umano per mesi e può causare oligospermia, livelli più bassi di ormoni sessuali e compromissione della fertilità. Essendo presente nel liquido seminale, la malattia potrebbe trasmettersi anche mediante rapporti sessuali.

- **MALATTIA NEUROTROPA:**

Il Virus del Nilo Occidentale (WNV), il Virus dell'Encefalite Giapponese (JEV), il Powassan Virus (POWV) e lo Zika Virus (ZIKV) sono virus neurotropi che possono causare encefalite, compromissione cognitiva, disturbi convulsivi e paralisi. Questi virus causano lesione e morte neuronale, attivazione della microglia e infiltrazione di macrofagi e accumulo di cellule T CD4+ e CD8+. Queste lesioni possono verificarsi a livello del tronco cerebrale, corteccia cerebrale, ippocampo, talamo, cervelletto o midollo spinale.

- **MALATTIA CONGENITA:**

ZIKV lo è anche teratogeno, in parte perché infetta e causa lesioni alla placenta in via di sviluppo.

RISPOSTA IMMUNITARIA ALL'INFEZIONE DA FLAVIVIRUS:

- **IMMUNITA' INNATA:**

L'ospite rileva e risponde all'infezione da Flavivirus riconoscendo l'RNA virale attraverso una serie di recettori, i Pathogen Recognition Receptors (PRRs). Il legame dell'RNA provoca la conseguente attivazione di molecole effettrici di risposta.

- **IMMUNITA' DELLE CELLULE B:**

Gli anticorpi contro i flavivirus riconoscono prevalentemente epitopi sulla proteina E del virione, ma possono anche legarsi a regioni della superficie cellulare e alle forme secrete dalla proteina non strutturale NS1.

- **IMMUNITA' DELLE CELLULE T:**

LE CELLULE T CD4+:

Nel topo risultavano in grado di controllare l'infezione primaria da WNV, YFV, ZIKV e JEV e la malattia, non erano invece necessarie per controllare l'infezione primaria da DENV. Possono agire come cellule helper stimolando la risposta anticorpale e quella dei linfociti T CD8+.

LE CELLULE T CD8+:

Sono linfociti citotossici, che rendono possibile l'eliminazione del virus tramite la produzione di citochine antivirali e la distruzione delle cellule infette.

DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

MALATTIE

VIRUS DENGUE (DENV)

Negli ultimi 70 anni la Febbre Dengue è diventata una delle malattie virali trasmessa dagli artropodi più diffusa al mondo. I quattro sierotipi di DENV possono causare malattie cliniche umane che vanno da una malattia febbrile autolimitante ad una sindrome pericolosa per la vita, definita "dengue grave". La dengue grave si verifica abitualmente in più di 100 paesi ovunque sia presente il vettore primario, cioè la zanzara *Aedes Aegypti*.

- Fragilità capillare con trombocitopenia e danno epatico,
- Manifestazioni emorragiche,
- La perdita di liquidi nei tessuti e la conseguente ipotensione possono portare alla morte.

- Sud America,
- America centrale,
- Nord America,
- Asia,
- Australia,
- Africa.

VIRUS DEL NILO OCCIDENTALE (WNV)

Il WNV, circola in natura tra le zanzare *Culex* e gli uccelli, ma infetta e causa malattie anche negli esseri umani, nei cavalli e in altri mammiferi. Negli Stati Uniti, tra il 1999 e il 2019 sono stati confermati 51.747 casi, con 2.381 decessi. Inoltre, il WNV è presente in alcune aree dell'Europa orientale causando gravi malattie neurologiche e decessi.

- 48% paralisi flaccida acuta,
- Meningite,
- Encefalite,
- Mortalità.

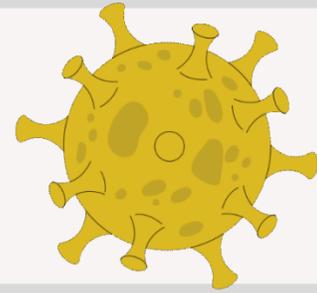
- Nord America,
- Medio Oriente,
- Africa,
- Europa,
- Australia.

VIRUS DELL'ENCEFALITE GIAPPONESE (JEV)

La JEV causa gravi malattie neurologiche. Il ciclo enzootico di JEV è tra uccelli acquatici e zanzare *Culex*, con i maiali possono fungere da ospiti amplificatori. Gli esseri umani sono considerati ospiti occasionali e generalmente non hanno nel sangue una concentrazione di virus tale da infettare le zanzare. Nonostante l'introduzione di vaccini, l'JEV rimane un'importante causa mondiale di encefalite virale.

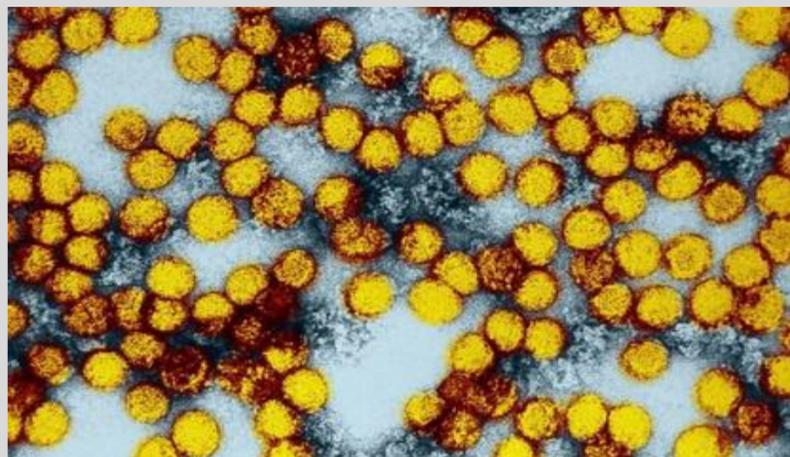
- Generalmente infezione asintomatica,
- Meningite,
- Encefalite,
- Paralisi flaccida,
- Conseguenze neurologiche devastanti a lungo termine.

- Asia,
- Australia.

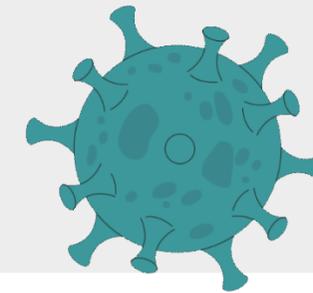


VIRUS DELLA FEBBRE GIALLA (YFV)

- MALATTIA ACUTA DI ORIGINE VIRALE;
- SI E' ORIGINATA IN AFRICA E SI E' DIFFUSA IN AMERICA IN SEGUITO A DEPORTAZIONE DEGLI SCHIAVI AFRICANI;
- TRASMESSA ATTRAVERSO PUNTURA DI ZANZARE INFETTE;
- VETTORI PRINCIPALI SONO LE ZANZARE A. AEGYPTI;
- LA MAGGIOR PARTE DEI CASI SI HA INFEZIONE ASINTOMATICA;
- CAUSA INSUFFICIENZA EPATICA CON CONSUEGENTE IPERBILIRUBINEMIA, RESPONDABILE DELL'ITTERO;
- TEMPO DI INCUBAZIONE 3-6 GG;
- 130.000 CONTAGI ALL'ANNO IN AFRICA CON 78.000 DECESSI;
- YFV E' ENDEMICA IN MOLTE REGIONI DEL MONDO



YFV.



ZIKA VIRUS (ZIKV)

- FINO AL 2007 ERA UN VIRUS SCONOSCIUTO;
- INIZIALMENTE CAUSAVA MALATTIE FEBBRILI IN PICCOLE POPOLAZIONI DELL'AFRICA E IN ASIA;
- SUCCESSIVA DIFFUSIONE IN BRASILE ED IN ALCUNE PARTI DELL'AMERICA;
- IL VETTORE E' RAPPRESENTATO DALLE ZANZARE DEL GENERE AEDES;
- IL VIRUS PORTA A MALATTIE FETALI CONGENITE;
- FATTORI CHE HANNO PORTATO ALLA DIFFUSIONE SONO STATI:
 - cambiamenti nell'uso del suolo,
 - aumento della popolazione,
 - cambiamenti climatici,
 - cambiamenti nella sequenza del genoma di ZIKV.



Zanzara A. Aegypti .

VIRUS SPONDWENI (SPOV):

Sebbene la maggior parte delle infezioni da SPOV sintomatiche si traduca in una malattia lieve, potrebbe progredire verso una malattia più grave con fragilità vascolare e shock o coinvolgimento neurologico. SPOV è stato isolato da zanzare dei generi *Aedes*, *Culex*, *Eretmapodites* e *Mansonia*, sulla base di questa biologia vettoriale, il potenziale di cicli epidemici urbani di SPOV è stato considerato basso, tuttavia il virus potrebbe adattarsi alle specie di zanzare che si nutrono di sangue umano e quindi diventare una minaccia.

VIRUS USUTU (USUV):

USUV condivide gli stessi vettori di zanzare (ad esempio *Culex*) con WNV e popolazioni di uccelli simili come ospiti amplificatori.

È apparso per la prima volta in Italia nel 1996. La malattia neuroinvasiva nell'uomo causata da USUV sembra meno comune di WNV, sebbene esistano segnalazioni di meningoencefalite, meningite e paralisi. Essendo correlati i due virus la distinzione serologica è difficile e quindi potrebbe essere stata sottovalutata la sintomatologia di USUV.

VIRUS ILHEUS (ILHV):

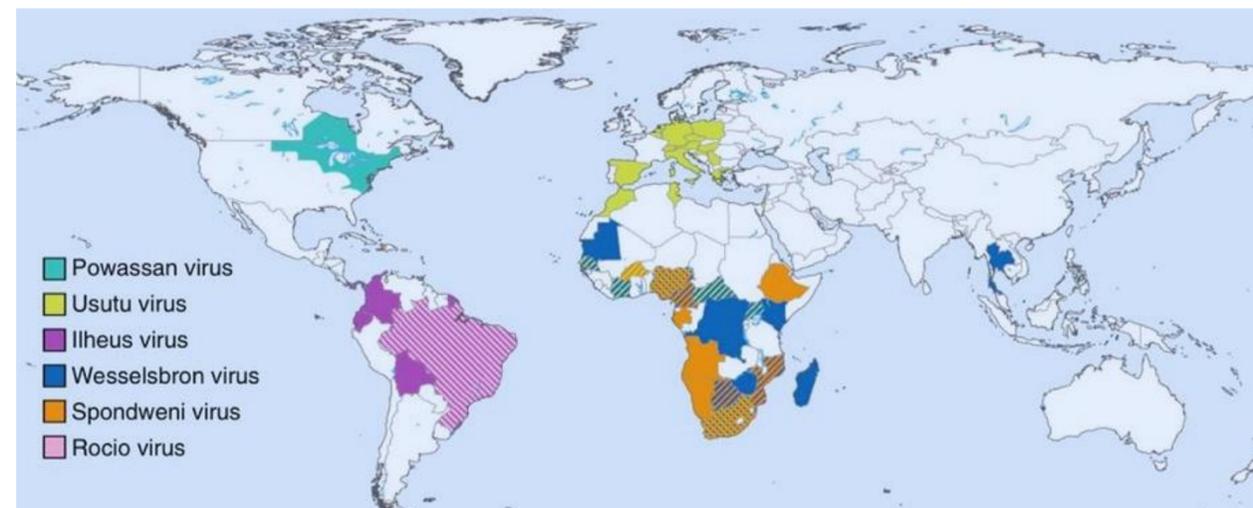
ILHV circola in natura tra uccelli e zanzare, è stato isolato anche dalle scimmie e dall'uomo, dove sporadicamente può causare sindrome febbrile e può progredire in encefalite. Poiché questo virus può propagarsi in alcune zanzare che si nutrono di sangue umano esiste il potenziale per un'emergenza zoonotica più estesa nella popolazione umana.

VIRUS ROCIO (ROCV):

ROCV è stato isolato la prima volta nel 1975 dal cervello di un individuo affetto a San Paolo in Brasile, durante un'epidemia di encefalite. Durante l'epidemia, c'è stato un tasso di mortalità del 13% ed il 20% dei sopravvissuti che hanno sviluppato sequele neurologiche. Studi di laboratorio hanno dimostrato sia trasmesso da zanzare.

VIRUS WESSELSBRON (WSLV):

WSLV è trasmesso dalle zanzare e causa malattie negli ovini e in altri ruminanti in Africa con ricadute nelle popolazioni umane. Negli esseri umani, l'infezione da WSLV può causare un'improvvisa insorgenza di una malattia simil-influenzale caratterizzata da febbre, mal di testa, mialgia e artralgia.



FLAVIVIRUS TRASMESSI DA ZECCHE:

VIRUS POWASSAN (POWV):

POWV è l'unico flavivirus trasmesso dalle zecche noto che circola nel Nord America. Due linee genetiche di POWV circolano in Nord America, la linea I e la linea II, che condividono il 96% di identità amminoacidica. I ceppi della linea I POWV sono trasmessi dalle zecche Ixodes Cookei, mentre i ceppi della linea II dalle zecche dei cervi Ixodes Scapularis. Negli esseri umani, le infezioni da POWV possono causare gravi malattie neuroinvasive, comprese meningite ed encefalite, con un tasso di mortalità stimato del 10-30% e con molti sopravvissuti che soffrono di sequele.

I Flavivirus trasmessi da zecche sono comuni soprattutto in Asia e in Europa Centro-Meridionale.



IXODES SCAPULARIS.

VACCINI CONTRO I FLAVIVIRUS

Esistono vaccini autorizzati per cinque flavivirus (YFV, DENV, JEV, KFDV e TBEV). Lo sviluppo di vaccini per il virus Dengue è impegnativo a causa della necessità di indurre una protezione simultanea contro quattro ceppi DENV antigenicamente distinti, cioè portatori di antigeni diversi e riconosciuti come tali anche dal nostro sistema immunitario.

Ad oggi esistono diversi i vaccini che sono in fase di sviluppo preclinico e clinico: vaccini a virus vivi attenuati, vaccini a virus vivi chimerici, formulazioni di virus inattivati, vaccini con virus ricombinanti, e vaccini a subunità. In vivo, cioè in modelli animali, il vaccino tetravalente per il virus Dengue dimostra una ridotta efficacia purtroppo, poiché è assai difficile indurre l'immunità protettiva in maniera efficace ed equilibrata per tutti i 4 sierotipi contemporaneamente. Basandosi sulla biologia molecolare è stato creato un vaccino costituito da nanoparticelle di diverse dimensioni e forme contenenti le quattro varianti di antigeni presenti nel virus. Inoltre si è riusciti a dimostrare che queste nanoparticelle sono in grado di indurre un'alta risposta immunitaria, con un notevole incremento delle immunoglobuline G.

- **DENVAXIA** è il primo vaccino anti-DENV autorizzato nel 2016, inizialmente limitato ad individui di età superiore ai 9 anni. Nel 2019 la FDA degli USA ha approvato questo vaccino solo per l'uso in individui di età compresa tra i 9 e i 16 anni che abbiano avuto una precedente infezione da Dengue confermata in laboratorio e vivono in aree endemiche. Il vaccino è somministrato in 3 dosi, a distanza di 6 mesi l'una dall'altra. Dengvaxia contiene virus attenuati.



UTILIZZO DI FARMACI:

Lo sviluppo di terapie antivirali permetterà nuovi approcci per la gestione delle epidemie di Flavivirus. I grandi sforzi per la scoperta di farmaci si sono concentrati sulle proteine NS5 e NS3 che codificano l'attività enzimatica necessaria per la replicazione del genoma virale.

Sono stati individuati degli inibitori nucleosidici e allosterici dell'attività di RNA polimerasi RNA-dipendente codificata da NS5.

Le proteine strutturali del virione possono anche essere bersaglio di altri composti antivirali. Anche la proteina del capsido e la proteina E sono state utilizzate per la scoperta di farmaci.

PRENDERE DI MIRA IL VETTORE:

Sono stati fatti progressi nel ridurre la trasmissione dei flavivirus limitando l'infezione della zanzara ospite. L'infezione di zanzare *A. aegypti* con ceppi selezionati di *Wolbachia* endosimbiotico ha portato all'invasione batterica delle popolazioni di zanzare e all'interferenza con la replicazione di DENV e ZIKV. Sembrerebbe che la presenza di *Wolbachia* riduca la replicazione dei Flavivirus e causi una rapida degradazione dell'RNA.

Dunque la presenza di ceppi di *A. aegypti* infettati da *Wolbachia* nelle aree endemiche potrebbe abolire o ridurre la trasmissione dei Flavivirus.

Sono state inoltre messe a punto zanzare *A. Aegypti* geneticamente modificate che sono resistenti all'infezione da DENV .



I Flavivirus possono emergere inaspettatamente nelle popolazioni e causare uno spettro di malattie anche piuttosto gravi in un lasso di tempo ridotto. I Flavivirus sono veicolati da artropodi. L'ampia diffusione globale negli ultimi 7 decenni è stata notevole: DENV infetta una stima 400 milioni di esseri umani ogni anno; più di un quarto della popolazione mondiale vive in aree in cui il DENV è ora endemico. In confronto, in precedenza erano state documentate solo sporadiche epidemie di DENV prima della seconda guerra mondiale. Le introduzioni del West Nile virus e il virus Zika nell'Emisfero Occidentale sono stati seguiti da una rapida diffusione geografica ed un gran numero di infezioni umane. Altri Flavivirici stanno cominciando ad emergere e rappresentano una vera e propria minaccia per la salute pubblica.

I Flavivirus appartengono alla famiglia Flaviviridae. Sono composti da pericapside, capside ed una sola molecola di RNA a polarità positiva. Il virus entra nella cellula ospite con un meccanismo di endocitosi e poi si replica nel reticolo endoplasmatico, dove viene prodotta una forma immatura di virione che poi maturerà nel Golgi e poi viene rilasciato per esocitosi.

I Flavivirus possono causare malattia lieve o essere responsabili di malattie viscerali accompagnate da emorragia, trombocitopenia, ipotensione, ma anche lesioni al tratto riproduttivo maschile e femminile, oppure possono causare malattie neurotropiche con encefalite, compromissione cognitive ed anche malattie congenite infettando donne incinta, ad esempio il ZIKV è teratogeno, in quanto causa lesioni alla placenta in via di sviluppo.

Date le attuali e problematiche minacce di infezioni da Flavivirus, è molto urgente lo sviluppo e la diffusione di misure per limitare la diffusione di epidemie e malattie negli esseri umani. Esistono vaccini autorizzati ed altri sono in via di sperimentazione clinica e preclinica. Inoltre cure terapeutiche con uso di farmaci specifici sono in via di sperimentazione. Sono stati fatti progressi per ridurre la trasmissione dei Flavivirus limitando l'infezione della zanzara ospite, ovvero del vettore, infatti l'infezione della zanzara Aedes con ceppi selezionati di Wolbachia ha portato ad una minore replicazione dei Flavivirus e causa anche la degenerazione dell'RNA virale.

In conclusione i recenti focolai di Flavivirus poco noti fino ad oggi, evidenziano il loro potenziale di trasmissione e ci mettono di fronte ad uno stato di emergenza. Non è possibile prevedere quale Flavivirus causerà improvvisamente diffusione e malattia su larga scala. Sono necessari sforzi di ricerca sostenuti così da ottenere un programma che ci permetta di rispondere adeguatamente ad un'epidemia. L'esigenza di rispondere rapidamente a un'esplosione ZIKV nelle Americhe ha identificato aspetti della biologia del flavivirus che potrebbero essere particolarmente importanti per i futuri sforzi di prevenzione. Sebbene costosi da stabilire e mantenere, i programmi di sorveglianza per identificare i cambiamenti nella distribuzione dei patogeni che forniscono segnali precoci ai funzionari della sanità pubblica sono di particolare importanza.

FONTE: Nature Microbiology,
The continued threat of emerging flaviviruses. Theodore C. Pierson and Michael S. Diamond.
<https://doi.org/10.1038/s41564-020-0714-0>