

## AGGIORNAMENTI

Parole chiave:

Arbovirosi, Flavivirus, Alfavirus

## Info Autori :

<sup>1</sup> già professore associato in chimica clinica e biologia molecolare clinica Sapienza Università di Roma<sup>2</sup> già assistente ordinario e docente scuola di specializzazione e master Sapienza Università di RomaMario Pezzella <sup>1</sup>, Rossella Castrica <sup>2</sup>

## ARBOVIRUS: MINACCIA VECCHIA E NUOVA

Il termine arbovirus comprende diverse famiglie di virus, responsabili di malattie chiamate arbovirosi la cui gravità varia dall'assenza di sintomi a lievi sintomi influenzali fino a sintomi molto gravi.

La contromisura più efficace da adottare è quella di evitare i morsi/punture di insetti per prevenire le infezioni trasmesse da vettori artropodi come zanzare, zecche e flebotomi (pappataci) molto diffusi nell'area mediterranea. Al momento attuale si contano oltre 100 virus classificati come arbovirus, in grado di causare malattia nell'uomo. La maggior parte di questi appartengono a famiglie e generi tra i quali i *Togaviridae* (Alphavirus), i *Flaviridae* (Flavivirus), i *Bunyaviridae* (Bunyavirus e Phlebovirus) e i *Reoviridae*.

Questi virus hanno in comune un genoma a RNA con simmetria icosaedrica che permette loro di adattarsi rapidamente alla continua evoluzione delle condizioni ambientali e dell'ospite, pertanto, sono in gran parte responsabili della loro crescita come il virus del Nilo occidentale che si mantiene in un ciclo enzootico tra zanzare *Culex pipiens* e specie di uccelli passeriformi (ghiandaie e fringuelli), il virus della dengue e il virus della chikungunya, questi ultimi particolarmente studiati dal punto di vista epidemiologico, clinico e terapeutico.

Le infezioni emergenti da arbovirus sono causa importante di malattie neurologiche in tutto il mondo.

Sebbene non sia ancora disponibile una specifica terapia approvata dalla Food and Drug Administration (FDA), il riconoscimento e la diagnosi tempestiva possono comunque assicurare un'adeguata assistenza di supporto <sup>(1)</sup>.

I metodi di classificazione degli arbovirus a livello di specie si attengono alle linee guida prescritte dal Comitato Internazionale per la Tassonomia dei Virus.

In Italia, gli arbovirus possono essere causa di infezioni sia importate sia autoctone e possono causare diverse malattie. Le arbovirosi devono quindi essere considerate nella diagnosi differenziale in caso di storia di viaggio all'estero o in presenza di conosciuta diffusione sul territorio nazionale.

Esiste un rischio considerevole di trasmissione trasfusionale di arbovirus a causa di periodi di viremia asintomatica ad alto titolo stimato, dal momento della infezione, per un periodo medio di 6 giorni.

Oltre al virus del Nilo occidentale dichiarato endemico dopo l'epidemia del 2008 che ha colpito una settantina di cavalli e sei umani non essendo disponibile un vaccino per prevenire l'infezione umana ma solo per gli equini, sono state dimostrate poche trasmissioni trasfusionali di arbovirus, soprattutto a causa delle difficoltà nell'individuare la trasmissione per via vettoriale nei riceventi.

La sicurezza trasfusionale è basata sulla qualità del materiale di partenza e sui risultati convalidati relativi alla inattivazione ed al controllo dei virus modello poiché esiste il rischio potenziale per tutti quei virus nuovi o emergenti come gli arbovirus che presentano fasi di viremia durante il loro ciclo patogenetico.

Questa osservazione è in linea con quanto raccomandato dal gruppo di esperti di medicina e sanità pubblica, istituito per elaborare raccomandazioni su come utilizzare i vaccini per controllare le malattie negli Stati Uniti <sup>(2)</sup>.

Tuttavia, i modelli di rischio trasfusionale da arbovirus e le valutazioni della prevalenza della viremia nelle donazioni di sangue indicano, nelle aree epidemiche, trasmissione trasfusionale di due degli arbovirus più diffusi dengue e chikungunya.

A causa della crescente comparsa di malattie arbovirali a livello globale è opportuno prepararsi ad affrontare sia gli arbovirus endemici che quelli esotici in grado di produrre grandi epidemie e il conseguente rischio di trasmissione trasfusionale <sup>(3)</sup>.

Attualmente sono soggette a sorveglianza speciale le seguenti arbovirosi: Chikungunya, Dengue, Zika, West Nile, Usutu, Encefalite da zecca (TBE) ed infine le infezioni neuro-invasive da virus Toscana (TOSV), (così chiamato per la sua origine) appartenente al genere *Phlebovirus*, trasmesso da flebotomi, ditteri ematofagi appartenenti alla famiglia *Psychodidae*.

La maggior parte delle infezioni umane da TOSV decorre in maniera asintomatica o paucisintomatica e nelle forme più gravi, il TOSV, a causa del suo neurotropismo, può provocare nell'uomo malattie neuro-invasive. L'andamento stagionale dei casi di TOSV risente di diversi fattori che vanno dai flussi migratori di urbanizzazione mal gestiti a quelli meteorologici <sup>(4)</sup>. La anomala situazione climatica, basata principalmente sulle temperature e sulle precipitazioni ha creato le condizioni ambientali ed ecologiche del tutto simili a quelle della zona in cui la loro diffusione è stata dimostrata incrementando gli spazi di territorio disponibili allo sviluppo e crescita delle zanzare. In Italia secondo il Report Clima pubblicato dal Sistema nazionale per la Protezione dell'Ambiente (SNPA) si sta assistendo ad un aumento delle temperature medie ed alla conseguente variazione degli altri parametri climatici connessi.

La circolare del Ministro della Salute del 18 maggio 2018 dal titolo "*Piano Nazionale di sorveglianza e risposta alle arbovirosi trasmesse da zanzare invasive (Aedes sp.) con particolare riferimento ai virus Chikungunya (CHIKV), Dengue e Zika*" valuta come obiettivo principale la riduzione del rischio di trasmissione autoctona sul territorio nazionale rilevando la circolazione precoce di patogeni pericolosi per gli animali e l'uomo, e nello stesso tempo intercettare patogeni o vettori di nuova

introduzione e fornire indicazioni per il controllo dei vettori in caso di emergenza sanitaria.

Per quanto riguarda l'infezione da ZIKAV secondo il Centro Nazionale Sangue l'Italia è da considerarsi "area non endemica" non essendo stati registrati casi di infezione a trasmissione locale vista la validità delle misure di prevenzione della trasmissione trasfusionale adottate basate sul rafforzamento della sorveglianza anamnestica con particolare riferimento ai viaggi e all'applicazione del criterio di sospensione temporanea per i donatori che abbiano soggiornato in aree documentate a rischio.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha invitato i centri trasfusionali a conoscere l'epidemiologia dei diversi agenti infettivi emergenti così definiti poiché presentano una diffusione più elevata di quanto fosse prevedibile in base ai dati epidemiologici e il loro impatto sulla trasfusione di sangue.

La medicina forense prende in considerazione, come una ulteriore specialità medica, il complesso di cognizioni provenienti dalle problematiche sanitarie che si presentano nel futuro poiché lo Stato ha il compito di tutelare la salute e la sicurezza trasfusionale.

Viene quindi promossa la ricerca e l'innovazione attivando lo scambio di dati fra le diverse reti cliniche nazionali per migliorare la capacità di precisare l'epidemiologia delle malattie emergenti e riemergenti con potenziale epidemico.

Negli ultimi 20 anni, il numero di casi pubblicati di arbovirus trasmessi per trasfusione è aumentato notevolmente, coinvolgendo anche nuovi arbovirus. A causa della crescente comparsa di malattie arbovirali a livello globale, è prudente prepararsi ad affrontare sia gli arbovirus endemici che quelli esotici in grado di produrre grandi epidemie e il conseguente rischio di trasmissione trasfusionale. Nei prossimi anni si prevede che la trasmissione degli arbovirus continuerà ad espandersi a livello globale <sup>(5)</sup>.

# FLAVIVIRUS

Il virus è appartenente alla famiglia Flaviviridae, trasmesso all'uomo dalla puntura delle zanzare del genere *Aedes*, ribattezzato Orthoflavivirus nel 2023, è un virus a RNA a singolo filamento positivo (+) ssRNA di circa 11.000 basi involtato a geometria sferica avvolto da membrana lipoproteica che comprende il virus del Nilo occidentale, il virus della dengue, il virus della encefalite da zecche, il virus della febbre gialla ed il virus Zika.

I Flaviviridae sono agenti patogeni responsabili di gravi infezioni endemiche e di epidemie su larga scala causate principalmente dalla urbanizzazione, dal riscaldamento climatico e dall'espansione dei vettori competenti (6).

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), il virus della dengue causa circa 50 milioni di casi di malattia all'anno in tutto il mondo e continua a espandere la sua distribuzione geografica nelle regioni tropicali e subtropicali.

L'infezione da virus della dengue causa una sindrome febbrile acuta caratterizzata da cefalea, dolore retroorbitale, eruzione cutanea, nausea, vomito, diarrea, mialgia e artralgia.

Nei soggetti con precedente esposizione al virus della dengue, la riesposizione a un altro sierotipo comporta un rischio maggiore di febbre emorragica, caratterizzata da un aumento della permeabilità vascolare, trombocitopenia, ipotensione e manifestazioni emorragiche.

Si conoscono quattro diversi sierotipi (Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4), 3 proteine strutturali e 7 proteine non strutturali. L'infezione con un sierotipo protegge contro la malattia causata dal sierotipo specifico ma procura solo una protezione limitata e temporanea contro l'infezione degli altri 3 sierotipi.

L'infezione è trasmessa dalle punture di zanzare che hanno a loro volta punto una persona infetta (7).

La malattia non è contagiosa tra esseri umani, anche se l'uomo è il principale ospite del virus.

Dopo l'infezione il virus circola nel sangue della persona infetta per 2-7 giorni, e in questo periodo la zanzara può prelevarlo e trasmetterlo ad altri. Nell'emisfero occidentale il vettore principale è la zanzara *Aedes aegypti*, anche se si sono registrati casi trasmessi da *Aedes albopictus*.

Negli ultimi decenni, la diffusione della dengue è aumentata in molte regioni tropicali e subtropicali dove le condizioni ambientali favoriscono la proliferazione della zanzara *Aedes aegypti* (8).

I virus della dengue hanno dimostrato di avere il potenziale per emergere in una regione geografica non endemica. Nei paesi dell'emisfero nord, in particolare in Europa, la dengue costituisce un pericolo poiché si manifesta soprattutto come malattia di importazione, il cui incremento è dovuto all'aumentata frequenza di spostamenti di merci e di persone. Normalmente la malattia dà luogo a febbre nell'arco di 5-6 giorni dalla puntura di zanzara, con temperature anche molto elevate. Negli ultimi 70 anni si sono verificate epidemie di dengue e West Nile fino alla più recente epidemia di Zika nelle Americhe.

La dengue è endemica nelle regioni tropicali e subtropicali dei paesi dell'Africa, dell'Asia e dell'America Centro-Meridionale segnalata soprattutto in aree urbane e particolarmente presente durante e dopo la stagione delle piogge causa ogni anno fino a 22.000 decessi provocati principalmente da emorragie fatali, encefaliti e anomalie congenite. Nei paesi del nord Europa la malattia si evidenzia soprattutto in viaggiatori di ritorno dalle zone endemiche e l'aumento osservato negli ultimi anni è dovuto all'aumentata frequenza degli spostamenti. In Italia la malattia, in genere presenta sintomi similinfluenzali e solo raramente gravi nel caso di presenza di emorragie, si evidenzia in persone di ritorno da soggiorni nelle aree tropicali e subtropicali.

Gli studi hanno portato alla identificazione di una proteina denominata NS4B che rappresenta un bersaglio utile per la scoperta di farmaci a causa dei suoi molteplici ruoli nel ciclo vitale dei flavivirus (9).

Nonostante le poche dimostrate trasmissioni trasfusionali, i modelli di rischio e le valutazioni della prevalenza della viremia nelle donazioni di sangue indicano una trasmissione dei virus della dengue nelle aree epidemiche. Inoltre sono emersi recentemente alcuni flavivirus che circolano in aree limitate che hanno un non trascurabile potenziale di sostenere una trasmissione epidemica in una regione geografica non endemica.

Secondo il sistema di sorveglianza nazionale integrata delle arbovirosi da 1 gennaio al 31 dicembre 2022 risultano 117 casi confermati di Dengue, tutti associati a viaggi all'estero, 1 caso di Zika virus, 152 confermati di Toscana Virus. Lo scorso anno sono stati registrati 82 casi, in Francia 43, numeri che hanno sollecitato le autorità sanitarie a maggiore attenzione. L'infezione da virus Dengue può essere diagnosticata con la ricerca degli anticorpi sierici al virus o elettivamente con tecniche di biologia molecolare quali la RT-qPCR per ricercare direttamente il genoma virale o l'isolamento in colture cellulari <sup>(10)</sup>.

## ALFAVIRUS

Il virus Chikungunya (CHIKV), appartiene alla famiglia dei Togaviridae, che comprende anche, il virus Ross River (RRV), il virus Mayaro (MAYV), il virus emliki Forest (SFV), il virus Sindbis (SINV) e il virus O'nyong-nyong (ONNV).

Il virus Chikungunya (CHIKV) costituito da un singolo filamento positivo (+)ssRNA di RNA di circa 11800 nucleotidi che codifica 3 proteine strutturali, oltre a 7 proteine non strutturali è recentemente riapparso in molte parti del mondo avendo il potenziale di emergere anche in una regione geografica non endemica ed elencato tra gli agenti patogeni prioritari del Blueprint dell'OMS. Il virus causa una malattia infettiva acuta trasmessa dalle zanzare *Aedes aegypti* nelle regioni tropicali e subtropicali, con febbre, eruzione cutanea e dolori articolari come caratteristiche principali e nei casi più gravi, artralgie e complicanze neurologiche. Il trattamento della malattia è di supporto in mancanza di una terapia antivirale specifica e di un vaccino efficace <sup>(11)</sup>.

Gli effetti del cambiamento climatico e l'aumento della globalizzazione del commercio e dei viaggi hanno portato a una crescita dell'habitat delle zanzare *Aedes* per cui, a giudizio di molti esperti, è prevedibile che nei prossimi anni un numero crescente di persone sarà a rischio di infezione <sup>(12)</sup>.

Il primo focolaio conosciuto di febbre Chikungunya si è verificato nel 1952 in Tanzania ed il virus è stato poi isolato nel 1953. L'epidemia si è estesa dall'Africa all'Asia meridionale, alle isole dell'Oceano Indiano e alle Americhe ed è recentemente riemersa in molti

altri paesi causando epidemie su larga scala con circa 1 milione di infezioni all'anno <sup>(13)</sup>. Recentemente il CHIKV ha prodotto una nuova epidemia causando milioni di infezioni nei Paesi intorno all'Oceano Indiano caratterizzati da condizioni climatiche favorevoli all'alta densità dei vettori. Il trasferimento di persone dalle zone epidemiche in paesi europei con un'alta densità di vettori ha la potenzialità di innescare focolai autoctoni <sup>(14)</sup>.

Nel 2007 è stata rilevata una epidemia di 205 casi di Chikungunya. L'analisi filogenetica ha mostrato una elevata somiglianza con una precedente epidemia nelle isole dell'Oceano Indiano. Il rilevamento di un focolaio da CHIKV in una area non tropicale sottolinea la necessità in assenza di trattamenti antivirali specifici ed efficaci e con vaccini ancora in fase di sviluppo, di una attenta sorveglianza e di un maggiore controllo dei vettori per impedire epidemie <sup>(15)</sup>.

Nel 2017 si sono verificati due epidemie autoctone di infezione da virus Chikungunya, una in Francia, nei dipartimenti di Var e di Hérault ed una in Italia, nelle regioni Lazio e Calabria.

L'epidemia da virus Chikungunya ha causato 489 casi autoctoni con focolai epidemici nei comuni di Anzio, Roma e Latina e 74 nella Regione Calabria, con un focolaio epidemico a Guardavalle marina. Si sono inoltre verificati 125 casi di arbovirosi, di cui 5 da virus Chikungunya, 94 da virus Dengue e 26 da virus Zika.

## VACCINAZIONE

Gli studi attuali mirano all'analisi del genoma, al ciclo di replicazione, all'epidemiologia ed alla patogenesi dell'infezione dal momento che la risposta umorale efficace è fondamentale per conferire un'immunità protettiva.

Il primo vaccino DENV autorizzato è stato il CYD Denvaxia tetravalente non ancora approvato in tutti i Paesi. La mancanza di un modello animale adatto, di un adeguato studio della patogenesi sono i principali ostacoli allo sviluppo del vaccino.

Negli Stati Uniti il Denvaxia è approvato per l'uso nei bambini e negli adolescenti di età compresa tra i 9 ed i 16 anni con una precedente infezione da virus della febbre dengue confermata in laboratorio diagnostico e che risiedono in una zona in cui la

dengue è endemica. Il vaccino è disponibile anche in Messico, Brasile, Thailandia e alcuni altri Paesi.

Le autorità sanitarie statunitensi hanno recentemente approvato il vaccino contro la chikungunya, un virus diffuso da zanzare infette definito dalla Food and Drug Administration come “una minaccia emergente per la salute globale con almeno 5 milioni di casi di infezione da virus chikungunya riportati negli ultimi 15 anni”. Il vaccino prodotto dalla casa farmaceutica Valneva e commercializzato con il nome Ixchiq è stato approvato per le persone esposte all’infezione di età pari o superiore a Oggi la Food and Drug Administration statunitense ha approvato Ixchiq, il primo vaccino contro la chikungunya.

Ixchiq è approvato per i soggetti di età pari o superiore a 18 anni che sono a maggior rischio di esposizione al virus chikungunya. Il virus chikungunya si trasmette principalmente alle persone attraverso la puntura di una zanzara infetta. La chikungunya è una minaccia emergente per la salute globale.

Il rischio maggiore di infezione è nelle regioni tropicali e subtropicali dell’Africa, del Sud-Est asiatico e di alcune parti delle Americhe, dove le zanzare portatrici del virus chikungunya sono endemiche. Tuttavia, il virus chikungunya si è diffuso in nuove aree geografiche, causando un aumento della prevalenza globale della malattia. A febbraio 2023, l’Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ha autorizzato l’utilizzo e la commercializzazione di Qdenga (Takeda), un vaccino tetravalente vivo attenuato per la prevenzione della malattia da Dengue causata da uno qualsiasi dei quattro sierotipi del virus.

Il vaccino ha ricevuto anche l’approvazione da parte dell’EMA (European Medicines Agency) a dicembre 2022. Un secondo vaccino il Dengvaxia (Sanofi Pasteur), non commercializzato in Italia, è indicato solo per persone residenti in aree endemiche e che abbiano avuto una precedente infezione da Dengue, confermata attraverso esami di laboratorio.

## BIBLIOGRAFIA

1. J. David Beckham, and Kenneth L. Tyler: *Arbovirus infections*, 2015 Dec, *Continuum*. 21,6 *Neuroinfectious Disease*: 1599–1611.
2. *Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)1 Part II: Immunization of adults (WVWR Recomm Rep 2006)*.
3. Peterson LR, Busch MP: *Transfusion-transmitted arboviruses* *Vox Sang* 2010 May, 98 (4): 495-503 .
4. Mellace F, et al *Meningiti, meningoencefaliti ed encefaliti da virus Toscana in Italia, 2016-2021: punta dell’iceberg di una arbovirosi endemica poco conosciuta*. *Boll Epidemiol Naz* 2022;3(2):10-19.
5. Angel Giménez-Richarte et al: *Transfusion-transmitted arboviruses: update and systematic review plos negli Trop Dis* 2022 oct 6;16(10) .
6. Postler TS et al *Renaming of the genus Flavivirus to Orthoflavivirus and extension of binomial species names within the family Flaviviridae*. *Arch Virol*. 2023 Aug 10;168(9):224.
7. Sudipta Kumar Roy Soumen Bhattacharjee *Dengue virus: epidemiology, biology, and disease aetiology Can J Microbiol* 2021 Oct;67(10):687-702.
8. Luiz F C Zonetti, Milena C Coutinho , Alexandre S de Araujo *Molecular Aspects of the Dengue Virus Infection Process: A Review Protein & Peptide Letters* 2018;25(8):712-719 .
9. Yan Wang et al: *Flavivirus NS4B protein: Structure, function, and antiviral discovery; Antiviral Res* 2022 Nov;207:105423.
10. Yan Wang , Xuping Xie 1, Pei-Yong Shi 2 *Flavivirus NS4B protein: Structure, function, and antiviral discovery*. 2022 *J.Antiviral Res* Nov 207 .
11. Vairo F. et al: *Chikungunya: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Features, Management, and Prevention Infect Dis Clin North Am* 2019 Dec 33(4):1003-1025.
12. Bartholomeeusen K et al *Chikungunya fever Nat Rev Dis Primers* 2023 Apr 6;9(1):1 .
13. LiCai et al: *The research progress of Chikungunya fever Front Public Health* 2023 Jan 9:10:1095549 .
14. Caglioti C et al *Chikungunya virus infection: an overview Microbiol* 2013 Jul;36(3):211-27.
15. G. Rezza: *CHKV study group infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. Lancet* 2007 Dec 1;370(9602): 1840-6.