



Rapporti ISTISAN

13/32



RotaNet-Italia:
epidemiologia molecolare dei rotavirus
attraverso la sorveglianza nelle Regioni



ISSN 1123-3117

A cura di L. Fiore,
F.M. Ruggeri e R. Delogu

www.iss.it

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**RotaNet-Italia:
epidemiologia molecolare dei rotavirus
attraverso la sorveglianza nelle Regioni**

A cura di Lucia Fiore (a),
Franco Maria Ruggeri (b) e Roberto Delogu (a)

*(a) Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione dei Prodotti Immunobiologici
(b) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare*

ISSN 1123-3117
Rapporti ISTISAN
13/32

Istituto Superiore di Sanità

RotaNet-Italia: epidemiologia molecolare dei rotavirus attraverso la sorveglianza nelle Regioni.

A cura di Lucia Fiore, Franco Maria Ruggeri e Roberto Delogu

2013, ii, 80 p. Rapporti ISTISAN 13/32

I rotavirus sono la causa principale di diarrea acuta infantile nel mondo, associati a una mortalità molto elevata, superiore a 450.000 casi l'anno, per la maggior parte nei Paesi in via di sviluppo. In Italia, un network di laboratori opera dal 2007 in 13 Regioni, per la raccolta di ceppi di rotavirus dalle feci di pazienti pediatrici, ospedalizzati per diarrea acuta. Il network RotaNet-Italia è collegato a simili reti in altri 16 Paesi europei, che condividono metodologie epidemiologiche e diagnostiche molecolari, e contribuiscono al database generale del network europeo EuroRotaNet. La principale finalità è fornire informazioni dettagliate sui genotipi di rotavirus co-circolanti in Italia, valutando le variazioni dei ceppi predominanti negli anni e nelle diverse aree geografiche, e identificando prontamente l'eventuale comparsa di ceppi emergenti e "non comuni", prima di una loro possibile diffusione su ampia scala.

Parole chiave: Gruppo A rotavirus; Gastroenteriti; Infezione; Genotipi

Istituto Superiore di Sanità

RotaNet-Italy: molecular epidemiology of rotavirus through the surveillance in the Regions.

Edited by Lucia Fiore, Franco Maria Ruggeri and Roberto Delogu

2013, ii, 80 p. Rapporti ISTISAN 13/32 (in Italian)

Rotaviruses are the leading cause of acute diarrhea among children worldwide, and are associated with a very high mortality, exceeding 450,000 cases yearly, for the most part in developing countries. In Italy, a network of laboratories located in 13 regions is acting since 2007, for the collection of rotavirus strains from the feces of pediatric patients hospitalized for acute diarrhea. The network RotaNet-Italy is linked to similar networks in 16 other European countries, sharing epidemiological and molecular diagnostic methods, and contributing to the general database of the European network EuroRotaNet. The main purpose is to provide detailed information on rotavirus genotypes co-circulating in Italy, to detect changes of the predominant strains during years and among different geographical areas, and to promptly identify the possible emergence of "uncommon" strains before their possible large scale spread.

Keywords: Group A rotavirus; Gastroenteritis; Infection; Genotypes

Per informazioni su questo documento scrivere a: lucia.fiore@iss.it

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Fiore L, Ruggeri FM, Delogu R (Ed.). *RotaNet-Italia: epidemiologia molecolare dei rotavirus attraverso la sorveglianza nelle Regioni*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2013. (Rapporti ISTISAN 13/32).

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Fabrizio Oleari*

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988 (serie: *Rapporti e congressi ISTISAN*)

Redazione: *Paola De Castro e Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.



INDICE

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in età pediatrica in Italia, 2010-2011

*Franco Maria Ruggeri, Roberto Delogu, Giovanni Ianaro, Lucia Fiore
e il Gruppo di Studio RotaNet-Italia* 1

RotaNet-Italia: sorveglianza nelle Regioni

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Lombardia

*Laura Pellegrinelli, Monia Gambino, Laura Bubba, Valeria Primache,
Sandro Binda, Claudio Farina, Carla Sturla* 11

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Piemonte

Anna Mignacca, Maria Natalia Contarini, Rosella Bruno 15

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Veneto

Francesca Russo, Francesca Zanella 19

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Emilia-Romagna (area di Parma)

Maria Cristina Medici, Fabio Tummolo, Paola Guerra, Carlo Chezzi, Adriana Calderaro 22

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Emilia-Romagna (area di Piacenza)

Paola Affanni, Maria Luisa Tanzi 26

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Emilia-Romagna (area di Bologna)

Liliana Gabrielli, Giulia Piccirilli, Francesca Bellini, Tiziana Lazzarotto 28

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Toscana

*Chiara Lorini, Emilia Tiscione, Guglielmo Bonaccorsi, Nicola Comodo
e il gruppo di referenti ospedalieri e di laboratorio* 31

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus nelle Marche

*Marcello M. D'Errico, Anna Marigliano, Patrizia Bagnarelli, Katia Marinelli,
Leonardo Incicchitti, Laura Polenta, Olimpia D'Amato, Francesca Brecciaroli,
Giuliana Carotti, Emily Tili, Paola Pauri, Sara Secondini, Sandro Cipriani, Rita Grassi,
Clotilde Pierosara, Matilde Pierosara, Jessica Bellesi, Isabella Properzi,
Paolo Francesco Perri, Luciana Maria Taccari* 35

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Umbria

Anna Maria Iorio, Barbara Camilloni, Michela Basileo Letizia D'Annibale 38

Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus nel Lazio <i>Manuela Onori, Cristina Russo, Luana Coltella, Alberto Villani, Donato Menichella, Rosalia Graffeo</i>	40
Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Campania <i>Rosalba Campagnuolo, Gabriella Tripepi, Federica Ventura, Alessandro Liccardo</i>	44
Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Puglia <i>Anna Morea, Anna Sallustio, Anna Lisa De Robertis, Cesare Di Bari, Maria Chironna</i>	46
Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Calabria <i>Carmelo Laganà, Mattia Chisari, Marta De Rosa</i>	49
Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Sicilia <i>Giovanni M. Giammanco, Simona De Grazia, Floriana Bonura, Valentina Rotolo, Laura Saporito, Claudia Colomba, Francesca Di Bernardo, Piera Dones, Antonio Cascio, Antonina Collura, Diane Marcella Terranova, Rosa Zuccarello, Giuseppe Piombo, Nicolò Riccobono, Maria Di Gangi, Maria Concetta Failla, Maria Grazia Li Cavoli, Fabio Mossuto, Letterio Bonina, Maria Silvana Leonardi, Maria Luisa Toro, Annamaria Salpietro, Romina Gallizzi, Sara Bombaci, Lorena Silipigni, Salvatore Scondotto, Mario Palermo</i>	51
Sorveglianza molecolare delle gastroenteriti da rotavirus in Sardegna <i>Paolo Castiglia, Giovanni Sotgiu, Andrea Cossu, Caterina Serra, Paolina Olmeo, Stefano Madeddu, Giorgio Maida, Andrea Piana</i>	60
RotaNet-Italia: caratterizzazione molecolare e filogenesi di rotavirus identificati in casi clinici e nell'ambiente	
Analisi molecolare di rotavirus di specificità P[8] circolanti nell'area di Parma <i>Maria Cristina Medici, Fabio Tummolo, Paola Guerra, Carlo Chezzi, Adriana Calderaro</i>	65
Filogenesi di ceppi di rotavirus umani G9P[8] identificati in Italia, 2007-2010 <i>Giovanni Ianaro, Roberto Delogu, Franco M. Ruggeri, Lucia Fiore</i>	72
Sorveglianza ambientale di rotavirus in alcune città italiane e correlazione con ceppi identificati in bambini con gastroenterite, nelle stesse città e periodo <i>Paolo Bonomo, Andrea Battistone, Roberto Delogu, Giovanni Ianaro, Franco M. Ruggeri, Michele Labianca, Josef Simeoni, Francesca Pennino, Antonella Cicala, Paolo Castiglia, Lucia Fiore</i>	74
Caratterizzazione molecolare di ceppi di rotavirus G8P[8] identificati in Croazia nel 2006 <i>Roberto Delogu, Giovanni Ianaro, Franco M. Ruggeri, Lucia Fiore</i>	78

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN ETÀ PEDIATRICA IN ITALIA, 2010-2011

Franco Maria Ruggeri (a), Roberto Delogu (b), Giovanni Ianiro (b), Lucia Fiore (b)
e il Gruppo di Studio RotaNet-Italia*

(a) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione dei Prodotti Immunobiologici, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

* *Vedi allegato*

Generalità sui rotavirus

I rotavirus sono la causa principale di gastroenterite acuta infantile nel mondo, e sono associati a una mortalità molto elevata, superiore a 450.000 casi l'anno, quasi completamente nei Paesi in via di sviluppo (1). La morbosità è invece importante in tutti i continenti, incluse le regioni più industrializzate del globo, e da essa conseguono costi per ricoveri ospedalieri e altre spese mediche, e costi familiari e sociali, tali da consigliare l'adozione di politiche vaccinali su scala universale (2).

Nel 2006, sono stati registrati da parte della FDA (*Food and Drug Administration*) e dell'EMA (*Evaluation of Medicinal Products*), e introdotti in numero crescente di Paesi in tutto il mondo, inclusa l'Europa, due diversi vaccini basati su uno o più ceppi prototipo di rotavirus di maggiore diffusione nell'uomo (3, 4). Il primo vaccino (Rotarix™) è costituito da un unico ceppo virale di origine umana con genotipo G1P[8], che rappresenta il ceppo di rotavirus più largamente diffuso al mondo; mentre il secondo (RotaTeq™) è composto da una miscela di ceppi riassortanti, con lo scheletro genetico di un rotavirus bovino, che presentano i genotipi G1, G2, G3 e G4, e P[8], più frequentemente riscontrati nei casi umani. Entrambi i vaccini sono "vivi attenuati", ben tollerati e inducono una protezione valida contro la diarrea, sia grave che in forme più lievi, sostenuta da tutti i più comuni rotavirus selvaggi circolanti a livello globale (5, 6).

Nonostante la cross-reattività tra ceppi virali diversi sia ritenuta ampia, restano tuttavia preoccupazioni sulla possibile comparsa e diffusione di ceppi emergenti di rotavirus, che potrebbero presentare diversità antigenica e/o virulenza tali da resistere alla protezione immunitaria assicurata dal vaccino, con particolare riferimento a ceppi virali di origine animale e/o provenienti da Paesi esotici (7, 8).

I rotavirus sono virus con un genoma di RNA a doppia catena (dsRNA) di oltre 18.000 paia di basi (*base pair*, bp), contenuto in un capside strutturato con tre strati proteici concentrici. Questi sono costituiti da 4 diverse proteine virali (VP2, VP4, VP6 e VP7), che inglobano 11 segmenti di dsRNA e le 2 proteine enzimatiche VP1 e VP3. Il capside intermedio è costituito da copie della sola proteina VP6 disposte in trimeri a formare un lattice icosaedrico, mentre lo strato più esterno, anch'esso strutturato come un icosaedro, è costituito da trimeri di VP7 (9). La proteina VP4 attraversa la struttura capsidica, essendo collegata ai trimeri di VP6 dello strato intermedio, e forma proiezioni oltre lo strato di VP7, che sono essenziali per il legame virus-recettore cellulare (10, 11). VP4 e VP7 sono gli "antigeni di neutralizzazione" di rotavirus, e stimolano la produzione di anticorpi con effetto protettivo in vivo e in vitro, conoscenze che hanno rappresentato la base per la produzione dei vaccini attualmente in commercio. Entrambe le proteine presentano varianti antigeniche e, sulla base delle diverse sequenze nucleotidiche dei

corrispondenti geni, sono attualmente riconosciuti 27 genotipi G (da Glicoproteina, VP7) e 37 genotipi P (da Proteasi-sensibile, VP4), alcuni tipicamente riscontrati nell'uomo, altri specifici di varie specie animali (12).

I network di sorveglianza molecolare

In Italia opera dal 2007 un network di strutture ospedaliere e laboratori in 13 Regioni (Figura 1), coordinati dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) per la raccolta di campioni di feci rotavirus positivi di pazienti pediatrici ospedalizzati per diarrea acuta, per il monitoraggio di ceppi di rotavirus circolanti rappresentativi sul territorio nazionale (13). Il network RotaNet-Italia è collegato a simili reti in altri 16 Paesi europei, che condividono metodologie epidemiologiche e diagnostiche molecolari, e contribuiscono al database generale del network Europeo EuroRotaNet (<http://www.eurorota.net>). La principale finalità di RotaNet-Italia e di EuroRotaNet è fornire informazioni dettagliate sui genotipi di rotavirus co-circolanti in Italia e in Europa, valutando le variazioni dei ceppi predominanti negli anni e nelle diverse aree geografiche, e identificando prontamente l'eventuale comparsa di ceppi emergenti e "non comuni", prima di una loro possibile diffusione su ampia scala.



Figura 1. Regioni partecipanti al network RotaNet-Italia, suddivise tra Nord, Centro e Sud (i laboratori di riferimento sono indicati con un triangolino)

Tutti i centri ospedalieri del RotaNet-Italia effettuano la diagnosi di infezione da rotavirus in loco, esaminando campioni di feci da pazienti di età tra 0 e 5 anni con diarrea di gravità marcata, tale da richiederne l'ospedalizzazione o l'accesso in day hospital. Tre laboratori (Palermo, Parma e Bari) procedono anche all'analisi molecolare dei ceppi di rotavirus, sino alla determinazione del genotipo GxP[y], con le metodiche condivise di EuroRotaNet, validate annualmente mediante la partecipazione a un ring-test, organizzato dal Laboratorio coordinatore di EuroRotaNet (*Health Protection Agency*, Regno Unito). Tutti gli altri centri inviano i campioni rotavirus-positivi al Laboratorio coordinatore dell'ISS, presso il quale viene completata la genotipizzazione dei ceppi, e nel quale tutti i dati del network sono immessi nel database RotaNet-Italia.

Risultati del RotaNet-Italia nel 2010-2011

Durante il periodo 1° settembre 2010 – 31 agosto 2011, sono stati complessivamente identificati 1.213 ceppi di rotavirus, di cui 341 nelle Regioni del Nord-Italia, e 592 e 280 rispettivamente in quelle centrali e meridionali.

La maggior parte dei casi (811; 66,9%) sono stati riportati tra gennaio e aprile, mentre il minor numero è stato registrato nei mesi estivi di luglio-agosto, con soli 12 casi (1%), confermando il carattere stagionale dell'infezione da rotavirus, che presenta in Italia il suo massimo picco epidemico a marzo (Figura 2). In realtà, nel periodo dell'indagine sono state rilevate alcune differenze nella notifica dei casi, tra il Centro-Nord e il Sud del Paese, con un aumento lineare, per le prime, a partire da novembre 2010, mentre nel Sud l'incremento delle notifiche era più rapido e iniziava a gennaio 2011.

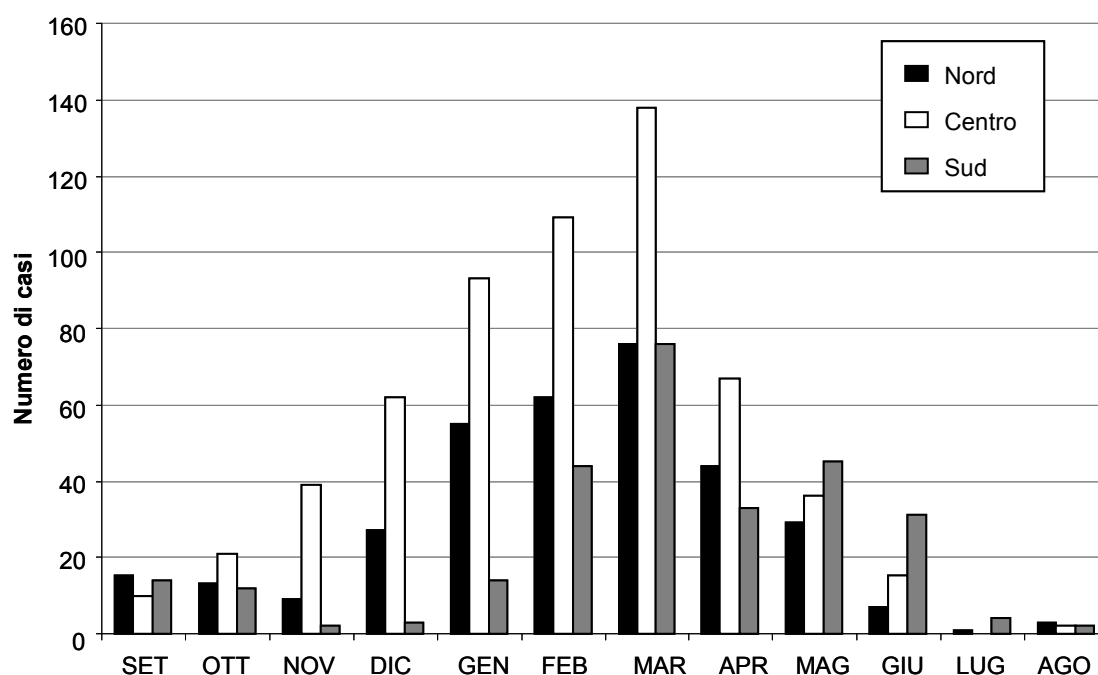


Figura 2. Distribuzione dei casi di gastroenterite da rotavirus nel Nord, Centro e Sud Italia, 2010-2011

Questo diverso andamento stagionale è stato osservato anche in precedenza, sia in Italia che in altri Paesi europei, e potrebbe essere correlato a differenze climatiche tra le diverse aree, o a caratteristiche socio-economiche e di urbanizzazione, ma un ruolo potrebbe anche essere attribuito alle diverse dinamiche dei movimenti di popolazione nel Sud rispetto al resto del Paese.

La distribuzione dei casi per classe di età, per l'intero campionamento italiano nel 2010-2011, è riportata in Figura 3, e mostra come l'infezione da rotavirus sia particolarmente diffusa nei primi due anni di vita, mentre il numero dei casi riscontrati nei bambini tra 4 e 5 anni si riduce di circa 7 volte rispetto ai bambini con età inferiore a 24 mesi. Circa il 55% dei pazienti era di sesso maschile, contro il 45% di femmine.

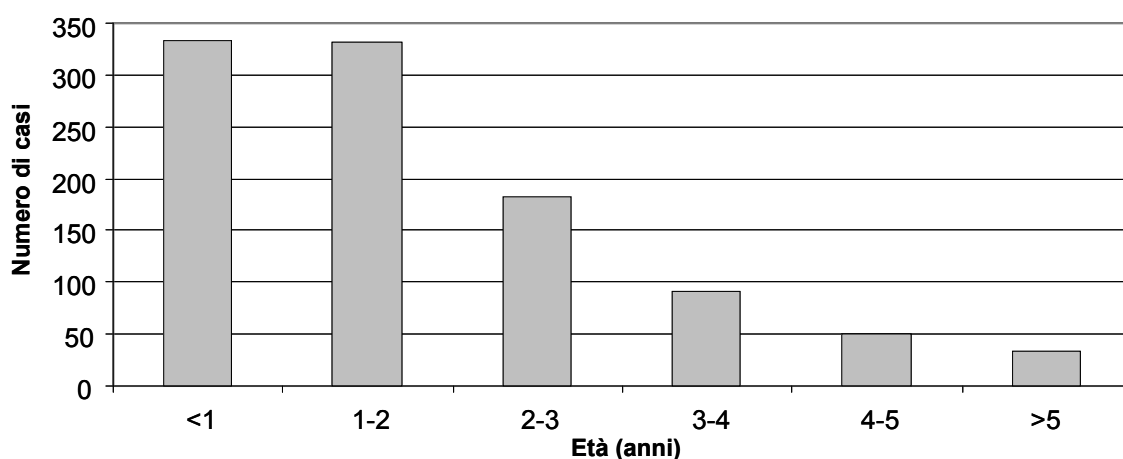


Figura 3. Casi di infezione da rotavirus per classe di età (Italia, 2010-2011)

Anche questi dati, nel complesso, confermano conoscenze consolidate da lungo tempo in Italia e in altri Paesi industrializzati, e rimarkano la necessità che la vaccinazione sia somministrata precocemente dopo la nascita, al fine di evitare la maggioranza dei casi, che riguardano i bambini più piccoli, i quali sono a maggior rischio di sviluppare una sintomatologia grave.

I risultati della genotipizzazione dei ceppi di rotavirus identificati tra settembre 2010 e agosto 2011 sono riportati complessivamente in Figura 4, in base alla diversa classe di età dei pazienti.

Tra i 1.213 ceppi sottoposti a genotipizzazione, l'88% era rappresentato da ceppi di rotavirus cosiddetti comuni, ovvero G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], o G9P[8], mentre solo 9 ceppi erano definibili come "non comuni" nell'uomo. Questi ultimi erano, in particolare, riassortanti tra ceppi comuni umani (G1P[4], G2P[8]) oppure ceppi emergenti con possibile parziale origine animale (G6P[6], G6P[9], G8P[4], G10P[8], G12P[8]). Poiché una genotipizzazione completa non è stata possibile per 15 casi, anche questi ultimi potrebbero rappresentare genotipi virali rari, non riconoscibili con le usuali metodiche in uso per la genotipizzazione.

Infine, va sottolineato che circa il 9,9% dei campioni analizzati conteneva almeno due diversi ceppi di rotavirus, identificando quelle situazioni di infezione mista nel cui caso è possibile lo scambio di parte del corredo genomico dei ceppi parentali con lo sviluppo conseguente di una progenie di rotavirus riassortanti.

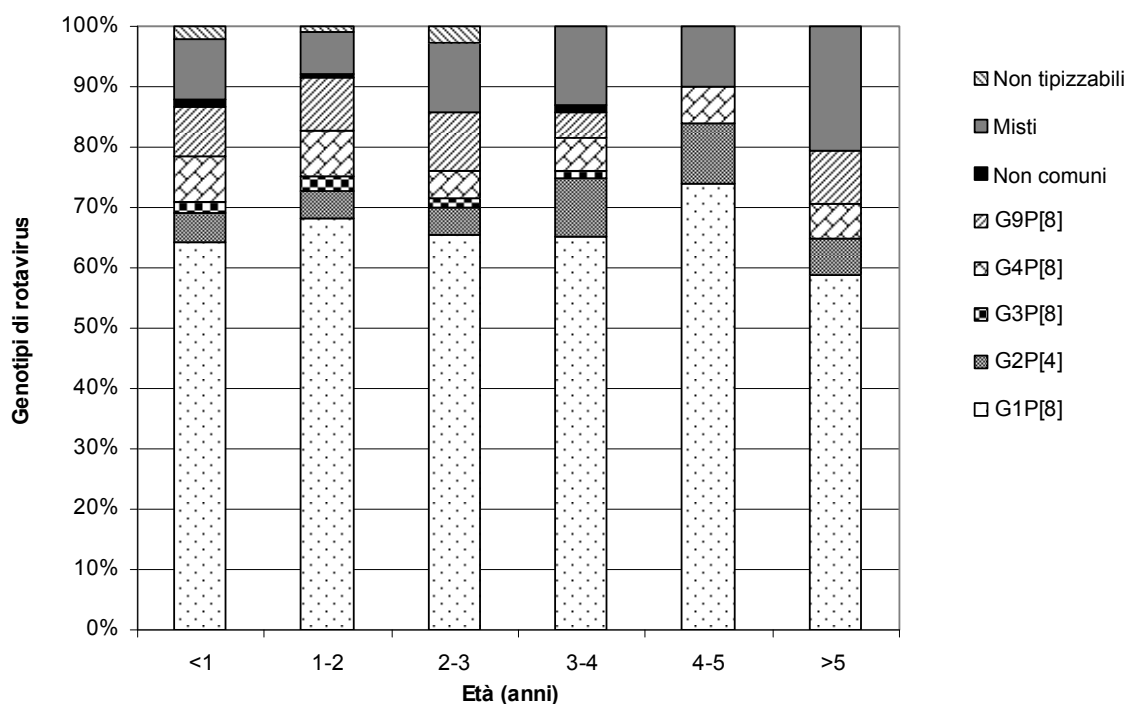


Figura 4. Distribuzione dei diversi genotipi di rotavirus per classe di età (Italia, 2010-2011)

I dati di Figura 4 confermano in particolare la grande diffusione dei ceppi di rotavirus con genotipo binario G1P[8], associati al 55-70% circa dei casi nelle diverse fasce d'età.

Nel periodo di sorveglianza 2010-2011, non sono state messe in evidenze differenze rilevanti nella diffusione relativa dei diversi genotipi virali, tra le Regioni del Nord, Centro o Sud Italia.

Conclusioni

Nel complesso, lo studio mostra che l'attività di sorveglianza per i rotavirus si è stabilizzata negli anni 2010-2011 su oltre 1.200 campioni virali esaminati su base annua in Italia, un numero che consente di apprezzare l'eventuale comparsa di ceppi virali emergenti con una probabilità ritenuta elevata, secondo gli algoritmi di campionamento considerati da "EuroRotaNet".

In assenza di livelli significativi di somministrazione del vaccino anti-rotavirus in Italia, e quindi di eventuale pressione selettiva, la distribuzione dei genotipi virali riscontrata in questo studio, come già negli anni precedenti, rimarca la congruità delle formule vaccinali di entrambi i vaccini disponibili, i cui livelli di efficacia protettiva sono considerati elevati per oltre il 90% dei genotipi identificati dalla sorveglianza in Italia.

È auspicabile che l'attività di caratterizzazione molecolare dei rotavirus co-circolanti nel Paese possa proseguire nei prossimi anni, al fine di monitorare la persistenza dei ceppi virali predominanti nell'uomo, di rivelare l'eventuale comparsa ed evoluzione di virus emergenti, e di disegnare una linea di base dei genotipi di rotavirus su cui valutare gli effetti della futura implementazione dell'uso di massa del vaccino.

Bibliografia

1. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases* 2012;12(2):136-41.
2. Ivanoff B, Glass R. [Vaccines for rotavirus infections: efficacy and eventual role of vaccination programs]. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. 1999;6(Suppl 2):330s-1s. Vaccins contre les infections a rotavirus: efficacite et place eventuelle dans les programmes de vaccination.
3. Patel MM, Steele D, Gentsch JR, Wecker J, Glass RI, Parashar UD. Real-world impact of rotavirus vaccination. *The Pediatric infectious disease journal* 2011;30(1 Suppl):S1-5.
4. Parashar UD, Glass RI. Rotavirus vaccination in Europe: the time has finally arrived. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2008;46(Suppl 2):S21-3.
5. Vesikari T. Rotavirus vaccination: a concise review. *Clinical Microbiology and Infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2012;18(Suppl 5):57-63.
6. Gray J. Rotavirus vaccines: safety, efficacy and public health impact. *Journal of Internal Medicine* 2011; 270(3):206-14.
7. Matthijnsens J, Nakagomi O, Kirkwood CD, Ciarlet M, Desselberger U, Van Ranst M. Group A rotavirus universal mass vaccination: how and to what extent will selective pressure influence prevalence of rotavirus genotypes? *Expert Review of Vaccines* 2012;11(11):1347-54.
8. Iturriza-Gomara M, Dallman T, Banyai K, Bottiger B, Buesa J, Diedrich S, et al. Rotavirus genotypes co-circulating in Europe between 2006 and 2009 as determined by EuroRotaNet, a pan-European collaborative strain surveillance network. *Epidemiology and Infection* 2011;139(6):895-909.
9. Estes MK, Kapikian AZ. Rotaviruses. In: Knipe DM, M. HP, editors. *Fields virology*. 5th ed. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams & Wilkins; 2007. p. 1918-74.
10. Aoki ST, Settembre EC, Trask SD, Greenberg HB, Harrison SC, Dormitzer PR. Structure of rotavirus outer-layer protein VP7 bound with a neutralizing Fab. *Science* 2009;324(5933):1444-1447.
11. Dormitzer PR, Sun ZY, Wagner G, Harrison SC. The rhesus rotavirus VP4 sialic acid binding domain has a galectin fold with a novel carbohydrate binding site. *The EMBO Journal* 2002;21(5):885-97.
12. Trojnar E, Sachsenroder J, Twardziok S, Reetz J, Otto PH, John R. Identification of an avian group A rotavirus containing a novel VP4 gene with a close relationship to those of mammalian rotaviruses. *Journal of General Virology* 2013;94(Pt 1):136-42.
13. Ruggeri FM, Delogu R, Petouchoff T, Tcheremenskaia O, De Petris S, Fiore L. Molecular characterization of rotavirus strains from children with diarrhea in Italy, 2007-2009. *Journal of Medical Virology* 2011;83(9):1657-68.

ALLEGATO al capitolo**Gruppo di studio RotaNet-Italia**

Maria Grazia Pompa (1); Claudio Farina (2); Sandro Binda (3); Carla Sturla (4); Anna Mignacca (5); Rosella Bruno (6); Francesca Russo (7); Francesca Zanella (7); Dario Cesco (8); Paola Sartore (9); Flavinia Piccolo (10); Gianluigi Rosa (11); Maria Cristina Medici (12); Paola Affanni (13); Maria Luisa Tanzi (13); Liliana Gabrielli (14); Tiziana Lazzarotto (14); Chiara Lorini (15); Guglielmo Bonaccorsi (15); Irene Galanti (16); Fabrizio Michelotti (17); Roberto Degl'Innocenti (18); Marcello M. D'Errico (19); Anna Marigliano (19); Anna Maria Iorio (20); Barbara Camilloni (20); Cristina Russo (21); Rosalia Graffeo (22); Rosalba Campagnuolo (23); Maria Chironna (24); Carmelo Laganà (25); Giovanni M. Giammanco (26); Paolo Castiglia (27).

(1) CCM, Ministero della Salute, Roma; (2) U.S.C. Microbiologia e Virologia, Ospedali Riuniti di Bergamo; (3) Dipartimento di Sanità Pubblica-Microbiologia-Virologia, Università degli Studi di Milano; (4) Laboratorio Microbiologia, Azienda Ospedaliera "S. Antonio Abate" di Gallarate; (5) Laboratorio di Microbiologia, Ospedale Maggiore di Chieri (TO); (6) S.S. Microbiologia, Ospedale Civico di Chivasso (TO); (7) Servizio di Epidemiologia e Sanità Pubblica, Regione Veneto, Venezia; (8) Laboratorio di Microbiologia, Ospedale "San Bassiano", Bassano del Grappa (VI); (9) Laboratorio di Microbiologia, Ospedale di Camposampiero (PD); (10) Reparto di Pediatria, Ospedale di Camposampiero (PD); (11) Laboratorio di Microbiologia, Ospedale di Este (PD); (12) Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Parma; (13) Dipartimento di Scienze Biomediche, Biotecnologiche e Traslazionali, Università degli Studi di Parma; (14) U.O. Microbiologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna Policlinico S. Orsola-Malpighi; (15) Dipartimento di Sanità Pubblica, Università degli Studi di Firenze; (16) Laboratorio di Microbiologia, Ospedale "S. Donato"; (17) Reparto di Pediatria, Ospedale di Cecina (LI); (18) Laboratorio di Microbiologia, Ospedale "Misericordia e Dolce" di Prato; (19) Dipartimento di Scienze Biomediche e Sanità Pubblica, Università Politecnica delle Marche, Ancona; (20) Dipartimento di Specialità Medico-chirurgiche e Sanità Pubblica Università degli Studi di Perugia; (21) UO Virologia, Ospedale Pediatrico "Bambino Gesù", Roma; (22) Dipartimento di Diagnostica Morfologica, Microbiologica, Molecolare e delle Malattie del Sangue, Policlinico A. Gemelli, Roma; (23) Laboratorio Patologia Clinica e Microbiologia, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli; (24) Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana - Università degli Studi di Bari "Aldo Moro"; (25) U.O.C. Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliera "Bianchi-Melacrino-Morelli" di Reggio Calabria; (26) Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute "G. D'Alessandro", Università di Palermo; (27) Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari.

**RotaNet-Italia:
sorveglianza nelle Regioni**

Il 16,1% dei campioni è stato raccolto da pazienti con età compresa tra i 3 e i 5 anni, mentre il 5,4% da pazienti pediatrici con più di 6 anni.

Globalmente il 78,5% delle gastroenteriti acute da rotavirus si è verificato nei bambini inferiori a 3 anni d'età (Tabella 1), in accordo con i dati di letteratura (1, 2).

Il quadro clinico di presentazione dell'infezione è stato più frequentemente di diarrea associata a vomito (54,5%), seguito da sola diarrea (30,9%) o da solo vomito (5,2%); nel 6,3% dei casi il paziente non presentava sintomi clinici riferibili a vomito e/o diarrea, mentre per il 3,1% dei pazienti i sintomi non erano indicati (Tabella 2).

Tabella 1. Distribuzione dei campioni esaminati per fasce d'età (%) (2010-2011)

Età (in anni, a)	Cremona	Lecco	Bergamo	Varese	Totale
< 1a	38,7	12,5	57,1	24	39,8
1<a<2	18,9	12,5	21,4	44	22,6
2<a<3	16,2	25	11,9	20	16,1
3<a ≤5	18,0	50	7,1	12	16,1
>6a	8,1	0	2,4	0	5,4
Totale	100	100	100	100	100
0<a<3	73,9	50	90,5	88	78,5

Tabella 2. Sintomi clinici associati all'infezione (%) (2010-2011)

Sintomo	Cremona	Lecco	Bergamo	Varese	Totale
Diarrea + Vomito	59,5	25	31	80	54,5
Diarrea	20,7	62,5	59,5	20	30,9
Vomito	8,6	0	0	0	5,2
No diarrea né vomito	8,6	12,	2,	0	6,3
Non indicato	2,6	0	7,1	0	3,1

I campioni di feci sono stati raccolti, trattati ed esaminati seguendo il protocollo EuroRotaNet. I risultati delle genotipizzazioni svolte presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) sono riportati nella Tabella 3.

Tabella 3. Risultati delle genotipizzazioni dei rotavirus nei campioni lombardi (2010-2011)

Genotipi		Cremona		Lecco		Bergamo		Varese		Totale	
		n.	%	n.	%	n.	%	n.	%	n	%
Comuni	G1P[8]	71	61,2	7	87,5	28	66,7	23	92,0	129	67,5
	G9P[8]	10	8,6	0	0	1	2,4	0	0	11	5,8
	G4P[8]	10	8,6	0	0	6	14,3	0	0	16	8,4
	G3P[8]	2	1,7	0	0	0	0,0	2	8,0	4	2,1
	G2P[4]	10	8,6	0	0	2	4,8	0	0	12	6,3
	Totale	103	88,8	7	87,5	37	88,1	25	100	172	90,1
Misti	G2,4 P[4][8]	0	0	0	0	1	2,0	0	0	1	0,5
	G1,2 P[4][8]	9	7,8	0	0	4	9,5	0	0	13	6,8
	G1,9 P[8]	2	1,7	0	0	0	0	0	0	2	1,0
	G1,4 P[8]	0	0	1	12,5	0	0	0	0	1	0,5
	Totale	11	9,5	1	13,0	5	12,0	0	0	17	8,9
	G-UD P[8]	2	1,7	0	0	0	0	0	0	2	1
Totale		116	100	8	100	42	100	25	100	191	100

Tutti i campioni di feci sono stati confermati positivi per rotavirus; complessivamente, il 90,1% dei rotavirus (87,5-100%, nei diversi anni) sono risultati essere genotipi comuni, nell'8,9% (0-13%) dei casi sono stati identificati genotipi multipli, mentre l'1% circa (0-2%) dei campioni sono risultati non tipizzabili per il genotipo G (Figura 2).

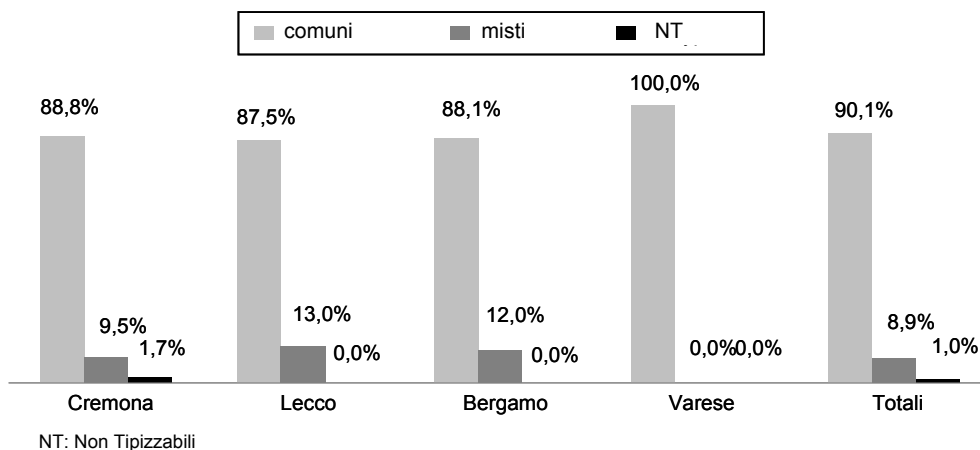


Figura 2. Caratterizzazioni dei genotipi circolanti in Lombardia (stagione 2010-2011)

Per quanto riguarda i genotipi comuni circolanti in Lombardia, la combinazione più frequentemente ritrovata è stata G1P[8] (67,5%; range: 61,2-92%) seguita da G4P[8] (8,4%; range: 0-14,3%), G2P[4] (6,3%; range: 0-8,3%), G9P[8] (5,8%; range: 0-8,6%), e infine G3P[8] (2,1%; range: 0-8%) (Figura 3). Questo ordine di frequenza presenta piccole variazioni se vengono considerate le singole province.

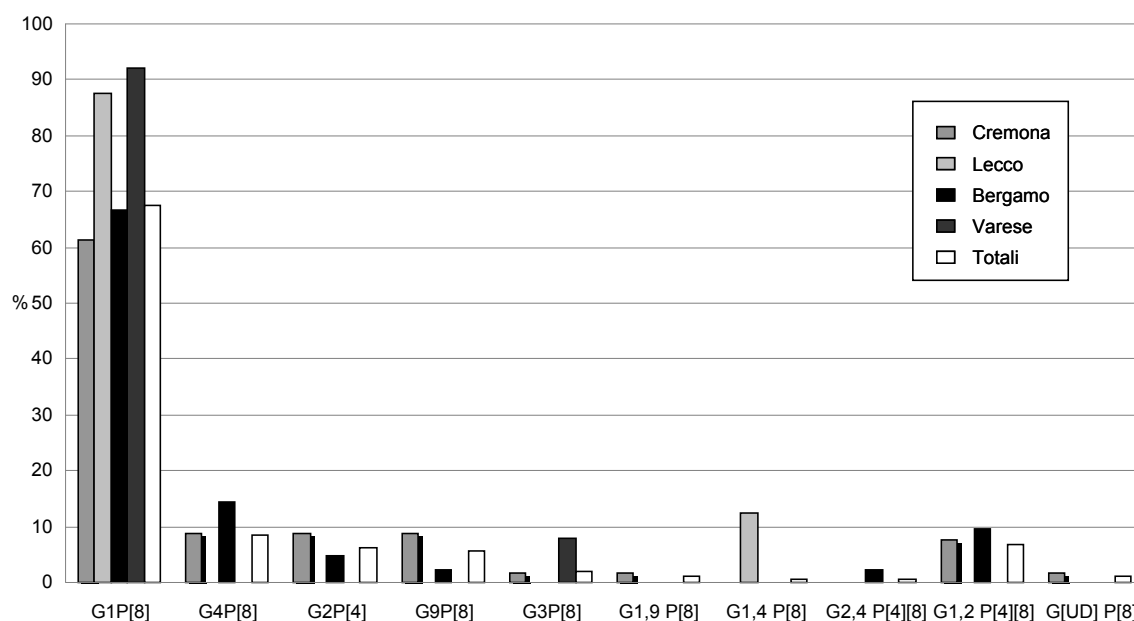


Figura 3. Combinazione dei genotipi circolanti in Lombardia (stagione 2010-2011)

Durante la stagione 2010-2011 non sono stati ritrovati genotipi non comuni, contrariamente a quanto riscontrato in passato (3).

Conclusioni

In previsione dell'introduzione della vaccinazione su larga scala, per la prevenzione dell'infezione da rotavirus appare necessario continuare e implementare la rete di sorveglianza, mirando ad arruolare ospedali-sentinella in tutte le province lombarde. Questo consentirebbe di avere un quadro epidemiologico chiaro e il più possibile veritiero dell'incidenza dell'infezione da rotavirus in età pediatrica in Lombardia. Nel caso in cui la vaccinazione venga introdotta come intervento routinario, sarà opportuno aver una buona rete di sorveglianza al fine di identificare il più precocemente possibile genotipi non comuni emergenti o genotipi selezionati dall'uso del vaccino stesso.

Ringraziamenti

Si ringraziano M.F. Folsi del Presidio Ospedaliero 'A. Manzoni' di Lecco, L. Galli dall'Azienda Ospedaliera di Cremona e tutti i medici sentinella che hanno partecipato al progetto.

Bibliografia

1. Forster J, Guarino A, Perez N, Moraga F, Romàn E, Mory O, Tozzi AE, de Aguelita AL, Whan U, Graham C, Berner R, Ninan T, Barberousse C, Meyer N, Soriano-Gabarrò M. and rotavirus Study Group. Hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis among European children younger than 5 years of age. *Pediatrics* 2009;123:e393-e400.
2. Giaquinto C, van Demm P; REVEAL Study Group. Age of distribution of paediatric rotavirus gastroenteritis case in Europe: the REVAL study. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 2010;42(2):142-7.
3. Ruggeri FM, Delogu R, Petouchoff T, Tcheremenskaia O, De Petris S, Fiore L. Molecular characterization of rotavirus strains from children with diarrhea in Italy, 2007-2009. *Journal of Medical Virology* 2011;83(9):1657-68.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN LOMBARDIA

Laura Pellegrinelli (a), Monia Gambino (a), Laura Bubba (a), Valeria Primache (a), Sandro Binda (a), Claudio Farina (b), Carla Sturla (c)

(a) Dipartimento di Sanità Pubblica - Microbiologia - Virologia, Università degli Studi di Milano, Milano

(b) Unità Struttura Complessa Microbiologia e Virologia, Ospedale Riuniti di Bergamo, Bergamo

(c) Laboratorio Microbiologia, Azienda Ospedaliera "S. Antonio Abate" di Gallarate, Gallarate (VA)

Introduzione

La Regione Lombardia partecipa all'attività di sorveglianza delle infezioni da rotavirus dal 2008. Per quanto riguarda la stagione 2010-2011, compresa tra settembre 2010 e agosto 2011, gli ospedali sentinella lombardi partecipanti alla rete di sorveglianza sono stati 4, distribuiti nelle province di Cremona, Lecco, Bergamo e Varese.

Sono stati raccolti 191 campioni di feci provenienti da bambini con sintomi riconducibili all'infezione da rotavirus e risultati positivi con test rapidi per l'agente eziologico: di questi il 61% (116 campioni) provenivano dall'Azienda Ospedaliera di Cremona (Presidio Cremona-POC e Presidio Oglio Po-POOC), il 4% (8 campioni) dal Presidio Ospedaliero 'A. Manzoni' di Lecco, il 22% (42 campioni) dall'Ospedale Riuniti di Bergamo e il 13% (25 campioni) dall'Azienda Ospedaliera S. Antonio Abate di Gallarate, in provincia di Varese (Figura 1).

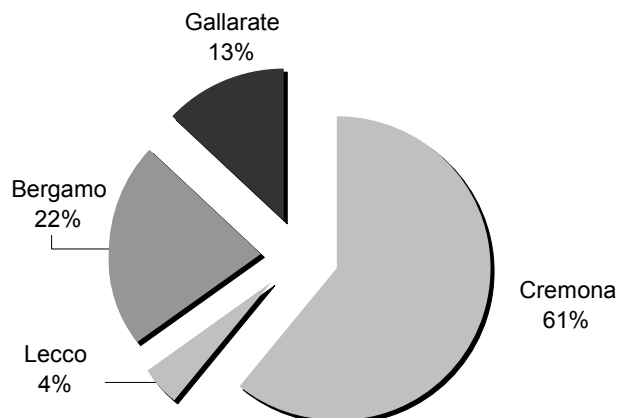


Figura 1. Distribuzione dei campioni esaminati nella stagione 2010-2011

Risultati

L'età dei pazienti in esame è stata segnalata nel 97% dei casi. Il 39,8% delle infezioni si è verificato nei bambini sotto il primo anno di età, il 22,6% e il 16,1% rispettivamente nei bambini di uno e due anni.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN PIEMONTE

Anna Mignacca (a), Maria Natalia Contarini (a), Rosella Bruno (b)

(a) Laboratorio analisi - settore Microbiologia, Ospedale Maggiore di Chieri, ASLTO5, Torino

(b) Struttura Sanitaria Microbiologia, Ospedale Maggiore di Chivasso, ASLT04, Torino

Introduzione

In Piemonte la sorveglianza molecolare dei rotavirus viene svolta da due Aziende Sanitarie Locali (ASL): la ASL TO4 e ASL TO5.

L'ASL TO5 di Chieri, Moncalieri-Nichelino e Carmagnola comprende 40 comuni, suddivisi in 4 distretti sanitari (il distretto di Chieri è il più grande). La nuova Azienda risponde ai bisogni di salute di circa 309.742 residenti. Chieri, in provincia di Torino, ha più di trentaseimila abitanti, sorge ai piedi delle colline di Superga, alla destra dell'alto corso del Po. La popolazione del Distretto di Chieri è pari a 102.000 abitanti, e i bambini tra 0-5 anni sono circa 5788; i nuovi nati nell'anno 2011 sono stati 759 (Figura 1).

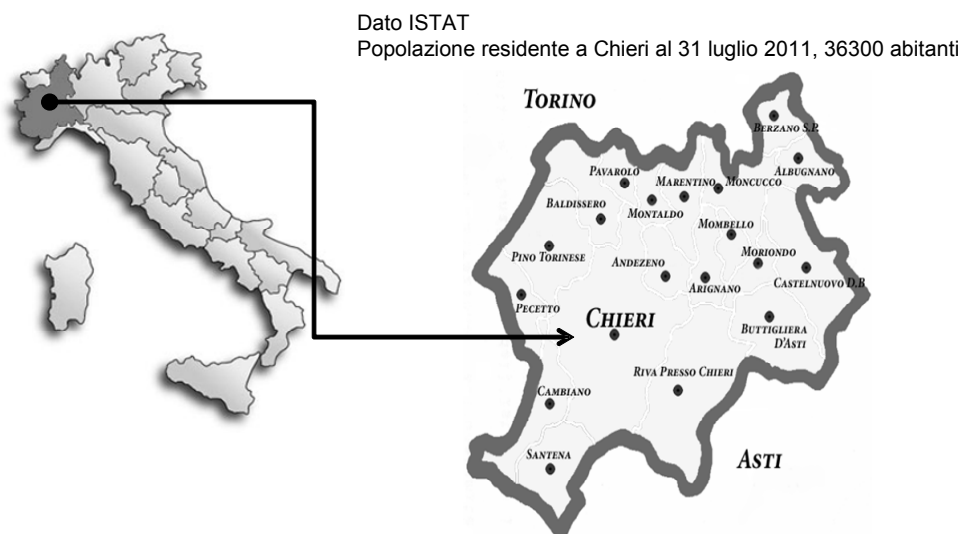


Figura 1. Distretto di Chieri (ASL TO5), ISTAT 2011

L'ASL TO4, di Ciriè, Chivasso e Ivrea, si estende dalla cintura torinese verso la Valle d'Aosta nella zona a nord e verso la Francia nella zona a ovest, e comprende 177 comuni, ai quali si aggiunge la frazione Rivodora del comune di Baldissero Torinese, suddivisi in 6 distretti sanitari. La nuova Azienda risponde ai bisogni di salute di circa 516.000 residenti. Nel 2011, nell'ospedale di Chivasso sono nati 1197 bimbi.

Chivasso è il centro principale del basso Canavese, la città sorge 23 chilometri a nord-est del capoluogo di provincia, Torino, con 24.572 abitanti; i bambini 0 - 5 anni sono 1457, e i nuovi nati nell'anno 2011 pari a 1197.

L'attività di sorveglianza dell'infezione da rotavirus nella città di Chieri è stata condotta a partire dal 2008. A partire dallo stesso anno, la richiesta totale di tale diagnostica nello stesso presidio è stata il doppio rispetto agli anni successivi, mentre il numero dei positivi si è mantenuto pressoché costante negli anni.

Risultati

Nel periodo dal 1° settembre 2010 al 31 agosto 2011, sono state ricevute 508 richieste per la ricerca di virus intestinali-rotavirus; relativamente ai ricoverati compresi nella fascia di età 0-5, il reparto di pediatria ha inviato al laboratorio 206 campioni. Tra questi, i campioni positivi sono risultati essere in totale 103, e di questi 56 sono stati inviati e prelevati dai ricoverati in pediatria. Il sesso maschile è risultato quello più colpito, i sintomi erano prevalentemente diarrea accompagnata da vomito e febbre $> 38^{\circ}\text{C}$.

Per problemi organizzativi, il laboratorio di Chieri ha tuttavia inviato all'Istituto Superiore di Sanità di Roma nello stesso periodo solo 33 campioni per la tipizzazione. I genotipi maggiormente rappresentati sono stati G1P[8] e G9P[8] (Figura 2).

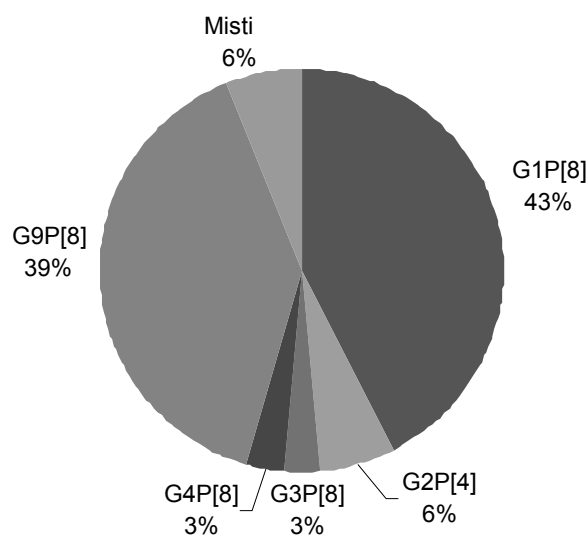


Figura 2. Genotipi di rotavirus nel distretto di Chieri (stagione 2010-2011)

Dal 29 maggio del 2010, grazie alla collaborazione della Dott.ssa Rosella Bruno, partecipa allo studio anche la Microbiologia dell'ASLTO4, sede di Chivasso. Nel periodo dal 1° settembre 2010 al 31 agosto 2011, le richieste per la ricerca di rotavirus sono state 272; sono stati esaminati 70 campioni dal reparto di pediatria, relativi ai ricoverati compresi nella fascia di età 0-5. I campioni positivi sono stati 26, con una percentuale di positività pari al 37% (12% dei campioni di pazienti non ricoverati). I campioni inviati per la tipizzazione dal laboratorio di Chivasso sono stati 21, equamente distribuiti tra i sessi (11 femmine e 10 maschi); i sintomi

sono stati 47% diarrea con vomito e 52% solo diarrea. Il genotipo G1P[8] è risultato essere il più rappresentato anche in questa parte del Piemonte (Figura 3).

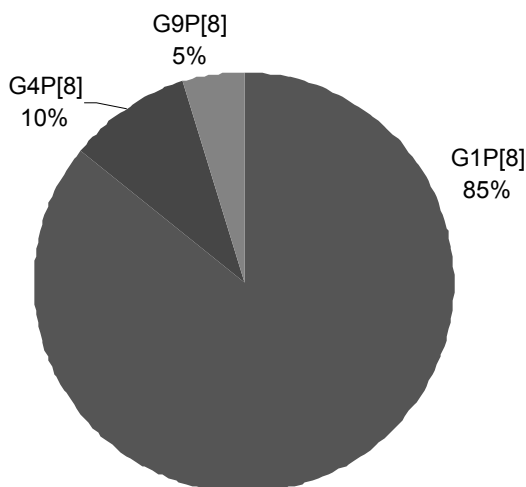


Figura 3. Genotipi di rotavirus nel distretto di Chivasso (stagione 2010-2011)

Nella Figura 4 vengono riportati i dati relativi alla genotipizzazione di entrambi i distretti.

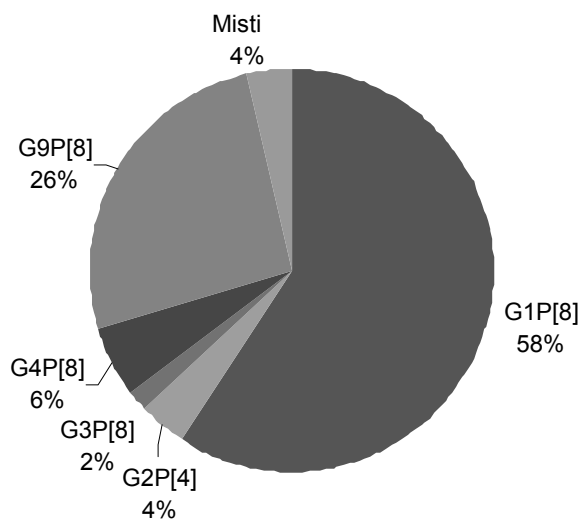


Figura 4. Totale dei genotipi presenti nei distretti Chieri e Chivasso (stagione 2010-2011)

Nell'ottica di estendere l'adesione a un numero maggiore di ASL piemontesi, nel mese di maggio 2012 la Dott.ssa Fiore, il Dott. Ruggeri e altri membri della équipe dell'Istituto Superiore di Sanità sono stati invitati dal SEREMI (SErvizio di Riferimento regionale di Epidemiologia per la sorveglianza, la prevenzione e il controllo delle Malattie Infettive) di Alessandria (Dott.ssa Lombardi) a Torino, dove hanno mostrato i dati Europei e Italiani sull'incidenza dei rotavirus, rimarcando l'importanza di monitorarne la diffusione sul territorio

sia a livello regionale che nazionale ed Europeo. È auspicabile che, con il coordinamento del SEREMI, tutti i laboratori presenti a quella giornata informativa-formativa risponderanno in modo positivo, attivandosi per rafforzare la collaborazione della rete regionale con l'Istituto Superiore di Sanità di Roma.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN VENETO

Francesca Russo, Francesca Zanella

Direzione Prevenzione, Servizio di Epidemiologia e Sanità Pubblica, Regione Veneto, Venezia

Introduzione

L'attività di sorveglianza dell'infezione da rotavirus nella Regione Veneto è iniziata a ottobre 2007.

Il presente report prende in esame il periodo che va da settembre 2010 ad agosto 2011.

La sorveglianza coinvolge i bambini di età compresa tra 0 e 5 anni, ospedalizzati per gastroenterite acuta, per ognuno dei quali viene raccolto un campione di feci in fase acuta. I campioni vengono esaminati localmente mediante test in uso per la routine diagnostica.

I campioni risultati positivi alla ricerca del rotavirus vengono raccolti e inviati secondo adatte modalità di conservazione all'Istituto Superiore di Sanità di Roma, insieme a una scheda informativa sui dati anagrafici e clinici del paziente.

Una copia della scheda viene inviata dal Reparto di pediatria anche al Servizio Sanità Pubblica e Screening della Regione, che coordina l'attività di sorveglianza.

I Reparti di pediatria delle diverse Unità Locali Socio-Sanitarie (ULSS) che hanno aderito al progetto nel periodo 2010-2011 sono stati 7. La Figura 1 mostra la distribuzione geografica delle ULSS e campioni raccolti. Nella Tabella 1 sono evidenziate le strutture partecipanti e il numero di campioni inviati.

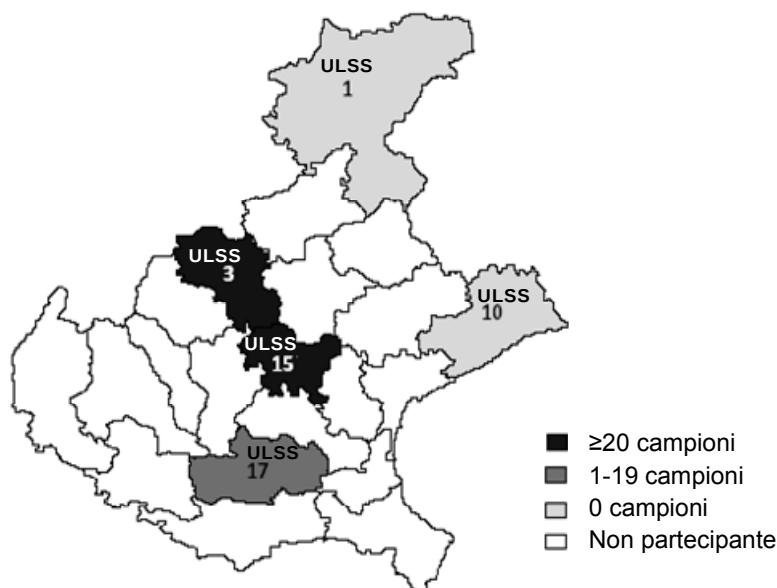


Figura 1. ULSS partecipanti al progetto e numero di campioni inviati (stagione 2010-2011)

Tabella 1. Laboratori partecipanti e n. campioni inviati (stagione 2010-2011)

Laboratorio partecipanti	ULSS di appartenenza	n. campioni
1. Belluno	ULSS 1	0
2. Bassano del Grappa	ULSS 3	31
3. Portogruaro	ULSS 10	0
4. San Donà di Piave	ULSS 10	0
5. Camposampiero	ULSS 15	28
6. Cittadella	ULSS 15	23
7. Monselice	ULSS 17	20
Totale		102

I dati delle schede di segnalazione che pervengono mensilmente in Regione vengono inseriti in un database per consentire il monitoraggio sull'andamento epidemiologico.

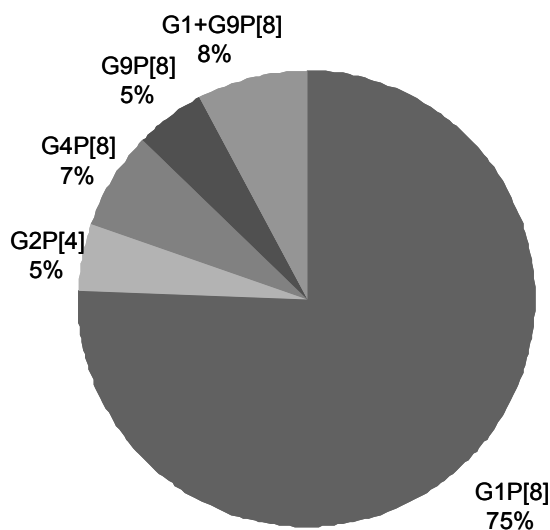
Nel primo mese di avvio dell'attività sono sorti alcuni problemi quali:

- raccolta dei campioni e loro conservazione, procedura di invio, numerazione e identificazione dei campioni.
- consenso informato dei genitori per la raccolta del campione.

È stata quindi inviata una nota regionale esplicativa a tutti i referenti.

Risultati

Dai risultati della tipizzazione, eseguita dall'Istituto Superiore di Sanità di Roma sui campioni di rotavirus inviati, il genotipo dominante è stato il G1P[8] con il 75%, e le percentuali dei diversi genotipi evidenziati sono illustrate in Figura 2.

**Figura 2. Distribuzione dei diversi genotipi di rotavirus (stagione 2010-2011)**

Conclusioni

I risultati raggiunti nel corso della stagione 2010-2011 sono soddisfacenti, ma si rende necessario in futuro il coinvolgimento di altri Reparti di pediatria per consentire il raggiungimento di un maggior numero di campioni per avere un quadro epidemiologico più chiaro dell'incidenza dell'infezione da rotavirus nel Veneto.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN EMILIA-ROMAGNA (AREA DI PARMA)

Maria Cristina Medici, Fabio Tummolo, Paola Guerra, Carlo Chezzi, Adriana Calderaro
Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Parma, Parma

Introduzione

Nell'ambito del programma di sorveglianza sulla circolazione dei genotipi di rotavirus (RV) nell'area di Parma, sono stati genotipizzati 97 ceppi virali circolanti nel periodo settembre 2010 – agosto 2011, identificati a scopo diagnostico con microscopia elettronica e agglutinazione al lattice (Diarlex Rota, Orion Diagnostica, Espoo, Finland) presso l'Unità Operativa di Virologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma dalle feci di soggetti (95 bambini e 2 adulti) con enterite afferenti alla stessa Azienda, seguendo protocolli già descritti (1, 2). La genotipizzazione G e P di RV sugli acidi nucleici estratti è stata condotta seguendo metodi standardizzati di RT-PCR (*Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction*) per l'amplificazione dei geni VP4 (nt 21-1062) e VP7 (nt 85-1011) mediante primer "consensus" e successive multiplex PCR con primer tipo-specifici (3).

Risultati

La prevalenza di infezione da RV calcolata su 613 bambini con enterite è stata del 15,9% (95 casi). RV è stato rilevato da solo in 83 casi (87,4%) e in associazione con norovirus in 9 casi (9,5%) e con adenovirus in 3 casi (3,2%). La distribuzione mensile delle prevalenze ha dimostrato che il periodo epidemico dell'infezione è stato tra novembre 2010 e aprile 2011, con il picco nel mese di gennaio (41,4%: 29 su 70 casi) (Figura 1).

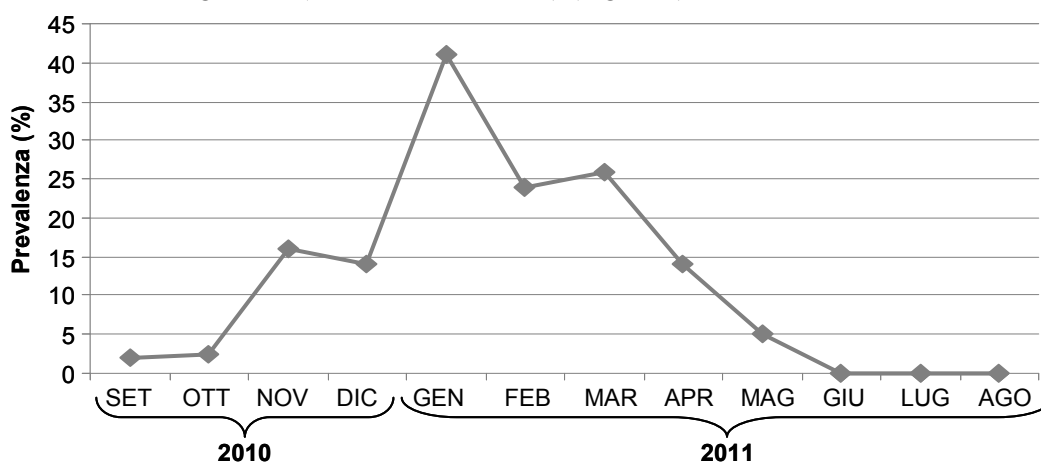


Figura 1. Distribuzione mensile delle prevalenze d'infezione da rotavirus in 613 bambini con enterite (area di Parma, settembre 2010-agosto 2011)

L'83,2% (79 su 95) dei casi di infezione da RV in età pediatrica aveva meno di 3 anni (Figura 2).

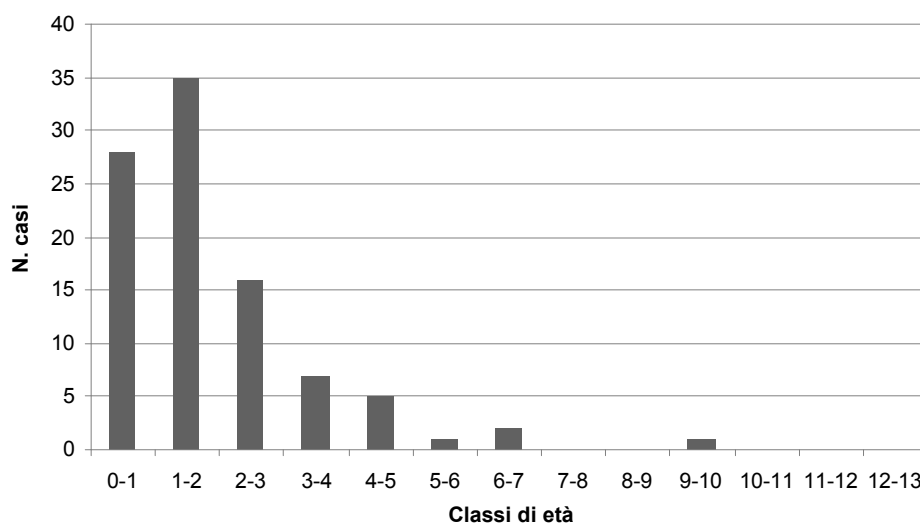


Figura 2. Distribuzione per classi d'età di 95 bambini con enterite e positivi per rotavirus nelle feci (area di Parma, settembre 2010-agosto 2011)

La genotipizzazione G e P dei ceppi di RV rilevati ha dimostrato che si trattava nel 96,9% (94 ceppi) di RV G1P[8], 1,0% (1 ceppo) di RV G3P[8] e 2,1% (2 ceppi) di RV con specificità G multipla associata a P[4] (1 caso) e P[8] (1 caso) (Figura 3).

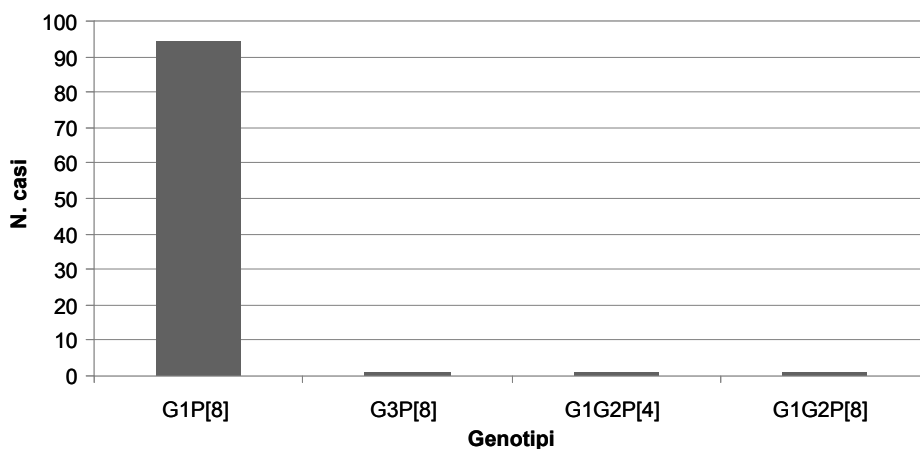


Figura 3. Distribuzione dei genotipi di rotavirus identificati nell'area di Parma in soggetti con enterite (area di Parma, settembre 2010-agosto 2011)

Conclusioni

La sorveglianza dell'infezione da RV nell'area di Parma nel periodo settembre 2010-agosto 2011 ha dimostrato una prevalenza nei bambini con enterite del 15,9%, più alta rispetto a quella

osservata nelle stagioni precedenti (13,1%: 81 su 617 bambini esaminati nella stagione 2008/2009; 13,1%: 88 su 673 bambini esaminati nella stagione 2009-2010).

Lo studio epidemiologico-molecolare dei genotipi di RV circolanti ha evidenziato l'elevata prevalenza del genotipo G1P[8] (96,9%), che risulta in aumento (40,7%: 33 su 81, 2008/2009 e 64,8%: 57 su 88, 2009/2010) a confronto con i dati acquisiti nelle stagioni precedenti, e ne conferma la costante predominanza rispetto agli altri genotipi circolanti osservati nella stessa area nei periodi 1987-1990 (55,4%) (4), 2004-2005 (61,3%), in campo nazionale nel periodo 2007-2009 (3) e in genere nel resto del mondo negli ultimi decenni (5-8). Inoltre, dalle indagini condotte sembra che, oltre a RV G1P[8], nel periodo considerato siano circolati nell'area di Parma solo RV G3P[8] (1,0%), e sporadicamente ceppi con specificità G multipla (2,7%).

È verosimile che la persistenza della circolazione dei ceppi di RV G1P[8] trovi ragione nell'eterogeneità genetica e antigenica intragenotipica osservata per i ceppi di specificità G1 e risultante dalla comparsa di diversi lignaggi e sub-lignaggi (9-11). Tuttavia più recentemente sembra avvalorata l'ipotesi che la circolazione dei ceppi G1P[8] non correli con modificazioni nucleotidiche sul gene VP7, ma piuttosto che essa sia da associare a cambiamenti delle sequenze di lignaggio P[8]-III del gene VP4 e che le sequenze P[8]-III siano sottoposte a progressivi fenomeni di drift genetico. Il successo di questo meccanismo evolutivo troverebbe conferma in questo studio nella dimostrazione di un aumento della prevalenza d'infezione da RV nel periodo settembre 2010-agosto 2011, quando hanno circolato quasi esclusivamente ceppi con specificità P[8], rispetto ai bienni precedenti, nei quali hanno circolato in percentuali non trascurabili anche RV con specificità VP4 diversa (2008/2009: 11,1% P[4], 8,6% P[4]P[6], 2,5% P[14], 2,3% P[6]P[8]; 2009/2010: 2,3% P[4], 1,1% P[6]).

Bibliografia

1. Whitby HJ, Rodgers FG. Detection of virus particles by electron microscopy with polyacrylamide hydrogel. *Journal of Clinical Pathology* 1980;33:484-7.
2. Medici MC, Martinelli M, Abelli LA, Ruggeri FM, Di Bartolo I, Arcangeletti MC, Pinardi F, De Conto F, Izzi G, Bernasconi S, Chezzi C, Dettori G. Molecular epidemiology of norovirus infections in sporadic cases of viral gastroenteritis among children in Northern Italy. *Journal of Medical Virology* 2006;78: 1486-92.
3. Ruggeri FM, Delogu R, Petouchoff T, Tcheremenskaia O, De Petris S, Fiore L; RotaNet-Italy Study Group. Molecular characterization of rotavirus strains from children with diarrhea in Italy, 2007-2009. *Journal of Medical Virology* 2011;83:1657-68.
4. Medici MC, Abelli LA, Martella V, Martinelli M, Lorusso E, Buonavoglia C, Dettori G, Chezzi C. Characterization of inter-genogroup reassortant rotavirus strains detected in hospitalized children in Italy. *Journal of Medical Virology* 2007;79:1406-12.
5. Gentsch JR, Laird AR, Bielfelt B, Griffin DD, Ba'nyai K, Ramachandran M, Jain V, Cunliffe NA, Nakagomi O, Kirkwood CD, Fischer TK, Parashar UD, Bresee JS, Jiang B, Glass RI. Serotype diversity and reassortment between human and animal rotavirus strains: Implications for rotavirus vaccine programs. *Journal of Infectious Diseases* 2005;192: S146-S159.
6. Santos N, Hoshino Y. Global distribution of rotavirus serotypes/ genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. *Reviews in Medical Virology* 2005;15:29-56.
7. Cortes J, Arvelo W, Lopez B, Reyes L, Kerin T, Gautam R, Patel M, Parashar U, Lindblade KA. Rotavirus disease burden among children <5 years of age - Santa Rosa, Guatemala, 2007-2009. *Tropical Medicine and International Health* 2012;17:254-9.

8. Ferreira MS, Xavier Mda P, Tinga AC, Rose TL, Fumian TM, Fialho AM, de Assis RM, Carvalho Costa FA, de Oliveira SA, Leite JP, Miagostovich MP. Assessment of gastroenteric viruses frequency in a children's day care center in Rio De Janeiro, Brazil: a fifteen year study (1994-2008). *PLoS One* 2012;7:e33754.
9. Diwakarla CS, Palombo EA. Genetic and antigenic variation of capsid protein VP7 of serotype G1 human rotavirus isolates. *Journal of General Virology* 1999;80:341-4.
10. Arista S, Giammanco GM, De Grazia S, Ramirez S, Lo Biundo C, Colomba C, Cascio A, Martella V. Heterogeneity and temporal dynamics of evolution of G1 human rotaviruses in a settled population. *Journal of Virology* 2006;80:10724-33.
11. de Rougemont A, Kaplon J, Lebon P, Huet F, Denis F, Alain S, Fourcade L, Grosjean J, El-Hajje MJ, Gendrel D, Pothier P. Unexpected substitution of dominant rotavirus G genotypes in French hospitalized children over five consecutive seasons. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2009;28:403-7.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN EMILIA-ROMAGNA (AREA DI PIACENZA)

Paola Affanni, Maria Luisa Tanzi

Dipartimento di Scienze Biomediche, Biotecnologiche e Traslazionali, Università degli Studi di Parma, Parma

Introduzione

Nell'ambito del programma di sorveglianza sulla circolazione dei genotipi di rotavirus (RV), presso la sezione di Igiene del dipartimento di Sanità Pubblica dell'Università degli Studi di Parma sono stati caratterizzati 15 ceppi di RV, rilevati mediante Diarlex Rota (Orion Diagnostica, Espoo, Finland) dalle feci di soggetti (14 bambini e 1 adulto) con enterite afferenti all'Azienda USL di Piacenza (Presidi ospedalieri di Fiorenzuola d'Arda e Piacenza) nel periodo settembre 2010 - agosto 2011. Il 92,9% (13 su 14) dei casi di infezione da RV in età pediatrica aveva meno di 3 anni (Figura 1).

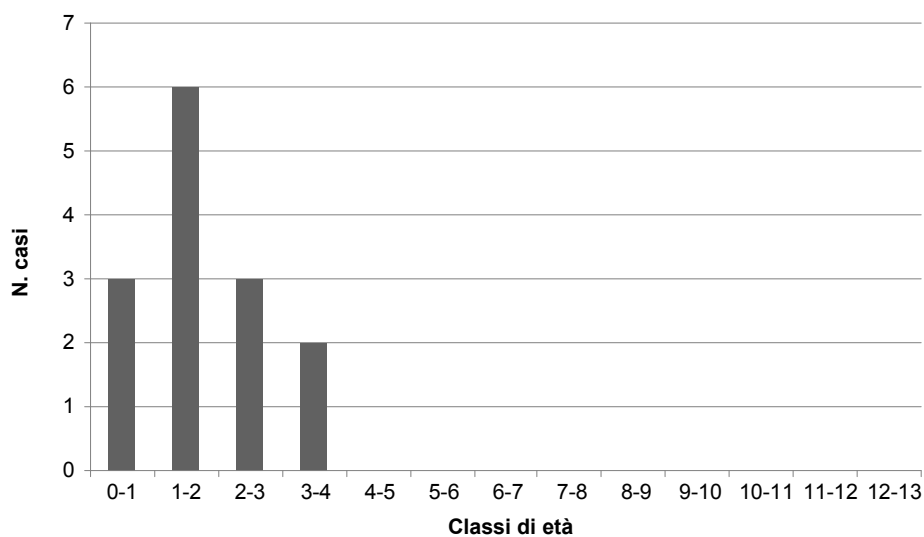


Figura 1. Distribuzione per classi d'età di 14 bambini con enterite e positivi per rotavirus nelle feci (area di Piacenza, settembre 2010-agosto 2011)

Risultati

La genotipizzazione G e P dei ceppi di RV rilevati, condotta seguendo metodi standardizzati di RT-PCR per l'amplificazione dei geni VP4 e VP7 (1), ha dimostrato che si trattava nel 53,3% (8 ceppi) di RV G1P[8], 40% (6 ceppi) di RV G4P[8] e 6,7% (1 caso) di RV G4G9P[8] (Figura 2).

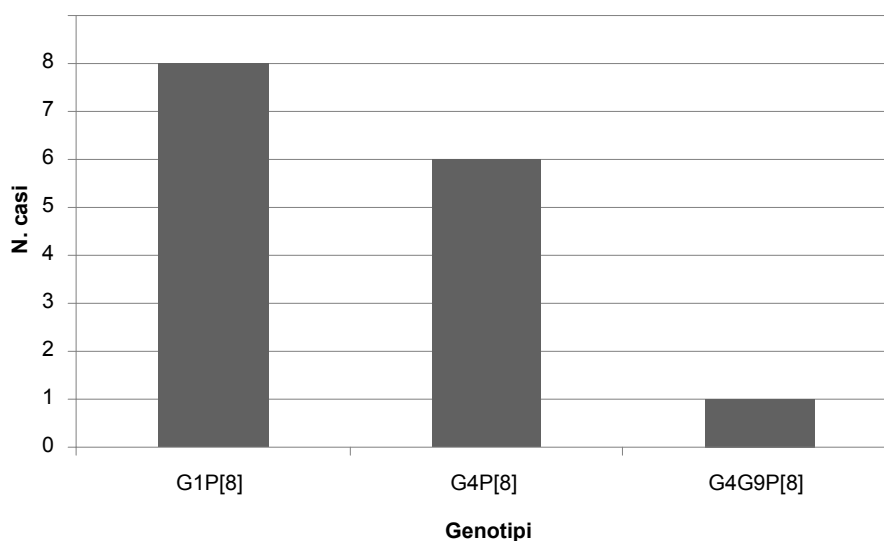


Figura 2. Distribuzione dei genotipi di rotavirus identificati in soggetti con enterite (area di Piacenza, settembre 2010-agosto 2011)

Sebbene nel periodo di sorveglianza 2010-2011 nell'area di Piacenza il numero di campioni prelevati da bambini con gastroenterite sottoposti a genotipizzazione sia stato ridotto, i risultati conseguiti dimostrano la circolazione esclusiva in questa area di ceppi di specificità P[8], e confermano la circolazione prevalente dei ceppi con specificità P[8] associata a G1.

Bibliografia

1. Ruggeri FM, Delogu R, Petouchoff T, Tcheremenskaia O, De Petris S, Fiore L. Molecular characterization of rotavirus strains from children with diarrhea in Italy, 2007-2009. *Journal of Medical Virology* 2011;83(9):1657-68.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN EMILIA-ROMAGNA (AREA DI BOLOGNA)

Liliana Gabrielli, Giulia Piccirilli, Francesca Bellini, Tiziana Lazzarotto
Unità Operativa Microbiologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna - Policlinico "S. Orsola-Malpighi", Bologna

Introduzione

Dal 2008, il laboratorio di virologia all'interno dell'Unità Operativa Microbiologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Policlinico S. Orsola-Malpighi svolge la funzione di Centro di Riferimento per la Regione Emilia-Romagna nell'attività di sorveglianza delle infezioni da rotavirus in Italia. Il lavoro del Centro di Riferimento regionale si basa sulla raccolta di campioni di feci provenienti da bambini ricoverati nei reparti di pediatria e neonatologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Policlinico S. Orsola-Malpighi, risultati positivi per rotavirus con il test diagnostico di routine (test rapido immunocromatografico). I campioni vengono successivamente inviati all'Istituto Superiore di Sanità, per la genotipizzazione.

Risultati

Dal 1° settembre 2010 al 31 agosto 2011, sono pervenuti al Laboratorio di Virologia, Policlinico S. Orsola-Malpighi di Bologna, 1632 campioni di feci per la ricerca di rotavirus di pazienti pediatrici con enterite ricoverati presso il Policlinico. I campioni di feci risultati positivi alla ricerca dell'antigene di rotavirus, mediante test rapido immunocromatografico, sono stati 156 (9,5%). Il 39% dei campioni positivi proveniva da bambini con età inferiore all'anno di vita, il 31% da bimbi di età compresa tra 1 e 2 anni, il 17% da bimbi con età compresa tra 2 e 3 anni, e il 13% da bimbi con età compresa tra 3 e 5 anni. È da sottolineare che 5 campioni positivi per rotavirus provenivano da prematuri con meno di un mese di vita e ricoverati nel reparto di Neonatologia. Questi neonati presentavano alterazioni dell'alvo e delle caratteristiche delle feci.

I campioni positivi sono stati riscontrati in tutti i mesi presi in considerazione, con un picco di positività nel mese di marzo 2011 (Figura 1).

Dei 156 campioni di feci raccolti nel periodo considerato, 140 sono stati inviati all'Istituto Superiore di Sanità per la genotipizzazione. Le due proteine capsidiche esterne virali VP4 e VP7 vengono sfruttate per la genotipizzazione secondo uno schema binario, per cui ogni rotavirus viene identificato con un G-tipo e un P-tipo. Per quanto riguarda la genotipizzazione G (Figura 2a), la maggior parte dei campioni risultava avere un genotipo G1 (50%), mentre il genotipo G9 è stato riscontrato nel 22,8% dei campioni, e quelli G4 e G2 nel 4,4% e 3,6%, rispettivamente. Nel 17,8% dei casi si è evidenziato un genotipo G misto, con presenza di G1 e G2 (1,4%), G1 e G9 (12,8%), G2 e G4 (2,2%) e G4 e G9 (1,4%). In due casi, i campioni sono risultati non tipizzabili. Per la genotipizzazione P (Figura 2b), si è osservata una netta prevalenza di rotavirus con genotipo P[8] (92,8%). Il genotipo P[4] è stato evidenziato nel 3,6% dei campioni e nel 3,6% dei casi sono risultati contemporaneamente presenti i genotipi P[4] e P[8].

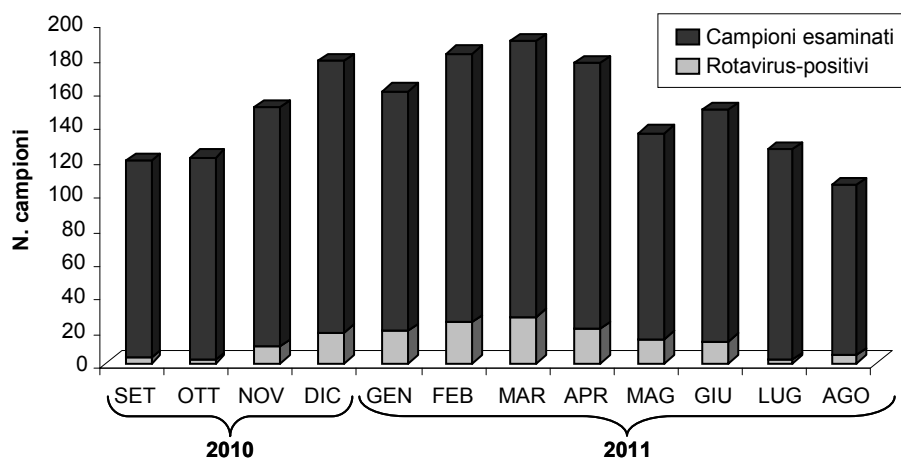


Figura 1. Distribuzione dei campioni rotavirus positivi da settembre 2010 ad agosto 2011

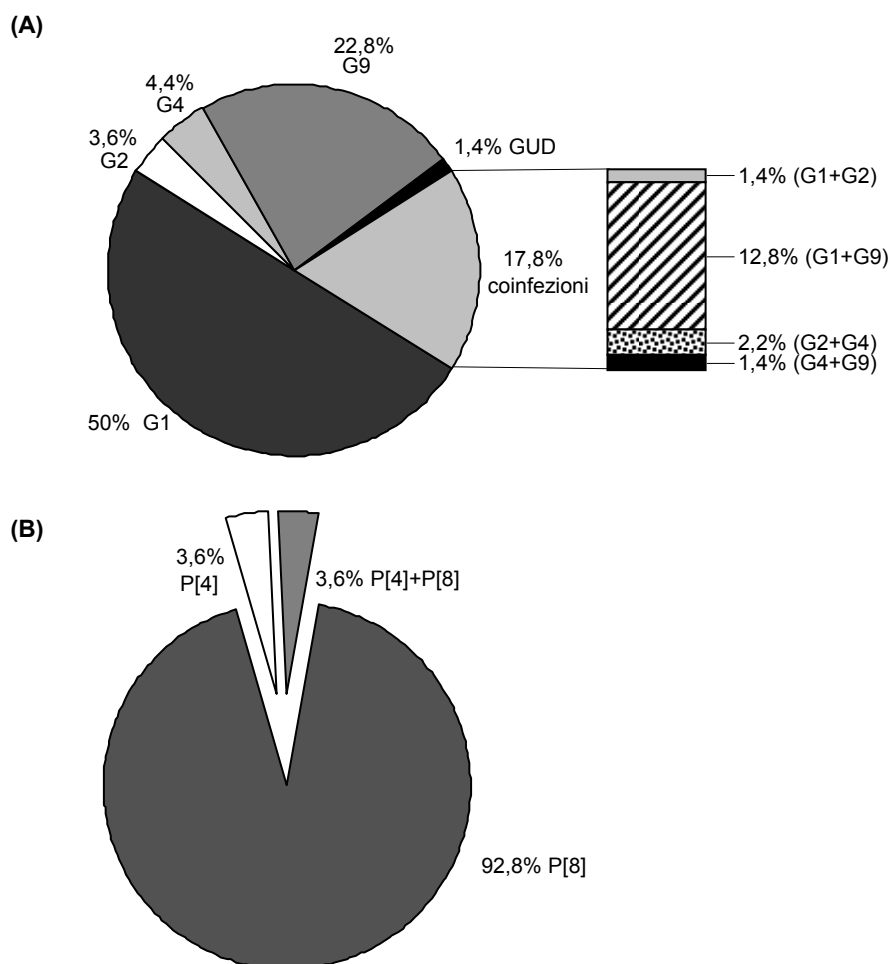


Figura 2. Genotipizzazione G (A) e P (B) dei 140 campioni rotavirus-positivi esaminati

Nella Tabella 1 sono riportati i dati relativi alla genotipizzazione secondo la classificazione binaria in genotipi G e P, usata a livello internazionale.

Nella maggior parte dei campioni (80,7%) si è evidenziata la presenza di singoli genotipi G e P appartenenti ai genotipi più comunemente diffusi a livello mondiale. In particolare, i virus con genotipo G1P[8] sono stati quelli più frequentemente presenti (50%), seguiti da quelli con genotipo G9P[8] (22,8%), G4P[8] (4,3%) e G2P[4] (3,6%). In nessun caso è stato identificato il genotipo G3P[8]. Nel 17,8% dei casi sono state evidenziate infezioni miste. In due casi i campioni sono risultati non tipizzabili per il genotipo G.

Tabella 1. Combinazioni G[P] riscontrate nei 140 campioni di feci rotavirus-positivi

Genotipi	Combinazioni	N. (%)	Totale
Comuni	G1P[8]	70 (50)	113/140 (80,7)
	G9P[8]	32 (22,8)	
	G4P[8]	6 (4,3)	
	G2P[4]	5 (3,6)	
Misti	G1+G9 P[8]	18 (12,8)	25/140 (17,8)
	G2+G9 P[4]+P[8]	3 (2,1)	
	G1+G2 P[4]+P[8]	2 (1,4)	
	G4+G9 P[8]	2 (1,4)	
Non tipizzabili	G-UD P[8]	2 (1,4)	2/140 (1,4)

Conclusioni

Nella stagione 2010-2011, il Centro di Riferimento per l'Emilia Romagna per l'attività di sorveglianza delle infezioni da rotavirus ha inviato all'Istituto Superiore di Sanità 140 campioni di feci risultati positivi alla ricerca di rotavirus mediante test rapido immunocromatografico. I campioni provenivano da bambini con enterite ricoverati nei reparti di Neonatologia e Pediatria dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Policlinico S. Orsola-Malpighi. La maggior parte dei campioni positivi (61 campioni) proveniva da bambini di età inferiore all'anno di vita tra cui, in 5 casi, da pazienti prematuri di età inferiore al mese di vita.

Si è osservata una co-circolazione di rotavirus diversi, con una prevalenza di virus con genotipo G1P[8], presente nel 50% dei casi. Abbiamo osservato un'importante circolazione anche del genotipo G9P[8], presente nel 22,8% dei casi, a conferma dei dati di letteratura che riportano come tale genotipo sia totalmente adattato all'ospite umano, rappresentando uno dei genotipi predominanti circolanti in tutto il mondo.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN TOSCANA

Chiara Lorini, Emilia Tiscione, Guglielmo Bonaccorsi, Nicola Comodo
e il gruppo di referenti ospedalieri e di laboratorio*

Dipartimento di Sanità Pubblica, Università degli Studi di Firenze, Firenze

Introduzione

Il Dipartimento di Sanità Pubblica dell'Università degli Studi di Firenze partecipa all'attività di sorveglianza delle infezioni da rotavirus dal 2007, come centro di coordinamento dell'attività di sorveglianza in Toscana. Le attività condotte sono in linea con il progetto nazionale, ovvero la segnalazione, con apposita scheda, dei bambini di età compresa tra 0-5 anni ospedalizzati per gastroenterite acuta con feci positive, in fase acuta, e l'invio dei rispettivi campioni al laboratorio dell'Istituto Superiore di Sanità di Roma per la genotipizzazione.

Con l'avvio del progetto, è emersa la necessità di costituire una rete di referenti nelle Aziende Sanitarie (ASL) e nelle Aziende Ospedaliere-Universitarie (AOU) toscane per la segnalazione dei casi e per la raccolta e conservazione dei rispettivi campioni di feci. Pertanto, nel 2007 sono state condotte le seguenti attività preliminari:

- individuazione dei responsabili dei reparti di pediatria di tutti gli ospedali toscani e richiesta di collaborazione al progetto;
- individuazione dei responsabili dei laboratori ospedalieri delle ASL/AOU di afferenza dei reparti di pediatria, i cui responsabili hanno comunicato la loro adesione al progetto e richiesta di partecipazione al progetto.

È stata pertanto costituita una doppia rete di sorveglianza (Figura 1).

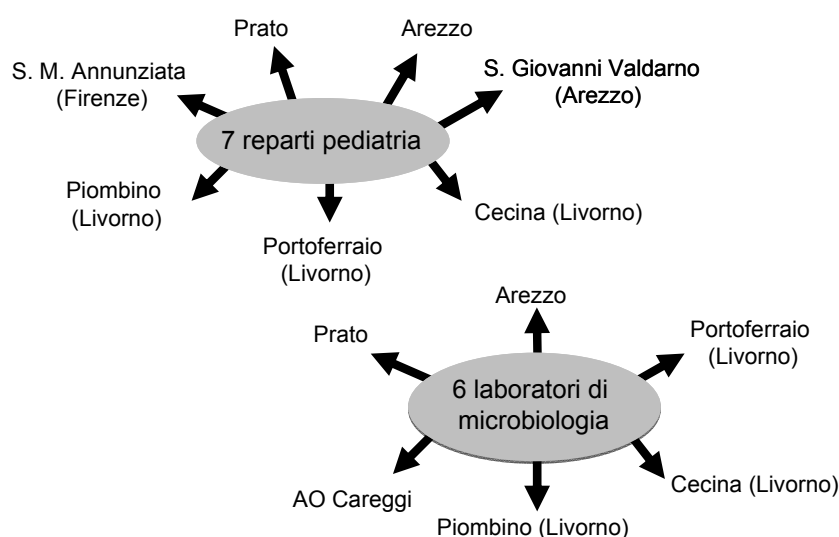


Figura 1. La doppia rete di sorveglianza delle infezioni da rotavirus in Toscana

Questa doppia rete si articola in quella dei reparti di pediatria degli ospedali toscani, per la segnalazione di casi e la compilazione della relativa scheda, e quella dei laboratori di microbiologia, per la raccolta e la conservazione dei campioni di feci positive a rotavirus di bambini che rispondono ai criteri di inclusione nella sorveglianza. Hanno aderito al progetto i responsabili di 7 reparti di pediatria e di 6 laboratori di microbiologia clinica collocati in altrettanti ospedali toscani.

Nel laboratorio di microbiologia dell'ospedale di Arezzo vengono analizzati i campioni inviati dai reparti dell'ospedale di Arezzo e da quelli dell'ospedale di S. Giovanni Valdarno, in quello dell'AOU i campioni inviati da tutti gli ospedali della ASL di Firenze (S.M. Annunziata, S.M. Nuova, S. Giovanni di Dio, Serristori, Mugello). Nei restanti laboratori vengono analizzati i campioni inviati dai rispettivi ospedali.

L'attività di sorveglianza viene portata avanti seguendo tre differenti modalità, individuate sulla base del possibile livello di coordinamento delle attività dei referenti pediatri e dei responsabili di laboratorio:

1. *Pediatri e laboratori coordinati (ospedali e laboratori di Cecina e Piombino)*
 - i pediatri compilano e raccolgono le schede di segnalazione e comunicano al responsabile del laboratorio di loro riferimento l'avvenuta segnalazione;
 - il responsabile del laboratorio conserva i campioni di feci dei casi segnalati;
 - periodicamente, viene organizzata dal centro regionale di coordinamento una spedizione unica di schede e campioni all'Istituto Superiore di Sanità;
2. *Pediatri e laboratori indipendenti (ospedali di Arezzo e S. Giovanni Valdarno, ospedale di Arezzo, ospedale e laboratorio di Prato)*
 - i pediatri inviano le schede di segnalazione al centro regionale di coordinamento;
 - i responsabili dei laboratori conservano i campioni di feci positive a rotavirus di bambini di 0-5 anni ospedalizzati per gastroenterite acuta, indipendentemente dalla segnalazione da parte dei pediatri;
 - periodicamente, il centro regionale di coordinamento organizza una spedizione unica di schede e campioni all'Istituto Superiore di Sanità (ISS) da ciascun laboratorio;
3. *Pediatri e laboratori indipendenti con partecipazione attiva del centro di coordinamento regionale nel reperimento dei dati e nella raccolta dei campioni (ospedale di S.M. Annunziata, Laboratorio dell'AOU Careggi)*
 - il pediatra referente dell'ospedale di S.M. Annunziata dell'Azienda Sanitaria Firenze invia le proprie schede di segnalazione al centro regionale di coordinamento;
 - il referente del laboratorio dell'AOU Careggi conserva i campioni di feci positive a rotavirus di bambini di 0-5 anni ospedalizzati per gastroenterite acuta in qualunque ospedale dell'Azienda Sanitaria Firenze;
 - il centro regionale di coordinamento recupera i campioni di feci conservate nel laboratorio dell'AOU Careggi e i rispettivi referti di laboratorio;
 - il centro regionale di coordinamento organizza periodicamente una spedizione unica di campioni e schede (per le segnalazioni da parte del referente dell'ospedale di S.M. Annunziata dell'Azienda Sanitaria Firenze) o di campioni e referti di laboratorio (per casi sprovvisti di segnalazione, ovvero bambini ricoverati presso gli ospedali della Azienda Sanitaria Firenze che non hanno aderito alla sorveglianza).

Risultati

Nella stagione 2010-2011 (1° settembre 2010 – 31 agosto 2011) sono stati raccolti e inviati all'ISS 114 campioni. I laboratori da cui sono stati inviati i campioni sono stati i seguenti:

- *Arezzo*: nel 53,5% dei casi (bambini ricoverati presso l'ospedale di Arezzo o S. Giovanni Valdarno);
- *Cecina*: nel 13,2% dei casi (bambini ricoverati presso l'ospedale di Cecina o Piombino);
- *Prato*: nel 17,5% dei casi (bambini ricoverati presso l'ospedale di Prato);
- *Dipartimento di Sanità Pubblica*: nel 15,8% dei casi (bambini ricoverati presso uno degli ospedali dell'Azienda Sanitaria di Firenze).

Nel 27,4% dei casi i campioni sono stati raccolti da bambini con età inferiore o uguale a 1 anno, nel 59,3% da bambini di età inferiore o uguale a 2 anni.

I ceppi virali sono risultati prevalentemente di tipo G1P[8] (72,8% dei casi). Sono state riscontrate anche infezioni miste (G1-G2 P[4]-P[8] nel 5,3% dei casi e G1-G9 P[8] nel 3,5% dei casi) (Figura 2).

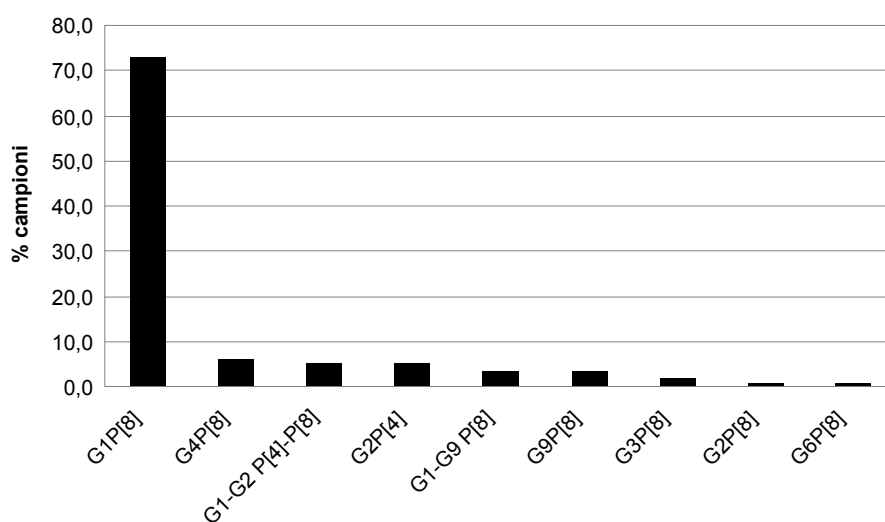


Figura 2. Genotipi di rotavirus caratterizzati in Toscana nella stagione 2010-2011

Conclusioni

I punti di forza della sorveglianza delle infezioni da rotavirus in Toscana sono da ricercare nell'elevato interesse riscontrato nei referenti che hanno deciso di aderire. Le criticità sono invece da attribuire alla complessità organizzativa, ovvero alla presenza di una doppia rete con cui il centro regionale di coordinamento deve rapportarsi e, soprattutto, alle differenti modalità di raccolta e invio di schede di segnalazione e campioni di feci. Infine, la presenza di un canale diverso per schede di segnalazione e raccolta dei campioni (pediatri e responsabili dei laboratori) non consente talvolta un perfetto coordinamento, con conseguente perdita di informazioni (mancato invio di schede in presenza di campioni) o di campioni (mancata conservazione di campioni in presenza di scheda di segnalazione). La raccolta e l'invio all'ISS dei referti di laboratorio hanno l'obiettivo di colmare almeno in parte questa carenza, ovvero di

fornire quantomeno le informazioni anagrafiche dei casi di cui sono disponibili i campioni di feci ma mancano le schede di segnalazione. Obiettivo futuro sarà ottimizzare la sorveglianza limitando la perdita di informazioni e/o di campioni e ampliando la rete di referenti.

*** Gruppo di referenti ospedalieri e di laboratorio**

Roberto Degl'Innocenti, Maria Teresa De Felice (Azienda USL 4 – Prato); Fabrizio Michelotti, Chiara Iozzi (Azienda USL 6 – Livorno); Irene Galanti, Caterina Rango, Antonio Cardinale (Azienda USL 8 – Arezzo); Maria Rosaria Elicio (Azienda USL 10 – Firenze); Pierluigi Nicoletti, Patrizia Pecile (Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi – Firenze).

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS NELLE MARCHE

Marcello M. D'Errico (a), Anna Marigliano (a), Patrizia Bagnarelli (b), Katia Marinelli (b), Leonardo Incicchitti (c), Laura Polenta (c), Olimpia D'Amato (c), Francesca Brecciaroli (d), Giuliana Carotti (d), Emily Tili (d), Paola Pauri (d), Sara Secondini (d), Sandro Cipriani (e), Rita Grassi (e), Clotilde Pierosara (e), Matilde Pierosara (e), Jessica Bellesi (f), Isabella Properzi (f), Paolo Francesco Perri (f), Luciana Maria Taccari (f)

(a) *Università Politecnica delle Marche, Ancona*

(b) *Struttura Organizzativa Dipartimentale Virologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Ospedali Riuniti", Ancona*

(c) *Direzione Medica Presidio "Salesi", Azienda Ospedaliero-Universitaria "Ospedali Riuniti", Ancona*

(d) *Ospedale Jesi, Area Vasta 2, ASUR Marche, Jesi*

(e) *Ospedale di Fabriano, Area Vasta 2, ASUR Marche, Fabriano*

(f) *Ospedale di Macerata, Area Vasta 3, ASUR Marche, Macerata*

Introduzione

Nel settembre del 2007, il Centro di Riferimento Regionale (CRR), rappresentato dalla Sezione di Igiene, Medicina Preventiva e Sanità Pubblica della Facoltà di Medicina dell'Università Politecnica delle Marche, ha proceduto all'organizzazione della rete di sorveglianza regionale per le infezioni da rotavirus. Hanno aderito al progetto 5 strutture ospedaliere: l'Azienda Ospedaliero-Universitaria "Ospedali Riuniti" di Ancona, gli ospedali di Jesi, Fabriano, Macerata e Senigallia.

La raccolta dei campioni ha avuto inizio nel 2008, ed è tuttora in corso (ad eccezione dell'Ospedale di Senigallia, che ha partecipato solo nel 2008). I referenti individuati in ciascun ospedale partecipante sono contattati periodicamente dal CRR tramite e-mail o telefonata. I campioni pervenuti al CRR dai laboratori di riferimento sono conservati a -20°C prima di essere inviati all'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

Una volta ricevuti da parte dell'ISS i risultati della genotipizzazione dei campioni regionali, il CRR si occupa di diffondere l'informazione ai centri partecipanti, assicurando un feedback efficiente.

Risultati

Nel periodo 1° settembre 2010 – 31 agosto 2011, sono stati raccolti 85 campioni, di cui il 50% provenienti dall'Ospedale di Jesi (n. 41) e il 50% dall'Ospedale di Ancona (n. 44). La distribuzione dei casi per mese di ricovero dei bambini è illustrata in Figura 1; si evidenziava un picco di casi (n. 13; 21%) nel mese di maggio 2011, seguito da una rapida riduzione già nel mese successivo.

Per quanto riguarda i genotipi circolanti nelle Marche, la combinazione più frequentemente ritrovata è stata G1P[8] (65%) seguita da G4P[8] (21%), infezioni miste (11%), G2P[4] (2%), e infine G9P[8] (1%) (Figura 2).

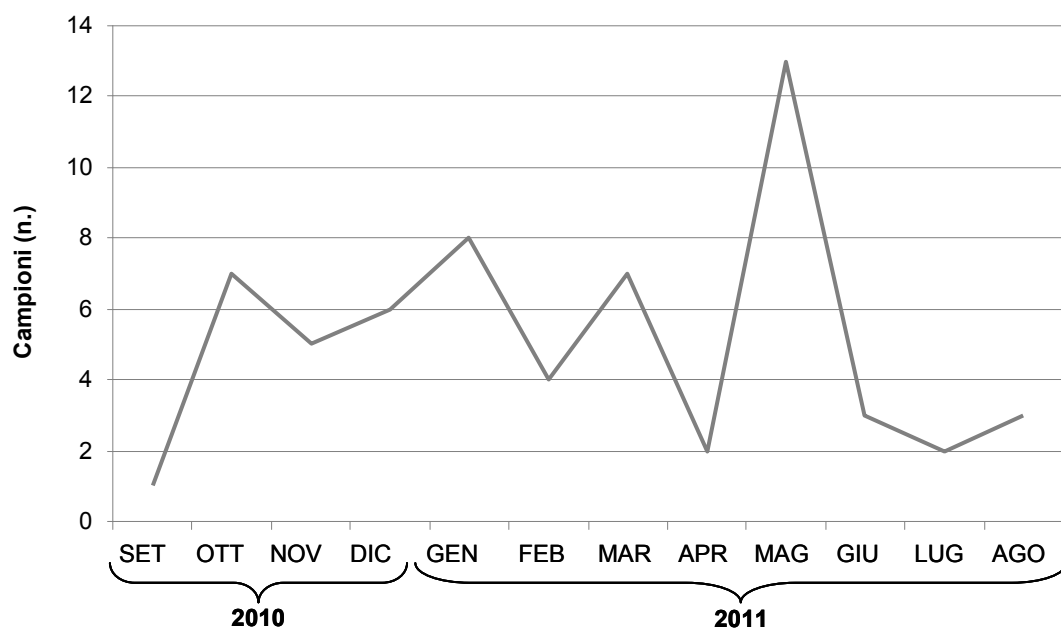


Figura 1. Distribuzione dei campioni di feci positivi per rotavirus, per mese di isolamento

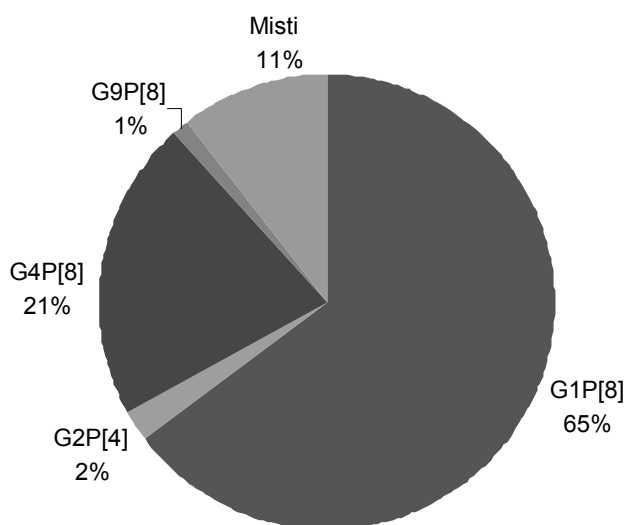


Figura 2. Genotipi di rotavirus circolanti nelle Marche, 2010-2011

Le schede di sorveglianza sono state compilate nel 95% (n. 81) dei casi. Dall'analisi dei dati è emerso che era prevalente il sesso maschile (64% dei casi – n. 54) e l'età media era pari a $2,1 \pm 1,4$ anni. Per quanto riguarda la sintomatologia riportata (Figura 3), la diarrea era sempre presente e nel 66% dei casi (n. 56) sono state riportate più di 3 scariche al giorno. Gli altri sintomi includevano vomito, febbre e dolori addominali, che sono stati registrati rispettivamente nel 55% (n. 47), nel 55% (n. 47) e nell'8% dei casi (n. 7) (Figura 3). La coprocultura è risultata sempre negativa.

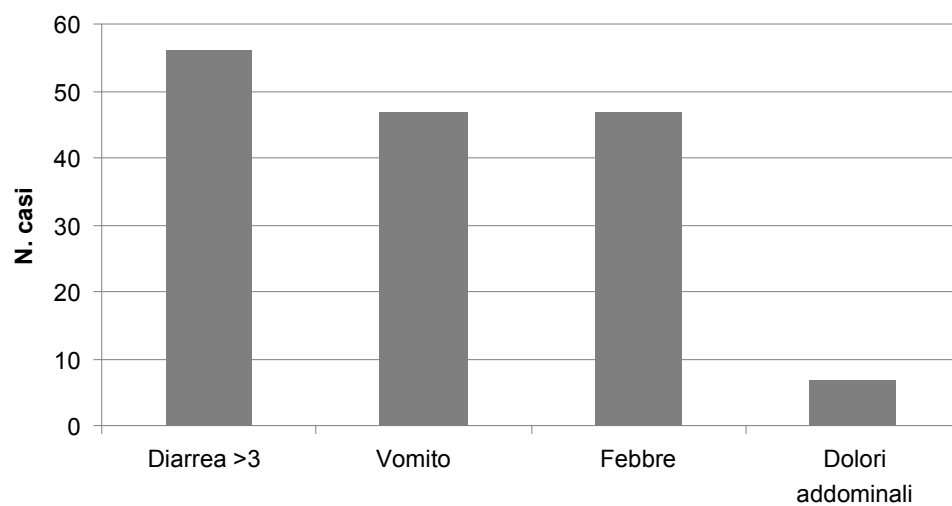


Figura 3. Sintomatologia riportata nelle schede di sorveglianza (n. casi)

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN UMBRIA

Anna Maria Iorio (a), Barbara Camilloni (a), Michela Basileo (a) Letizia D'Annibale (b)

(a) *Dipartimento di Specialità Medico-chirurgiche e Sanità Pubblica, Università degli Studi di Perugia, Perugia*

(b) *Struttura Complessa di Microbiologia, Azienda Ospedaliera, Perugia*

Introduzione

Dal 2006, il Laboratorio di Virologia del Dipartimento di Specialità Medico-Chirurgiche e Sanità Pubblica dell'Università di Perugia svolge la funzione di centro di riferimento per l'Umbria per l'attività di sorveglianza delle infezioni da rotavirus in Italia.

Il lavoro del Centro di Riferimento regionale si basa sulla raccolta di campioni di feci provenienti da bambini ricoverati negli Ospedali di Perugia, Foligno, Assisi, Terni, Gubbio e Orvieto, e risultati positivi per rotavirus con i test diagnostici di routine eseguiti nei laboratori ospedalieri. I campioni vengono successivamente inviati all'Istituto Superiore di Sanità per la genotipizzazione.

Risultati

Nella stagione 2010-2011 (1° settembre 2010 – 31 agosto 2011) sono pervenuti al Centro di Riferimento regionale per l'Umbria 101 campioni di feci, dei quali il 61% dei campioni è stato inviato dal Laboratorio dell'Ospedale di Perugia, e la restante parte dall'Ospedale di Foligno (21%), di Assisi (16%) e di Terni (2%). La maggior parte dei campioni è stata raccolta nei mesi di febbraio (26%) e marzo (24%), da soggetti di età compresa tra 0 e 3 anni (79 campioni, pari al 78%).

Dei 101 campioni di feci raccolti nel periodo considerato, 96 sono stati inviati all'Istituto Superiore di Sanità per l'effettuazione del test di genotipizzazione. I restanti 5 campioni sono stati inviati in un periodo successivo, e per tale motivo non sono stati genotipizzati.

Nella Figura 1 vengono riportati i dati relativi alla genotipizzazione G (gene virale 9) e P (gene virale 4). Per quanto riguarda la genotipizzazione G (Figura 1a), la maggior parte dei campioni è risultata avere un genotipo G1 (75%), mentre il genotipo G2 è stato riscontrato nel 3% dei campioni e quelli G3 e G4 nel 2%. Nel 18% dei casi si è evidenziato un genotipo G misto, con presenza non solo di G1 e G2, ma anche di G4 e G9. Per la genotipizzazione P (Figura 1b), si è osservata una netta prevalenza di rotavirus con genotipo P[8] (84%). Il genotipo P[4] è stato evidenziato nel 3% dei campioni, e nel 13% dei casi sono risultati essere contemporaneamente presenti i genotipi P[4] e P[8].

Nella Tabella 1 sono invece riportati i dati relativi alla genotipizzazione secondo la classificazione binaria in genotipi G e P, usata a livello internazionale. Nella maggior parte dei casi (81%) si è evidenziata la presenza di singoli e identificabili genotipi G e P appartenenti ai genotipi più comunemente diffusi a livello mondiale. In particolare i virus con genotipo G1P[8] sono stati quelli più frequentemente presenti (91%), seguiti da quelli con genotipo G2P[4] (4%) e G3P[8] e G4P[8] (3%). In un numero limitato di casi (18%), sono state evidenziate infezioni miste, con presenza anche del genotipo G9.

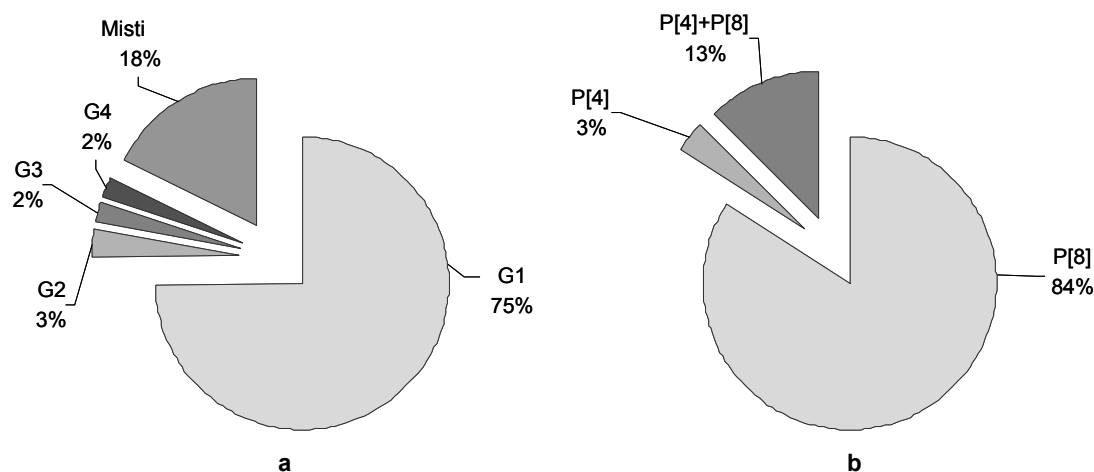


Figura 1. Genotipizzazione G (a) e P (a) dei 96 campioni positivi per presenza di rotavirus raccolti in Umbria nella stagione 2010-2011

Tabella 1. Combinazioni G[P] riscontrate nei 96 campioni di feci positivi per presenza di rotavirus raccolti in Umbria nella stagione 2010-2011

Genotipi	Combinazioni	N. (%)	Totale
Comuni	G1P[8]	71 (91)	78/96 (81)
	G2P[4]	3 (4)	
	G3P[8]	2 (2,5)	
	G4P[8]	2 (2,5)	
Misti	G1+G9P[8]	3 (18)	17/96 (18)
	G1+G4P[8]	2 (12)	
	G1+G2 P[4]+P[8]	12 (70)	

Conclusioni

Il Centro di Riferimento per l'Umbria per l'attività di sorveglianza delle infezioni da rotavirus ha inviato all'Istituto Superiore di Sanità 96 dei 101 campioni di feci ricevuti nella stagione 2010-2011, risultati positivi per presenza di rotavirus con i test diagnostici utilizzati di routine nei laboratori ospedalieri. I campioni provenivano da bambini ricoverati negli ospedali dell'Umbria partecipanti al progetto.

In accordo con i dati che suggeriscono la presenza di manifestazioni patologiche da rotavirus tali da richiedere il ricovero ospedaliero soprattutto nei primi anni di vita, la maggior parte dei campioni è risultata provenire da bambini di età compresa fra 0 e 3 anni (78%). Si è osservata una co-circolazione di rotavirus diversi, con una prevalenza di virus con genotipo G1 e P[8] (vedi Figura 1 e Tabella 1) con conferma quindi della aspettativa che i due vaccini attualmente disponibili (Rotarix e RotaTeq) possano prevenire la maggior parte delle infezioni. Il riscontro in un numero limitato di casi del genotipo G9, non contenuto nei vaccini in commercio, e di infezioni miste, che suggeriscono la possibilità di formazione di virus riassortanti (vedi Figura 1 e Tabella 1), evidenziano l'opportunità di continuare a effettuare i controlli previsti dal progetto di sorveglianza.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS NEL LAZIO

Manuela Onori (a), Cristina Russo (a), Luana Coltella (a), Alberto Villani (b),
Donato Menichella (a), Rosalia Graffeo (c)

(a) *Unità Operativa Virologia, Ospedale Pediatrico “Bambino Gesù”, Roma*

(b) *Unità Operativa Complessa Pediatria Generale e Malattie Infettive, Ospedale Pediatrico “Bambino Gesù”, Roma*

(c) *Dipartimento di Diagnostica Morfologica, Microbiologica, Molecolare e delle Malattie del Sangue, Policlinico “A. Gemelli”, Roma*

Introduzione

Il laboratorio della Unità Operativa Virologia dell’Ospedale Pediatrico “Bambino Gesù” ha svolto per l’anno 2011 la funzione di centro di riferimento per il Lazio per l’attività di sorveglianza delle infezioni da rotavirus in Italia. Gli ospedali del Lazio che hanno partecipato a questo progetto sono stati l’Ospedale “Bambino Gesù” e il Policlinico “Agostino Gemelli”, due grandi realtà nosocomiali di Roma e del Lazio per le patologie pediatriche.

I campioni di feci analizzati e risultati positivi per rotavirus sono stati collezionati e inviati all’Istituto Superiore di Sanità per l’opportuna genotipizzazione.

Risultati

Nel Lazio, un totale di 1566 campioni di feci, riferibili ad altrettanti pazienti pediatrici ricoverati per sospetta gastroenterite infettiva virale sono stati analizzati nel periodo novembre 2010-giugno 2011. I campioni sono stati tutti analizzati con un saggio immunocromatografico per la ricerca diretta della proteina VP6 di rotavirus di Gruppo A, e collezionati per l’analisi di genotipizzazione. Duecentosei campioni sono risultati positivi alla ricerca diretta antigenica, e di questi 76 campioni sono stati collezionati.

Dei 76 campioni, 48 (63,2%) sono stati raccolti dall’Ospedale “Bambino Gesù”, mentre 28 (36,8%) provenivano dall’Ospedale “Agostino Gemelli”. Tutti i campioni raccolti sono stati inviati all’Istituto Superiore di Sanità per l’analisi di genotipizzazione.

I risultati di genotipizzazione dei campioni raccolti sono mostrati in Tabella 1. La formula antigenica più frequente è stata G1P[8] riscontrata nel 69,8% dei casi, seguita da G9P[8] riscontrata nel 6,6% dei casi. I genotipi G2, G3, G4 sono stati rilevati nel 5,3% dei casi. Tra i genotipi rari, sono stati identificati rispettivamente un G12P[8] e un G-UDP[8] (1,3%). Nel 5,3% dei casi si sono avute infine co-infezioni da G1P[8] e G2P[4].

Nel Lazio, la maggiore prevalenza di infezione da rotavirus era ascrivibile a bambini nella fascia 1-2 anni e al di sotto di un anno di età (Figura 1). I maschi risultavano più suscettibili delle femmine all’infezione da rotavirus: 44 maschi (57,9%) *versus* 32 femmine (42,1%). La stagionalità dei rotavirus analizzati è mostrata in Figura 2: l’aumento del numero dei casi di infezione da rotavirus presentava due maggiori picchi di incidenza, uno nel mese di dicembre e uno nei mesi di marzo-aprile, che tendevano poi a diminuire nei mesi successivi.

Tabella 1. Genotipi di rotavirus identificati nel Lazio nel periodo novembre 2010-giugno 2011

Genotipi	Totale (%)
G1 P[8]	53 (69,8)
G2 P[4]	4 (5,3)
G3 P[8]	4 (5,3)
G4 P[8]	4 (5,3)
G9 P[8]	5 (6,6)
G12 P[8]	1 (1,3)
G-UD P[8]	1 (1,3)
G1+G2 P[4]+P[8]	4 (5,3)

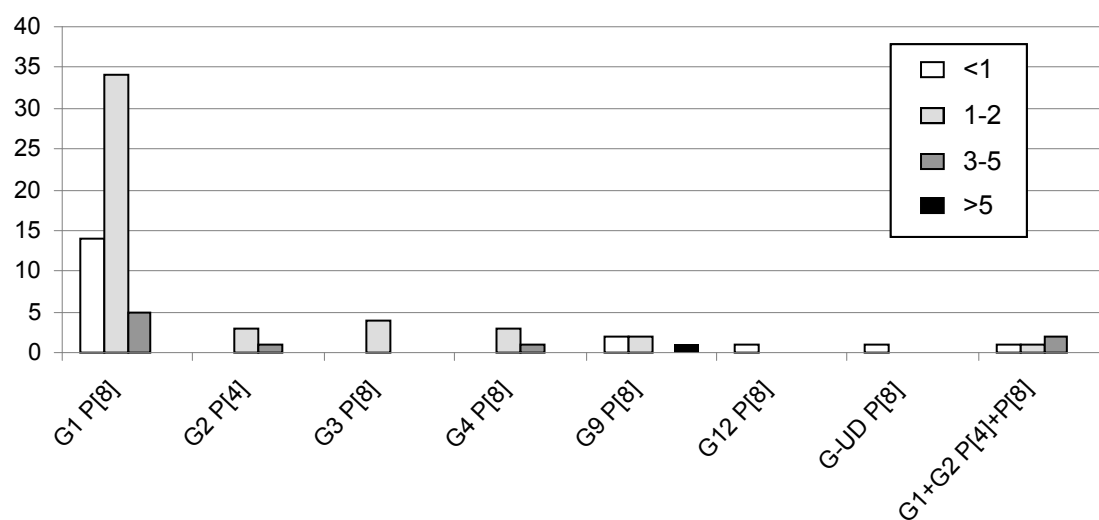


Figura 1. Correlazione dei diversi genotipi di rotavirus con l'età dei pazienti

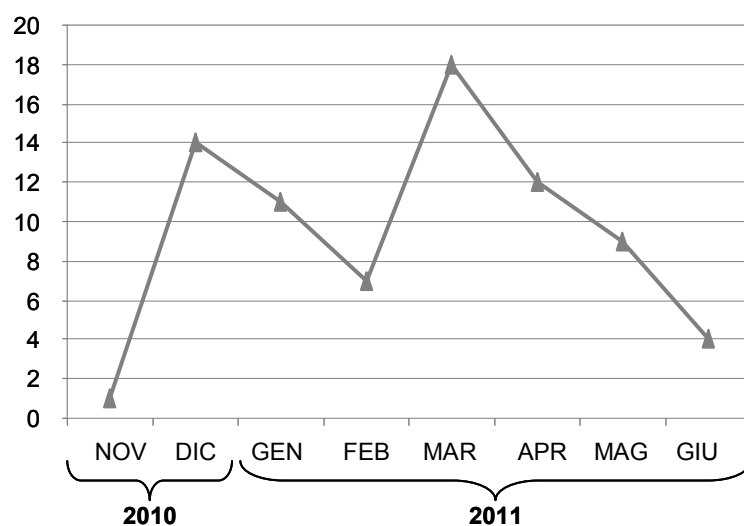


Figura 2. Stagionalità dei rotavirus identificati nel Lazio (2010-2011)

I sintomi clinici dell'infezione variavano tra moderati, con diarrea acquosa di breve durata, o severi, caratterizzati da gastroenterite acuta con diarrea, febbre, vomito, dolori addominali e disidratazione. La principale sintomatologia dei bambini ricoverati presso i due ospedali romani è stata la diarrea, anche combinata col vomito. Sono stati pochi, invece, i pazienti che presentavano solo vomito. Per 7 pazienti, non è stato possibile recuperare alcuna informazione clinica (Figura 3).

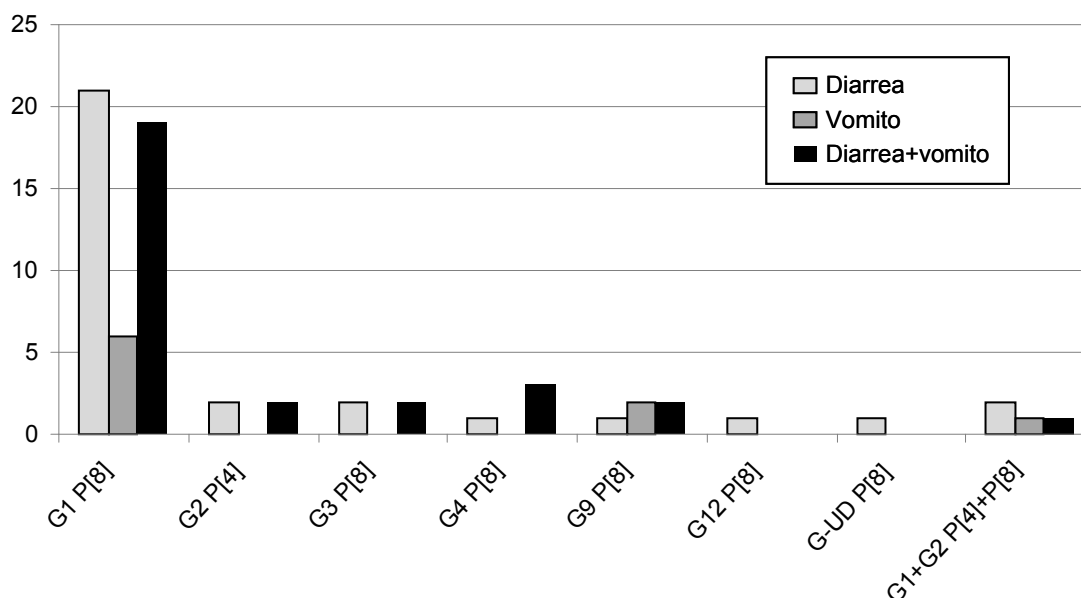


Figura 3. Correlazione dei diversi genotipi di rotavirus con la sintomatologia clinica dei pazienti (2010-2011)

Conclusioni

Gli ospedali del Lazio che hanno partecipato all'attività di sorveglianza delle infezioni da rotavirus sono stati l'ospedale pediatrico "Bambino Gesù" e il Policlinico Universitario "Agostino Gemelli". I campioni raccolti e inviati all'Istituto Superiore di Sanità per l'analisi di genotipizzazione sono stati 76 dei 206 campioni risultati positivi alla ricerca antigene di rotavirus. La maggior parte dei campioni (86,8%) era riferibile a bambini di età compresa fra 0 e 2 anni. In questa fascia di età, infatti, la sintomatologia è stata più grave presentandosi con diarrea e vomito associati. Di conseguenza la forte disidratazione che accompagnava tale sintomatologia in questi pazienti ha reso necessario il loro ricovero ospedaliero.

Sebbene il numero di pazienti risultati positivi all'indagine di ricerca diretta contro l'antigene di rotavirus sia stato rilevante (13% dei campioni analizzati), solo per il 36% di questi è stato possibile inviare il campione per l'analisi del genotipo. Per gli altri campioni di feci la modalità di invio e conservazione non è risultata idonea per le analisi di genotipizzazione.

I dati raccolti nel Lazio confermano la diversità genetica dei rotavirus circolanti in Italia. Il genotipo prevalente è stato G1P[8], seguito da G9P[8], che risulta essere tra i ceppi di rotavirus in aumento negli ultimi anni, e dai genotipi più comuni G2, G3 e G4.

Sono state riscontrate inoltre due co-infezioni con rotavirus appartenenti a due genotipi diversi con combinazioni G1P[8]+G2P[4], e la presenza di un ceppo non comune (G12P[8]).

Ad eccezione di un singolo caso, i nostri dati indicano che la patologia infettiva da rotavirus è da considerarsi tipicamente di tipo comunitario e occasionalmente di tipo nosocomiale.

La sorveglianza dei rotavirus è di grande importanza per confermare l'appropriatezza delle formule antigeniche contenute nei vaccini in commercio, e per controllare le infezioni miste e l'insorgenza di nuovi genotipi.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN CAMPANIA

Rosalba Campagnuolo, Gabriella Tripepi, Federica Ventura, Alessandro Liccardo
Laboratorio Patologia Clinica e Microbiologia, Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale “Santobono-Pausilipon”, Napoli

Introduzione

Dal 2010, l’Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale “Santobono-Pausilipon” ha collaborato con l’Istituto Superiore di Sanità di Roma allo studio epidemiologico molecolare di rotavirus in età pediatrica. In base ai ricoveri effettuati per casi di gastroenteriti acute, nella stagione 2010-11 sono stati inviati 67 campioni di feci positivi per rotavirus relativi a pazienti di età compresa dai 0-8 anni, tutti presentanti sintomi quali diarrea, temperatura corporea $> 38^{\circ}\text{C}$ e dolori addominali, criteri per i quali ne è stato avviato lo studio.

Risultati

Nelle Figure 1 e 2 vengono riportati i dati relativi alla genotipizzazione G (gene virale 9) e P (gene virale 4). Per quanto riguarda la genotipizzazione G (Figura 1), la maggior parte dei campioni è risultata avere un genotipo G1 (58%); il genotipo G9 è stato riscontrato nel 16% dei campioni seguito da G2 e G3 (6%), mentre nel 2% dei casi i campioni sono risultati non tipizzabili.

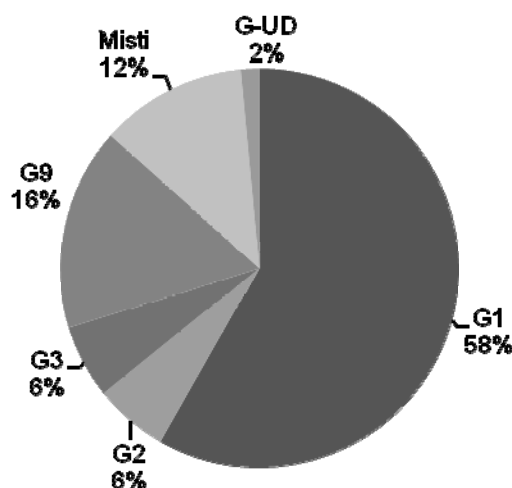


Figura 1. G-tipi di rotavirus caratterizzati in Campania (2010-2011)

Nel 12% dei casi si è evidenziato inoltre un genotipo G misto in alcuni pazienti, con presenza non solo di G1 e G2, ma anche di G9:

- G1+G2 (2 casi);
- G1+G9 (2 casi);
- G2+G9 (4 casi).

Per la genotipizzazione P (Figura 2), si è osservata una netta prevalenza di rotavirus con genotipo P[8] (84%). Il genotipo P[4] è stato evidenziato nel 6% dei campioni, mentre nell'1% dei casi i campioni sono risultati non tipizzabili, e nel 9% dei casi sono risultati essere contemporaneamente presenti i genotipi P[4] e P[8].

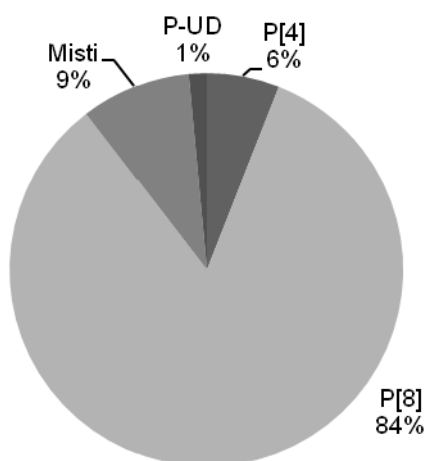


Figura 2. P-tipi di rotavirus caratterizzati in Campania (2010-2011)

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN PUGLIA

Anna Morea (a), Anna Sallustio (a), Anna Lisa De Robertis (a), Cesare Di Bari (b),
Maria Chironna (a, c, d)

(a) *Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana, Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Bari*

(b) *Ospedale Pediatrico "Giovanni XXIII", Bari*

(c) *Unità Operativa Complessa Igiene, Azienda Ospedaliera-Universitaria Consorziale Policlinico, Bari*

(d) *Osservatorio Epidemiologico, Regione Puglia, Bari*

Introduzione

I rotavirus sono la principale causa di gastroenterite acuta nei bambini. La sorveglianza dei genotipi virali nella Regione Puglia ha consentito di ottenere informazioni sui diversi genotipi circolanti a partire dal 2009. Nel periodo settembre 2010 – agosto 2011 sono stati collezionati complessivamente 438 campioni di feci provenienti da bambini ospedalizzati per gastroenterite acuta da tutto il territorio regionale, e in particolar modo dall'ospedale pediatrico di riferimento regionale "Giovanni XXIII" di Bari.

La ricerca di rotavirus e la determinazione dei genotipi G e P è stata effettuata secondo protocolli standardizzati a livello internazionale (1).

Risultati

Dall'analisi delle SDO (Schede di Dimissione Ospedaliera) dell'Osservatorio Epidemiologico regionale, nel periodo considerato, il tasso di ospedalizzazione per enteriti da rotavirus in Puglia è risultato di 2,9 casi/1.000 bambini di età inferiore o uguale a 5 anni (661 casi). In particolare, l'andamento delle ospedalizzazioni per gastroenterite acuta da rotavirus è mostrato in Figura 1.

Il picco dei ricoveri (242) è stato osservato tra marzo e aprile 2011, e un numero considerevole di ospedalizzazioni si è verificato anche tra maggio e giugno (173).

Il numero di campioni provenienti da bambini ricoverati per gastroenterite acuta distribuiti nel periodo considerato e i campioni positivi per rotavirus sono mostrati in Figura 2.

Come per le ospedalizzazioni per gastroenterite acuta, la più alta prevalenza di campioni fecali positivi per rotavirus è stata osservata nei mesi tra marzo e giugno del 2011. Complessivamente 129 campioni (29,4%) sono risultati positivi per rotavirus. La distribuzione per fasce d'età dei bambini da cui provenivano i campioni fecali analizzati e i positivi per rotavirus sono mostrati in Tabella 1.

La prevalenza più elevata di campioni fecali positivi per rotavirus è stata registrata nei bambini di 1-2 e 3-5 anni (35,7% e 31,4% rispettivamente). Dei 129 campioni positivi, 122 (95%), pari al 18% di tutti i casi di gastroenterite acuta da rotavirus registrati nella regione nello stesso periodo, sono stati analizzati per i genotipi G e P. La genotipizzazione ha evidenziato una prevalente circolazione di genotipo G1P[8] (67%) (Figura 3).

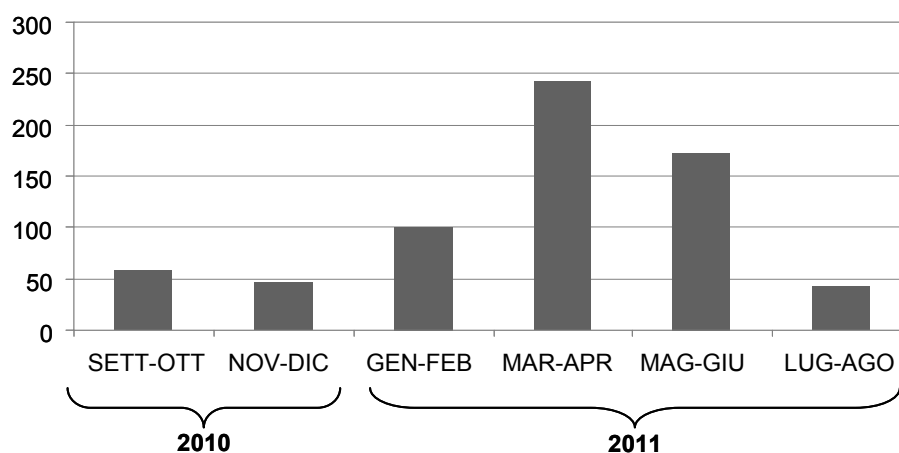


Figura 1. Ospedalizzazioni per gastroenterite acuta da rotavirus in bambini ≤ 5 anni in Puglia (2010- 2011)

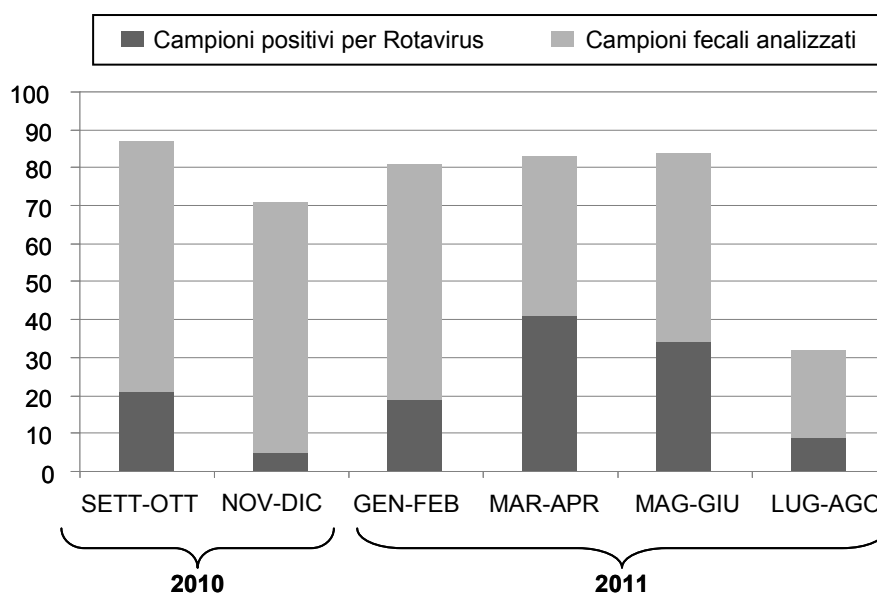


Figura 2. Campioni fecali analizzati per rotavirus in Puglia (2010-2011)

Tabella 1. Distribuzione dei casi di gastroenterite acuta positivi per rotavirus per fasce d'età

Età (anni)	N. bambini testati	N. positivi per rotavirus (%)
<1	39	9 (23,1)
1-2	165	59 (35,7)
3-5	86	27 (31,4)
>5	148	34 (23,0)
Totale	438	129 (29,4)

Il secondo genotipo più frequentemente riscontrato in Puglia nel periodo considerato è risultato il G4P[8] (17%). Con una percentuale inferiore è stato riscontrato il genotipo G2P[8] (5%), mentre il genotipo G9P[8] è stato rilevato solo nel 2% dei casi e il genotipo G3P[8] nell'1%. In 4 bambini sono stati riscontrati genotipi multipli e in un caso è stato riscontrato il genotipo G12P[8].

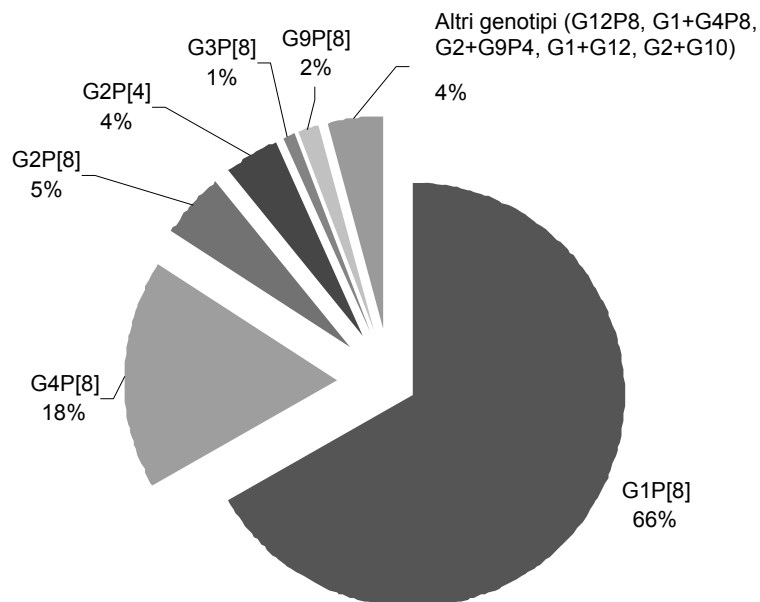


Figura 3. Distribuzione dei genotipi di rotavirus in Puglia (2010-2011)

Conclusioni

La sorveglianza epidemiologico-molecolare dei rotavirus in Puglia ha evidenziato come il picco epidemico di malattia si sia verificato nel periodo primaverile-estivo del 2011, in linea con quanto osservato nella regione anche nelle stagioni precedenti. La circolazione di rotavirus viene comunque osservata, anche se con un numero di casi più limitato, in tutto il corso dell'anno. I dati dimostrano l'utilità della sorveglianza sia per l'individuazione di nuovi ceppi virali sia per verificare l'adeguatezza della composizione dei vaccini disponibili.

Bibliografia

1. Ruggeri FM, Delogu R, Petouchoff T, Tcheremenskaia O, De Petris S, Fiore L. RotaNet-Italy Study Group. Molecular characterization of rotavirus strains from children with diarrhea in Italy, 2007-2009. *Journal of Medical Virology* 2011;83(9):1657-68.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN CALABRIA

Carmelo Laganà, Mattia Chisari, Marta De Rosa

Unità Operativa Complessa Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliera Bianchi-Melacrino-Morelli, Reggio Calabria

Introduzione

L'attività di sorveglianza si basa sulla raccolta di campioni di feci provenienti da bambini ricoverati presso l'Azienda Ospedaliera "Bianchi-Melacrino-Morelli" di Reggio Calabria. I campioni positivi sono stati successivamente inviati all'Istituto Superiore di Sanità per la genotipizzazione.

Risultati

Sono stati raccolti, nella stagione 2010-2011, 14 campioni di feci positivi provenienti da soggetti d'età compresa tra 0 e 10 anni. In Figura 1 vengono riportati i dati relativi alla genotipizzazione G (gene virale 9) e P (gene virale 4). Per quanto riguarda la genotipizzazione G (Figura 1a), la maggior parte dei campioni è risultata avere un genotipo G1 (65%), mentre il genotipo G2 è stato riscontrato nel 7% dei campioni e il genotipo G4 nel 7%. In nessun campione è stato riscontrato il genotipo G3. Nel 21% dei casi si è evidenziato un genotipo G misto, con presenza di G1, G4 e G9. Per la genotipizzazione P (Figura 1b), si è osservata una netta prevalenza di rotavirus con genotipo P[8] (93 %), e il genotipo P[4] è stato evidenziato nel 7% dei campioni.

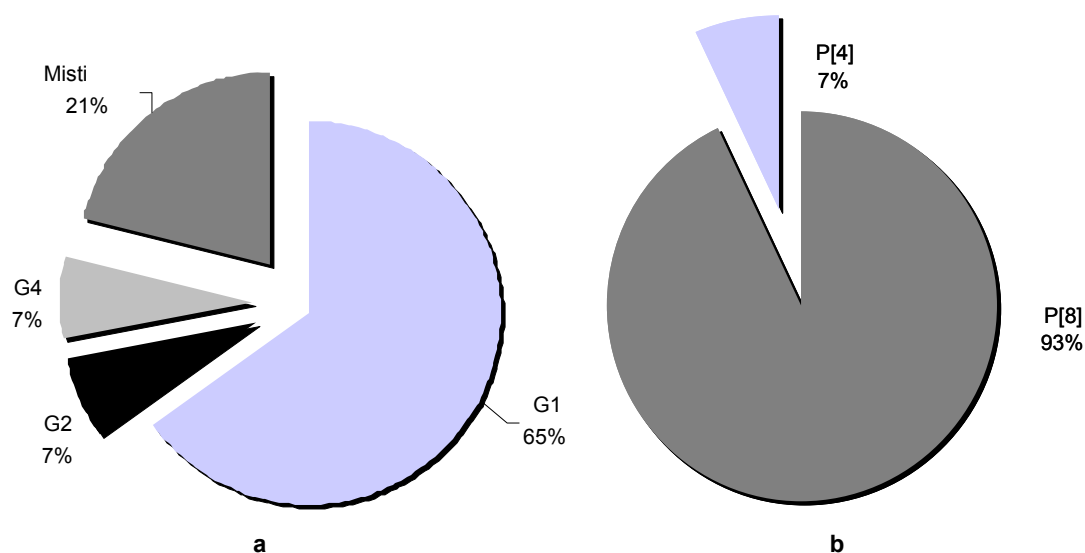


Figura 1. Genotipizzazione G (a) e P (b) dei 14 campioni positivi raccolti

Nella Tabella 1, sono invece riportati i dati relativi alla genotipizzazione secondo la classificazione internazionale binaria in genotipi G e P. Nella maggior parte dei casi (79%) si è evidenziata la presenza di genotipi G e P singoli, appartenenti al gruppo dei genotipi più comunemente diffusi a livello mondiale. In particolare i virus con genotipo G1P[8] sono stati quelli più frequentemente presenti (65%), seguiti da quelli con genotipo G2P[4] (7%) e G4P[8] (7%). In un numero rilevante di casi (21%) sono state evidenziate infezioni miste, con presenza anche del genotipo G9.

Tabella 1. Combinazioni G[P] riscontrate nei 14 campioni di feci positivi per presenza di rotavirus

Genotipi	Combinazioni	N. (%)	Totale
Comuni	G1P[8]	9 (65)	11/14 (79)
	G2P[4]	1 (7)	
	G4P[8]	1 (7)	
Misti	G1+G4P[8]	2 (14)	3/14 (21)
	G1+G9P[8]	1 (7)	

Conclusioni

L'Azienda Ospedaliera di Reggio Calabria ha inviato all'Istituto Superiore di Sanità 14 campioni di feci della stagione 2010-11 risultati positivi per la presenza di rotavirus con i test diagnostici utilizzati di routine nei laboratori ospedalieri.

In accordo con i dati che suggeriscono la presenza di manifestazioni patologiche da rotavirus tali da richiedere il ricovero ospedaliero, soprattutto nei primi anni di vita, la maggior parte dei campioni è risultata provenire da bambini di età compresa da 0 a 3 anni.

È stata riscontrata una co-circolazione di rotavirus diversi con una prevalenza maggiore di virus con genotipo G1 e P[8] (vedi Figura 1 e Tabella 1).

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN SICILIA

Giovanni M. Giammanco (a), Simona De Grazia (a), Floriana Bonura (a), Valentina Rotolo (a), Laura Saporito (a), Claudia Colomba (b), Francesca Di Bernardo (c), Piera Dones (d), Antonio Cascio (e), Antonina Collura (c), Diane Marcella Terranova (c), Rosa Zuccarello (c), Giuseppe Piombo (c), Nicolò Riccobono (c), Maria Di Gangi (d), Maria Concetta Failla (d), Maria Grazia Li Cavoli (d), Fabio Mossuto (d), Letterio Bonina (e), Maria Silvana Leonardi (e), Maria Luisa Toro (e), Annamaria Salpietro (f), Romina Gallizzi (f), Sara Bombaci (f), Lorena Silipigni (f), Salvatore Scondotto (g), Mario Palermo (g)

- (a) *Centro di Riferimento Regionale per la Sorveglianza delle Infezioni da rotavirus, Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute “G. D’Alessandro”, Università di Palermo, Palermo*
- (b) *Sezione di Malattie Infettive, Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute “G. D’Alessandro”, Università di Palermo, Palermo*
- (c) *Unità Operativa di Microbiologia e Virologia, Dipartimento dei Servizi Diagnostici, Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale ed Alta Specializzazione “Civico-Di Cristina-Benfratelli”, Palermo*
- (d) *Unità Operativa Complessa di Malattie Infettive Pediatriche, Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale ed Alta Specializzazione “Civico-Di Cristina-Benfratelli”, Palermo*
- (e) *Dipartimento di Patologia Umana, Università di Messina c/o Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico “G. Martino”, Messina*
- (f) *Dipartimento di Scienze Pediatriche, Università di Messina c/o Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico “G. Martino”, Messina*
- (g) *Dipartimento Attività Sanitarie e Osservatorio Epidemiologico, Assessorato della Salute, Regione Sicilia, Palermo*

Introduzione

Il Centro di Riferimento Regionale per la Sorveglianza delle Infezioni da Rotavirus in Sicilia (CRRSIRS), operante presso il Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute “G. D’Alessandro” ha una lunga tradizione nello studio dell’epidemiologia delle infezioni da RV nella regione. I primi lavori pionieristici in questo campo di ricerca furono voluti già a partire dalla metà degli anni 1980 dalla Prof.ssa Serenella Arista, che per la caratterizzazione degli isolati si avvale delle tecniche di sierotipizzazione e di analisi genomica mediante determinazione dell’elettroferotipo e del genotipo G e P (1-3).

Negli anni 2000, mediante le tecniche di analisi filogenetica è stato possibile descrivere l’introduzione in Sicilia del genotipo umano emergente G9P[8] (4) e analizzare in dettaglio la circolazione locale e le caratteristiche genetiche ed evolutive degli altri quattro genotipi umani maggiori, G4P[8] (5), G2P[4] (6), G1P[8] (7) e G3P[8] (8).

Negli ultimi anni, lo studio dei rotavirus si è rivolto all’analisi più minuziosa di ceppi di origine animale con caratteristiche peculiari di raro riscontro nell’uomo (9-14). Queste ricerche hanno progressivamente coinvolto collaborazioni internazionali con alcuni dei principali gruppi di ricerca europei in questo campo (6, 9, 11-14). L’ampia attività di ricerca svolta sui rotavirus ha fatto sì che l’Istituto Superiore di Sanità (ISS) proponesse nel 2008 al CRRSIRS di fare parte della rete di sorveglianza nazionale dei casi di gastroenterite in età pediatrica RotaNet-Italia. L’attività di sorveglianza è stata condotta in questi anni sia attraverso la raccolta di campioni fecali che dei dati anamnestici relativi ai casi clinici di particolare rilevanza, ricoverati in

strutture ospedaliere regionali. Il CRRSIRS è inoltre sede di uno dei tre laboratori accreditati sub-nazionali in cui viene effettuata la genotipizzazione degli isolati. Anche nel 2011, come già negli anni precedenti, la rete di sorveglianza si è avvalsa della collaborazione dei reparti di pediatria e malattie infettive del principale ospedale pediatrico della provincia di Palermo, l'Ospedale Civico-Di Cristina-Benfratelli, ma è stata anche consolidata la collaborazione con i Dipartimenti di Patologia Umana e di Scienze Pediatriche del Policlinico Universitario di Messina, che ha consentito di rendere la sorveglianza rappresentativa anche della circolazione nella Sicilia orientale.

Materiali e metodi

Sono stati inclusi nello studio i bambini di età ≤ 5 anni ricoverati per enterite presso i reparti partecipanti, in cui veniva fatta diagnosi di diarrea acuta all'ammissione o che sviluppavano una gastroenterite nel corso della degenza.

Da tutti i pazienti si è provveduto a raccogliere un campione fecale su cui effettuare le indagini virologiche ed è stata compilata una scheda anamnestica. I campioni fecali sono stati esaminati localmente con test di screening basati sulla ricerca di antigeni di RV. In particolare, il laboratorio di Microbiologia e Virologia dell'Ospedale "Civico-Di Cristina-Benfratelli" ha utilizzato il saggio immunocromatografico Certest Rotavirus (CerTest BIOTEC, Zaragoza, Spagna), mentre presso il Policlinico Universitario "G. Martino" è stato utilizzato il saggio immunoenzimatico RIDASCREEN Rotavirus (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germania).

Tutti i campioni fecali raccolti sono stati aliquotati e conservati a -20°C per l'esecuzione dei saggi biomolecolari. Il risultato del test eseguito localmente è stato verificato presso il laboratorio del CRRSIRS mediante ricerca del genoma virale: retro-trascrizione genica (RT-PCR) e test di *real-time* PCR (15).

I campioni positivi sono stati sottoposti a caratterizzazione molecolare mediante test di *nested*-RT/PCR per i geni 4 e 9, al fine di identificare il genotipo binario G/P, secondo protocolli standardizzati a livello internazionale (16).

Analisi di sequenziamento nucleotidico dei geni in questione sono state condotte per valutare i ceppi virali non tipizzabili con la metodica tradizionale.

Risultati

Nell'anno 2011, la rete di sorveglianza della Regione Sicilia ha reclutato un numero totale di 513 casi, 384 nella provincia di Palermo e 129 nella provincia di Messina, con una leggera flessione rispetto a quanto raccolto nell'anno precedente ma con un risultato superiore alla raccolta effettuata nel 2009 e negli anni precedenti (Figura 1).

Nel 2011, a Palermo sono risultati rotavirus-positivi 101 dei 384 (26,3%) campioni analizzati, a Messina i campioni positivi sono stati 22 su 129 (17,1%) (Figura 2).

L'incidenza delle infezioni da rotavirus in Sicilia nel periodo 2009-2011 è mostrata in Figura 3.

La distribuzione temporale nel corso del 2011 dei casi di gastroenterite da rotavirus è riportata in Figura 4, dove è anche illustrato l'andamento stagionale dei due anni precedenti. La maggior parte dei casi osservati a Palermo nel 2011 si riscontrava nel periodo febbraio-luglio, così come già era avvenuto nei due anni precedenti, ma con una ripresa della circolazione a novembre e dicembre. A Messina i casi segnalati nel 2011 si concentravano in un più ristretto ambito temporale, da aprile a luglio.

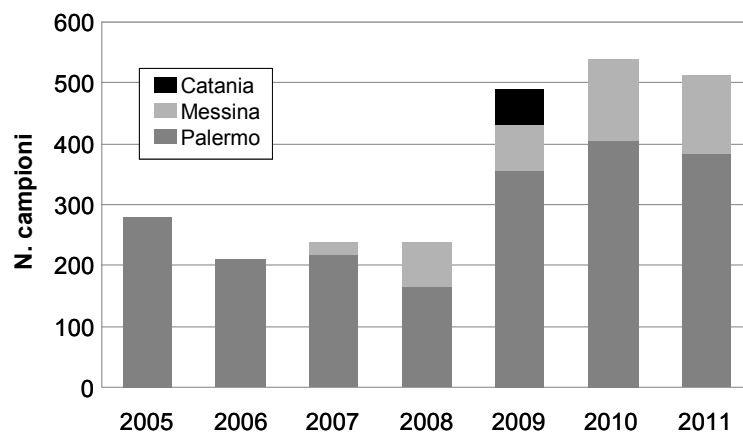


Figura 1. Distribuzione geografica dei campioni fecali raccolti in Sicilia nel periodo 2005-2011

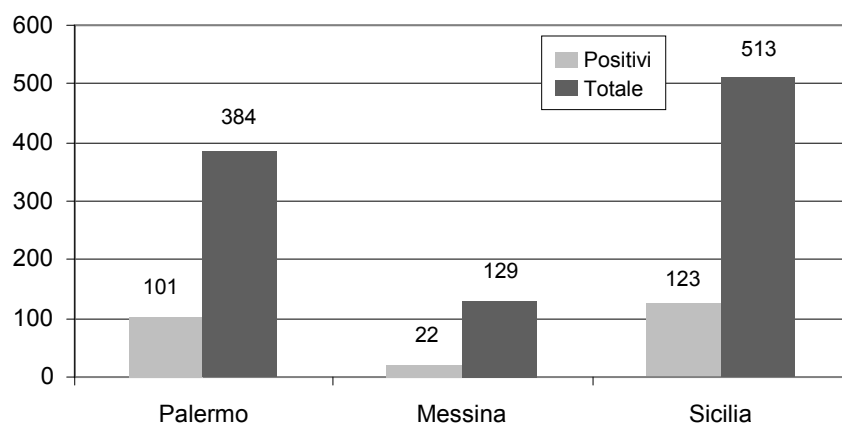


Figura 2. Distribuzione per provenienza dei campioni raccolti e positivi per rotavirus nel 2011

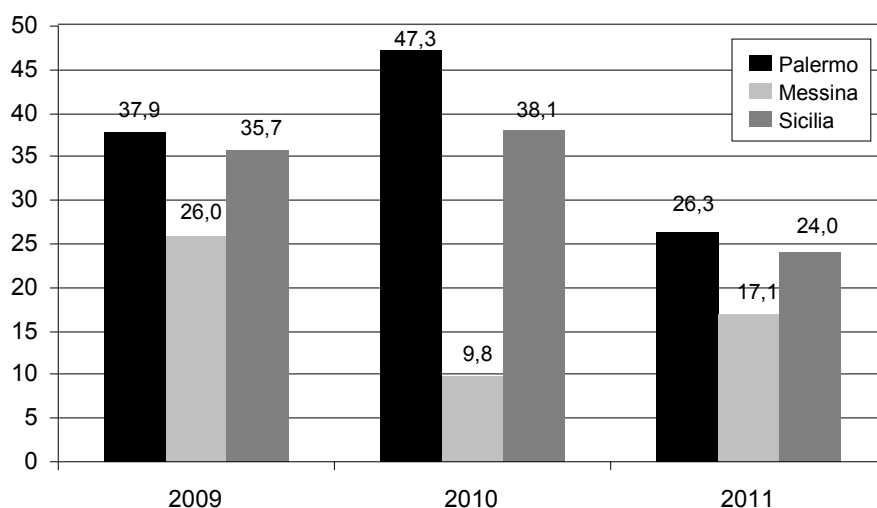


Figura 3. Incidenza delle gastroenteriti da rotavirus nella popolazione pediatrica (≤5 anni) in Sicilia nel triennio 2009-2011 (%)

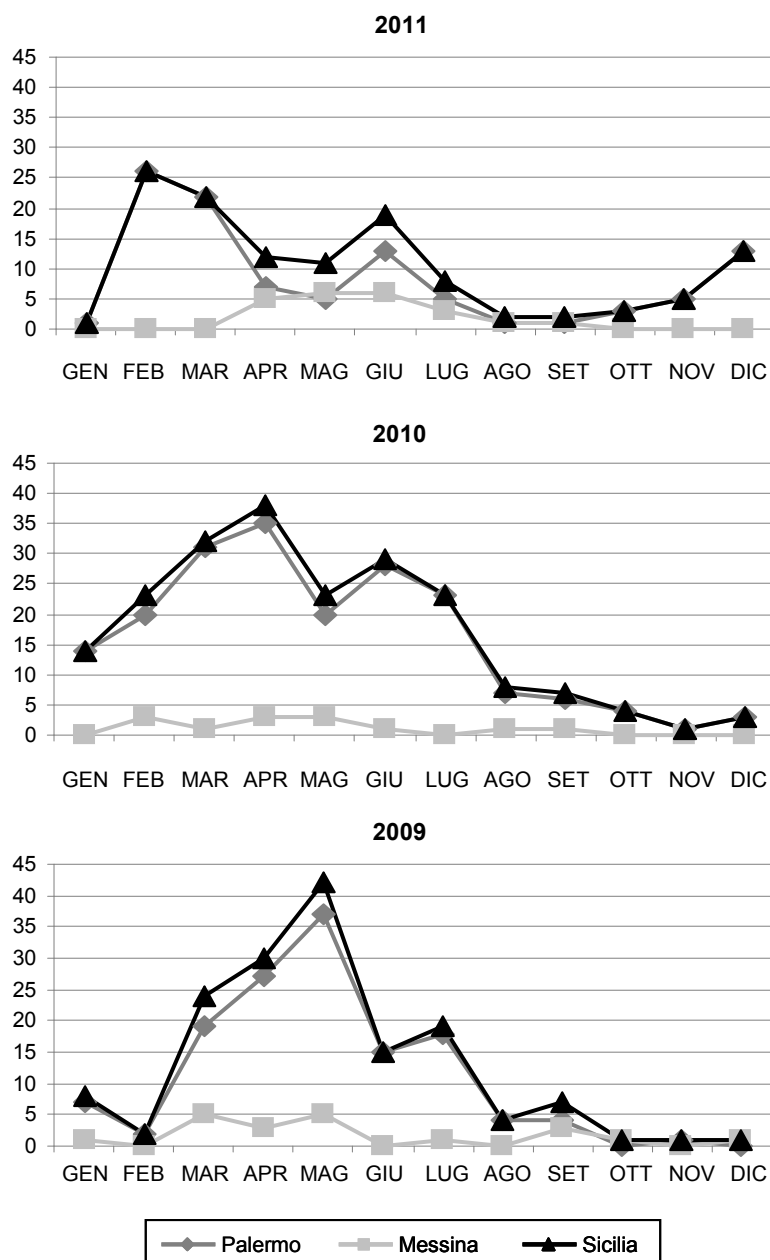


Figura 4. Distribuzione temporale dei casi di gastroenterite da rotavirus, distinti per provenienza, negli anni 2009-2011

Tutti i campioni RV-positivi sono stati sottoposti a test di genotipizzazione. I dati di genotipizzazione divisi per provenienza geografica e anno di campionamento sono riportati in Tabella 1. Il genotipo prevalente nel 2011 è risultato essere il G1P[8], sia a Palermo (67,3%) che a Messina (90,9%). Tuttavia, mentre a Palermo il secondo genotipo per circolazione (12,9%) è stato il G2P[4], a Messina i ceppi diversi da G1 appartenevano al genotipo G4P[8] (9,1%). A Palermo sono stati anche individuati una piccola quantità di singoli isolati di genotipi di più raro riscontro: G1P[4], G2P[8], G3P[9] e G10P[8].

Tabella 1. Genotipizzazione dei campioni rotavirus-positivi nel 2011 (%)

Genotipo	Messina n. (%)	Palermo n. (%)
G1P[8]	20 (90,9)	68 (67,3)
G2P[4]	0	13 (12,9)
G4P[8]	2 (9,1)	0
G1P[4]	0	1 (1)
G2P[8]	0	1 (1)
G3P[9]	0	1 (1)
G10P[8]	0	1 (1)
G1Pnd	0	1 (1)
GndP[4]	0	3 (3)
GndP[8]	0	8 (7,9)
GndP[9]	0	1 (1)
G1+G2P[4]	0	3 (3)
Totali	22	101

nd: non determinato

Per alcuni ceppi non è stato possibile ottenere una tipizzazione completa, ma si è potuto identificare solo uno dei due determinanti antigenici. Nella maggior parte dei casi si trattava di ceppi provenienti da campioni con più bassa carica virale. Sono state anche riscontrate tre co-infezioni con RV appartenenti a due genotipi diversi con la combinazione G1+G2P[4]. Tutti i dati di genotipizzazione sono stati inviati all'ISS insieme alle schede con i dati clinici dei casi per alimentare il database del RotaNet-Italia costituito presso l'ISS, ai fini della definizione della popolazione di rotavirus circolanti in Italia nel 2011.

Confrontando i dati della genotipizzazione effettuata in Sicilia nel 2011 con quelli dei due anni precedenti è stato possibile osservare che a Palermo G1P[8] è stato costantemente predominante. Tuttavia, mentre i genotipi “comuni” non-G1P[8] rappresentavano il 20,1% e il 18,2% del totale (comprese le co-infezioni con G1) nel 2009 e nel 2011, rispettivamente, essi erano solo il 3,6% nel 2010. Inoltre, mentre nel 2009 i ceppi non-G1P[8] erano in maggioranza G4P[8] e G9P[8], nel 2010 e 2011 questi risultavano essere quasi tutti G2P[4]. A Messina, invece, si osservava nel 2009 una prevalenza del 75% di genotipi non-G1 circolanti in mono- o co-infezione, con una netta predominanza di G4P[8] e una consistente circolazione di G9P[8], e quindi una progressiva discesa dei non-G1 al 30,8% nel 2010 e al 9,1% nel 2011, con esclusiva circolazione di G2P[4] e G4P[8], rispettivamente. La Figura 5 riepiloga e confronta i genotipi circolanti a Palermo e a Messina nel triennio 2009-2011.

Conclusioni

Anche nel 2011, come già nel 2010, la raccolta di campioni fecali per la sorveglianza delle infezioni da RV in Sicilia si è mantenuta su elevati livelli quantitativi. L'incidenza dei casi accertati di gastroenterite da RV nella popolazione infantile analizzata ha mostrato nel 2011 una flessione percentuale rispetto agli anni precedenti. Questa è stata dovuta alla riduzione dei casi nella provincia di Palermo, che sono passati da un'incidenza del 47,3% nel 2010 al 26,3% nel 2011, mentre nello stesso periodo in provincia di Messina il peso percentuale delle gastroenteriti da RV è aumentato dal 9,8 al 17,1%, dopo aver raggiunto il 26% nel 2009. È interessante notare come a Palermo anche il 2009, così come il 2010, era stato un anno con elevata circolazione di RV, che si erano confermati come prima causa di gastroenterite nella popolazione pediatrica.

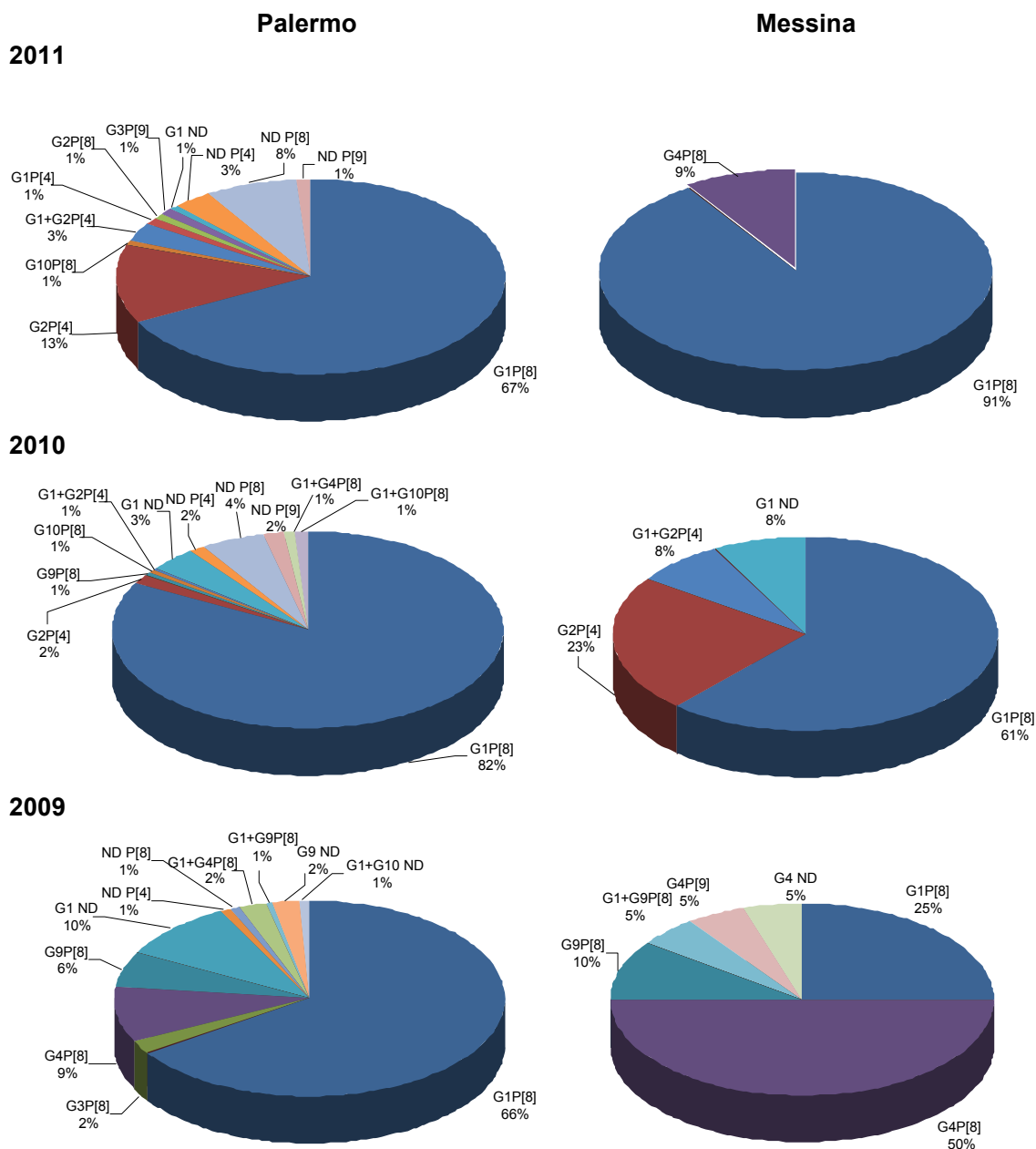


Figura 5. Genotipi di rotavirus circolanti in Sicilia negli anni 2009-2011

La stagionalità delle infezioni da RV in Sicilia comprende la fine dell'inverno e tutta la primavera (da febbraio a luglio), leggermente in ritardo rispetto a quanto si osserva nelle regioni del Centro e del Nord d'Italia (16). Nel 2011 qualche differenza nella dinamica temporale della circolazione si è osservata fra i due versanti dell'isola, poiché a Messina non sono stati osservati casi prima di aprile. Il ritardo osservato nella circolazione di RV a Messina, se confermato in futuro, potrebbe suggerire l'istaurarsi di un gradiente di diffusione regionale per queste infezioni, analogamente a quanto osservato in Europa e nel Nord America (17, 18). La

genotipizzazione degli isolati effettuata nel laboratorio accreditato sub-nazionale di Palermo ha consentito di stabilire che la circolazione regionale nel 2011 è stata sostenuta principalmente dal genotipo G1P[8]. Nel 2011 in Sicilia le infezioni con genotipi “comuni” hanno rappresentato il 96,4% del totale, considerando solo i ceppi interamente tipizzati, similmente a quanto riscontrato nei due anni precedenti. Ceppi con formula antigenica “inusuale”, “atipica” o di possibile provenienza animale sono stati riscontrati solo occasionalmente, ma l’identificazione del genotipo G10P[8] a Palermo nel 2010 e 2011 rappresenta una novità assoluta per la Sicilia. Degno di nota è il ritrovamento nel 2011 a Palermo di un ceppo del genotipo umano “inusuale” G3P[9], che già in passato era stato riscontrato occasionalmente nella stessa area rivelando la circolazione di ceppi riassortanti di origine animale (9, 11). La seppur limitata quantità di infezioni miste (dal 2,5 al 3,6% annuo a Palermo) non è da sottovalutare, in quanto queste co-infezioni rappresentano l’occasione per eventi di riassortimento genico da cui possono originare ceppi con caratteristiche originali. Sebbene il genotipo G1P[8] sia stato largamente predominante in Sicilia negli ultimi tre anni, è stato possibile osservare alcune differenze fra Palermo e Messina nella residuale circolazione di ceppi “comuni” nel corso del triennio 2009-2011. A Messina i ceppi G4P[8] sono stati prevalenti nel 2009 e la circolazione di genotipi “comuni” non-G1 è stata più abbondante nel complesso del triennio e qualitativamente diversa rispetto a Palermo. Questi dati suggeriscono che possano esserci differenze nella circolazione locale dei genotipi anche a livello provinciale, così come già riscontrato a livello regionale (16). In particolare, la consistente circolazione di ceppi G2P[4] a Palermo nel 2011, dopo un prolungato periodo di circolazione predominante di G1P[8] e di altri genotipi P[8], potrebbe dipendere da una maggiore capacità di questi ceppi di sfuggire all’immunità acquisita dalla popolazione pediatrica locale nei precedenti anni di alta prevalenza dell’infezione da RV. Il riscontro di una circolazione di RV largamente sostenuta da genotipi “comuni” dovrebbe garantire anche in Sicilia l’efficacia della vaccinazione di massa con i vaccini attualmente disponibili. Tuttavia, la presenza costante di una piccola quota di ceppi “non comuni” potrebbe rappresentare una riserva di diversità genetica per i RV della nostra area geografica, eventualmente alimentata dai flussi di migrazione di popolazioni, per i quali la Sicilia rappresenta una delle porte di accesso all’Europa. L’impatto della varietà genotipica locale sulla circolazione di RV in epoca post-vaccinale è difficile da prevedere, ma una costante sorveglianza epidemiologica rappresenta l’unica risorsa disponibile per individuare prontamente la diffusione di tipi virali emergenti (19). Anche nel 2011, come già negli anni precedenti, i dati raccolti sulla circolazione dei RV in Sicilia hanno contribuito ad alimentare la banca dati nazionale del RotaNet-Italia presso l’Istituto Superiore di Sanità e, per suo tramite, quella del network europeo EuroRotaNet. Il contributo della Sicilia può rappresentare una risorsa strategica nell’acquisizione di dati sulla circolazione di RV nei Paesi del Sud Europa anche per il suo ruolo di regione sentinella dell’introduzione di ceppi “non comuni” con i flussi migratori. Pertanto, siamo fiduciosi che i dati acquisiti nella nostra regione possano avere un ruolo nel contribuire a definire le migliori strategie per un efficace controllo delle infezioni da RV in Italia e in Europa.

Bibliografia

1. Arista S, Giovannelli L, Passarani N, Titone L, Gerna G. Electropherotyping of human rotaviruses: an epidemiological survey of rotavirus infections in Sicily. *European Journal of Epidemiology* 1986;2(2):104-7.
2. Arista S, Giovannelli L, Pistoia D, Cascio A, Parea M, Gerna G. Electropherotypes, subgroups and serotypes of human rotavirus strains causing gastroenteritis in infants and young children in Palermo, Italy, from 1985 to 1989. *Research in Virology* 1990;141(4):435-48.

3. Arista S, Vizzi E, Ferraro D, Cascio A, Di Stefano R. Distribution of VP7 serotypes and VP4 genotypes among rotavirus strains recovered from Italian children with diarrhea. *Archives of Virology* 1997;142(10):2065-71.
4. Arista S, Giammanco GM, De Grazia S, Migliore MC, Martella V, Cascio A. Molecular characterization of the genotype G9 human rotavirus strains recovered in Palermo, Italy, during the winter of 1999-2000. *Epidemiology and Infection* 2004;132(2):343-9.
5. Arista S, Giammanco GM, De Grazia S, Colomba C, Martella V. Genetic variability among serotype G4 Italian human rotaviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 2005;43(3):1420-5.
6. Arista S, Giammanco GM, De Grazia S, Colomba C, Martella V, Cascio A, Iturriza-Gòmara M. G2 rotavirus infections in an infantile population of the South of Italy: variability of viral strains over time. *Journal of Medical Virology* 2005;77(4):587-94.
7. Arista S, Giammanco GM, De Grazia S, Ramirez S, Lo Biundo C, Colomba C, Cascio A, Martella V. Heterogeneity and temporal dynamics of evolution of G1 human rotaviruses in a settled population. *Journal of Virology* 2006;80(21):10724-33.
8. De Grazia S, Martella V, Colomba C, Cascio A, Arista S, Giammanco GM. Genetic characterization of G3 rotaviruses detected in Italian children in the years 1993-2005. *Journal of Medical Virology* 2009;81(12):2089-95.
9. De Grazia S, Martella V, Giammanco GM, Iturriza Gòmara M, Ramirez S, Cascio A, Colomba C, Arista S. Canine-origin G3P[3] rotavirus strain in child with acute gastroenteritis. *Emerging Infectious Diseases* 2007;13(7):1091-3.
10. De Grazia S, Giammanco GM, Martella V, Ramirez S, Colomba C, Cascio A, Arista S. Rare AU-1-like G3P[9] human rotaviruses with a Kun-like NSP4 gene in children with diarrhea in Italy. *Journal of Clinical Microbiology* 2008;46(1):357-60.
11. De Grazia S, Giammanco GM, Potgieter CA, Matthijnssens J, Bányai K, Platia MA, Colomba C, Martella V. Unusual assortment of segments in 2 rare human rotavirus genomes. *Emerging Infectious Diseases* 2010;16(5):859-62.
12. De Grazia S, Martella V, Rotolo V, Bonura F, Matthijnssens J, Bányai K, Ciarlet M, Giammanco GM. Molecular characterization of genotype G6 human rotavirus strains detected in Italy from 1986 to 2009. *Infection, Genetics and Evolution* 2011;11(6):1449-55.
13. Martella V, Potgieter AC, Lorusso E, De Grazia S, Giammanco GM, Matthijnssens J, Bányai K, Ciarlet M, Lavazza A, Decaro N, Buonavoglia C. A feline rotavirus G3P[9] carries traces of multiple reassortment events and resembles rare human G3P[9] rotaviruses. *Journal of General Virology* 2011;92(5):1214-21.
14. Matthijnssens J, De Grazia S, Piessens J, Heylen E, Zeller M, Giammanco GM, Bányai K, Buonavoglia C, Ciarlet M, Martella V, Van Ranst M. Multiple reassortment and interspecies transmission events contribute to the diversity of feline, canine and feline/canine-like human group A rotavirus strains. *Infection, Genetics and Evolution* 2011;11(6):1396-406.
15. Pang XL, Lee B, Boroumand N, Leblanc B, Preiksaitis JK, Yu Ip CC. Increased detection of Rotavirus using a Real Time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) assay in stool specimens from children with diarrhea. *Journal of Medical Virology* 2004;72(3):496-501.
16. Ruggeri FM, Delogu R, Petouchoff T, Tcheremenskaia O, De Petris S, Fiore L. RotaNet-Italy Study Group. Molecular characterization of rotavirus strains from children with diarrhea in Italy, 2007-2009. *Journal of Medical Virology* 2011;83(9):1657-68.
17. Iturriza-Gòmara M, Dallman T, Banyai K, Bottiger B, Buesa J, Diedrich S, Fiore L, Johansen K, Koopmans M, Korsun N, Koukou D, Kroneman A, Laszlo B, Lappalainen M, Maunula L, Marques AM, Matthijnssens J, Midgley S, Mladenova Z, Nawaz S, Poljsak-Prijatelj M, Pothier P, Ruggeri FM, Sanchez-Fauquier A, Steyer A, Sidaraviciute-Ivaskeviciene I, Syriopoulou V, Tran AN, Usonis V, van Ranst M, de Rougemont A, Gray J. Rotavirus genotypes co-circulating in Europe between 2006

- and 2009 as determined by EuroRotaNet, a pan-European collaborative strain surveillance network. *Epidemiology and Infection* 2010;139(6):895-909.
18. Turcios RM, Curns AT, Holman RC, Pandya-Smith I, LaMonte A, Bresee JS, Glass RI. Temporal and geographic trends of rotavirus activity in the United States, 1997–2004. *The Pediatric infectious disease journal* 2006; 25(5):451-4.
 19. Giammanco MD, Coniglio MA, Pignato S, Giammanco G. An economic analysis of rotavirus vaccination in Italy. *Vaccine* 2009;27(29):3904-11.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE DELLE GASTROENTERITI DA ROTAVIRUS IN SARDEGNA

Paolo Castiglia (a), Giovanni Sotgiu (a), Andrea Cossu (a), Caterina Serra (b), Paolina Olmeo (c), Stefano Madeddu (a), Giorgio Maida (a), Andrea Piana (a)

(a) *Struttura di Igiene e Medicina Preventiva, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari – Azienda Ospedaliera Universitaria Sassari, Sassari*

(b) *Unità di Virologia, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari – Azienda Ospedaliera Universitaria Sassari, Sassari*

(c) *Unità di Pediatria Infettiva, Azienda Ospedaliera Universitaria Sassari, Sassari*

Introduzione

Il sistema di sorveglianza delle infezioni da rotavirus è stato implementato nel Nord Sardegna, a partire da marzo 2010, nell'ambito delle attività del Centro di Riferimento Regionale per la Sorveglianza delle Paralisi Flaccide Acute, attivato già dal 1997 presso l'allora Istituto di Igiene e Medicina Preventiva dell'Università degli Studi di Sassari, ora Struttura di Igiene e Medicina Preventiva del Dipartimento di Scienze Biomediche dell'Università degli Studi di Sassari - Azienda Ospedaliera Universitaria (AOU) Sassari. Il Centro collabora, per quanto attiene l'aspetto clinico, con il Unità di Pediatria Infettiva della Clinica Pediatrica di Sassari, cui afferiscono i piccoli pazienti affetti da gastroenterite acuta che necessitano di ricovero nel territorio del Nord Sardegna (essenzialmente dalla Provincia di Sassari e di Olbia-Tempio per un totale di circa 15.000 bambini residenti di età 0-5 anni), mentre per quanto attiene gli aspetti diagnostici, con l'Unità operativa di Virologia della AOU di Sassari e con l'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

Materiali e metodi

I casi sono rappresentati da bambini in età pediatrica ospedalizzati per gastroenterite acuta presso l'Unità di Infettivi della Clinica Pediatrica. Per ciascun caso viene raccolto un campione di feci in fase acuta, il quale viene inviato per l'accertamento diagnostico presso l'unità di Virologia e processato con test diagnostici commerciali in uso per la routine diagnostica (KIT latex o ELISA, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). I campioni positivi per rotavirus vengono quindi segnalati al Centro di riferimento regionale che si attiva per lo stoccaggio mediante congelamento e successivo invio dei campioni di feci all'ISS per la genotipizzazione dei virus. Parallelamente, il Centro di riferimento regionale provvede alla raccolta delle informazioni cliniche ed epidemiologiche attraverso un questionario predisposto dall'ISS. Periodicamente, l'ISS restituisce al Centro i risultati della genotipizzazione.

Risultati

Dall'inizio della sorveglianza, nel periodo marzo 2010 – dicembre 2011, sono stati complessivamente diagnosticati come positivi per la presenza di rotavirus 142 campioni fecali. Di questi, 55 erano relativi al periodo marzo 2010 – dicembre 2010, 87 all'anno 2011.

I dati osservati portano a una stima dell'incidenza nel periodo di circa 5 nuovi ricoveri per 1.000 soggetti (IC95%: 4,4-6,1 per 1000), valore che si discosta significativamente ($p<0,05$) rispetto al dato previsto del 3/1.000, sulla base di modellizzazione matematica effettuata per l'Italia (1).

Nella stagione compresa tra settembre 2010 e agosto 2011, sono stati identificati 24 campioni fecali provenienti da bambini con età compresa tra 0 e 10 anni.

La Figura 1 riporta, per mese di osservazione, il numero dei nuovi ricoveri per gastroenterite acuta da rotavirus a Sassari. L'andamento del grafico mette in rilievo alcune peculiarità epidemiologiche: in relazione al numero di casi attesi per la stagionalità tipica delle infezioni da rotavirus, era atteso un andamento con picco nei mesi invernali secondo l'andamento della curva tratteggiata, che per il 2011 rispecchia bene l'osservazione di un numero crescente di casi in quel periodo dell'anno.

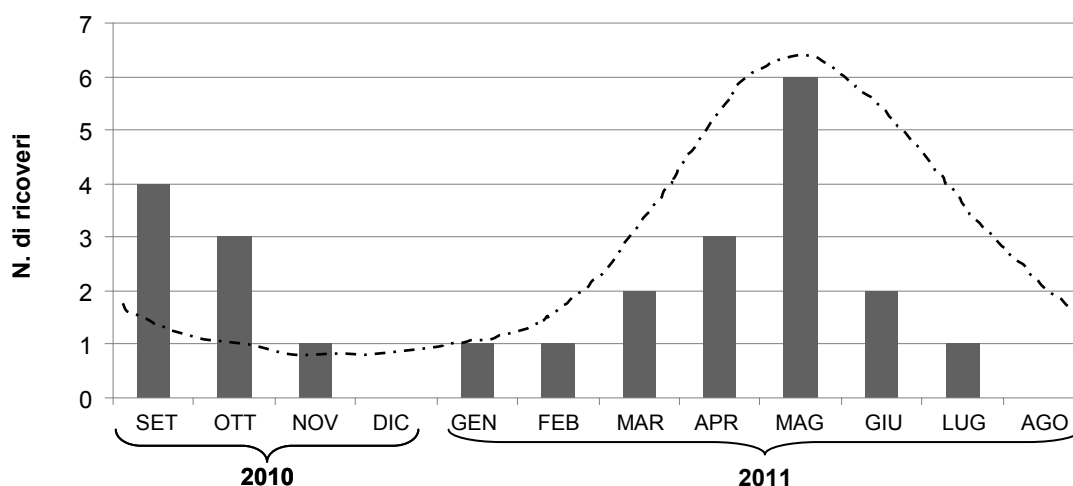


Figura 1. Andamento dei ricoveri per mese di osservazione

Relativamente ai genotipi tipizzati, anche nel territorio sorvegliato, così come in ambito nazionale, quelli prevalenti sono stati il G1P[8] (13/24; 54%) e il G9P[8] (3/24; 13%); da segnalare la presenza di infezioni miste (17%) nonché il riscontro, relativamente al secondo anno di osservazione, del genotipo “non comune” G8P[4] (2/24). Il picco epidemico, nell'anno 2011, è attribuibile al solo genotipo G1P[8], unico genotipo identificato da maggio 2011 in poi.

Relativamente alla distribuzione dei ricoveri per età, i dati evidenziano che, in linea con quanto osservato in ambito nazionale, la fascia di età maggiormente interessata era quella compresa tra i 3 e i 4 anni. Tale aspetto è immediatamente apprezzabile dalla Figura 2, che riporta la distribuzione cumulativa per età dei ricoveri durante il periodo di osservazione: il 95% dei casi si manifesta entro i 4 anni età.

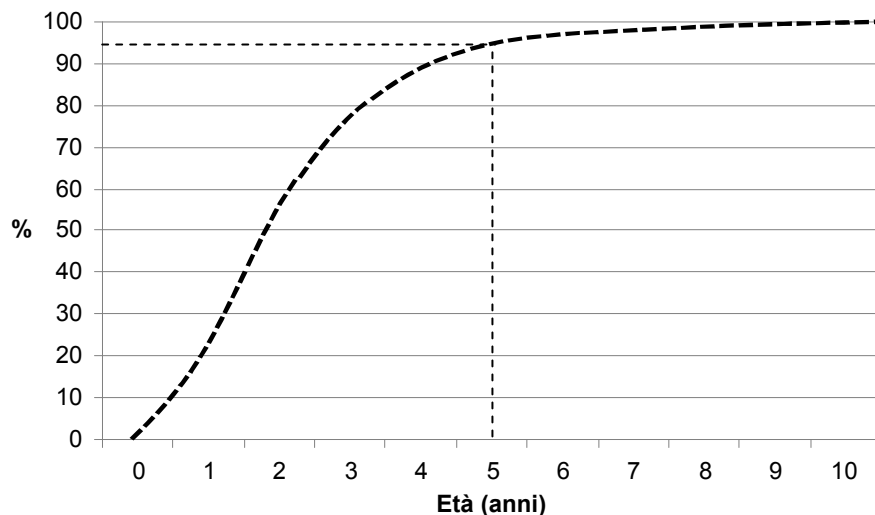


Figura 2. Distribuzione cumulativa dei ricoveri per gastroenterite da rotavirus per età

Conclusioni

I dati dell'attività di sorveglianza dei ricoveri da rotavirus nel Nord Sardegna, pur se relativi a un periodo di osservazione limitato, sono tuttavia suggestivi di alcune brevi considerazioni. L'incidenza di nuovi ricoveri nel periodo è apparsa superiore rispetto a quella attesa sulla base degli indicatori nazionali. Questo eccesso di incidenza può essere attribuito da un lato ad un maggior numero di casi osservati nella coda della stagione invernale 2010, nella quale è stato peraltro identificato un genotipo nuovo (G8P[4]), dall'altro a un picco epidemico nella primavera 2011, totalmente ascrivibile al genotipo G1P[8]. La maggior parte dei ceppi appartiene ai genotipi G1, G2 e G9 associati con P[8] o P[4]. Pertanto, tali dati evidenziano che la copertura antigenica, potenzialmente fornita dagli attuali vaccini in distribuzione, appare ottimale per i ceppi circolanti nel territorio sardo. Peraltro, va segnalato che la vaccinazione anti-rotavirus al momento non è stata ancora implementata nel calendario vaccinale della Sardegna e che la copertura su base volontaria è assolutamente sporadica. Pertanto, si può asserire che i dati osservati sono indipendenti da una immunizzazione artificiale e che il quadro rilevato è quello della storia naturale dell'infezione in era pre-vaccinale. Nelle more dell'implementazione del vaccino anche nel territorio della Sardegna, appare importante sottolineare la necessità di continuare a sorvegliare i ceppi circolanti per poter valutare in futuro sia l'adeguatezza rispetto ai vaccini disponibili che la possibilità di apprezzare modificazioni epidemiologiche dei genotipi circolanti eventualmente selezionati dalla pressione del vaccino (*replacement*).

Bibliografia

1. Tozzi E, *et al.* Le gastroenteriti da rotavirus. Ospedale Pediatrico Bambino Gesù. *Formazione Continua in Pediatria* 2006;1(4):190-206.

**RotaNet-Italia:
caratterizzazione molecolare e filogenesi
di rotavirus identificati in casi clinici e nell'ambiente**

ANALISI MOLECOLARE DI ROTAVIRUS DI SPECIFICITÀ P[8] CIRCOLANTI NELL'AREA DI PARMA

Maria Cristina Medici, Fabio Tummolo, Paola Guerra, Carlo Chezzi, Adriana Calderaro
Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Parma, Parma

Introduzione

La sorveglianza sulla circolazione dei genotipi di rotavirus (RV) rilevati in bambini con enterite ricoverati o osservati ambulatorialmente durante il periodo 1987-1990 e negli anni 2004-2005 e 2008-2011 nell'area di Parma ha dimostrato una significativa predominanza di RV G1P[8] in ciascun anno, sebbene con marcate fluttuazioni nel corso degli anni. Fluttuazioni di prevalenza sono state osservate anche per RV G4P[8].

Oltre a RV G1P[8] e G4P[8], identificati complessivamente nel 57,5% (407/708) e 6,4% (45/708), rispettivamente, hanno circolato ceppi G2P[4] (2,8%), G2P[8] (0,1%), G3P[4] (0,1%), G3P[6] (0,1%), G3P[8] (5,6%), G9P[8] (13%), G8P[14] (0,1%), G10P[14] (0,1%). In aggiunta, sono state riscontrate co-infezioni con più ceppi appartenenti a diversi G e/o P-tipi (14%) (Tabella 1).

Tabella 1. Genotipi di rotavirus identificati nell'area di Parma nel periodo 1987-1990, e negli anni 2004, 2005 e 2008-2011

Genotipo	Anni							Totale
	1987-1990	2004	2005	2008	2009	2010	2011	
	n. (%)	n. (%)	n. (%)	n. (%)	n. (%)	n. (%)	n. (%)	
G1P[8]	41 (55,4)	56 (67,5)	60 (32)	65 (67,7)	34 (42)	69 (71,1)	79 (96,3)	407
G2P[4]	1 (1,4)	3 (3,6)	5 (2,7)	1 (1)	10 (11,4)		1 (1,2)	21
G2P[8]						1 (1,1)		1
G3P[4]						1 (1,1)		1
G3P[6]						1 (1,1)		1
G3P[8]			30 (16)		6 (6,8)	4 (4,1)		40
G4P[8]	1 (1,4)	13 (15,7)	1 (0,5)	2 (2,1)	9 (10,3)	19 (19,6)		45
G9P[8]		3 (3,6)	78 (41,4)	6 (6,3)	5 (5,7)			92
G8P[14]		1 (1,2)			1 (1,1)			2
G10P[14]					1 (1,1)			1
G e/o P multipli	31 (41,9)	7 (8,4)	14 (7,4)	22 (22,9)	19 (21,6)	2 (2,1)	2 (2,4)	97
Totale	74	83	188	96	88	97	82	708

Per indagare se le fluttuazioni delle prevalenze di RV G1P[8] e RV G4P[8] rilevate nel corso degli anni potessero dipendere da possibili variazioni genetiche di questi genotipi, alcuni ceppi rappresentativi di quelli circolanti nei vari anni sono stati sottoposti ad analisi di sequenza e filogenetica.

Risultati

L'analisi filogenetica è stata condotta utilizzando il programma *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA) versione 5.0, applicando metodi di costruzione e modelli di correzione statistica appropriati (metodo “neighbour-joining”, modello “Kimura-2-parametri”).

Il dendrogramma costruito sul gene VP7 dei ceppi G1P[8] ha dimostrato che tutti i ceppi investigati segregavano nel lignaggio I, nel quale si distribuivano in tre sub-lignaggi (Ia, Ic e Id), dei quali quello Ia comprendeva il maggior numero di ceppi (Figura 1).

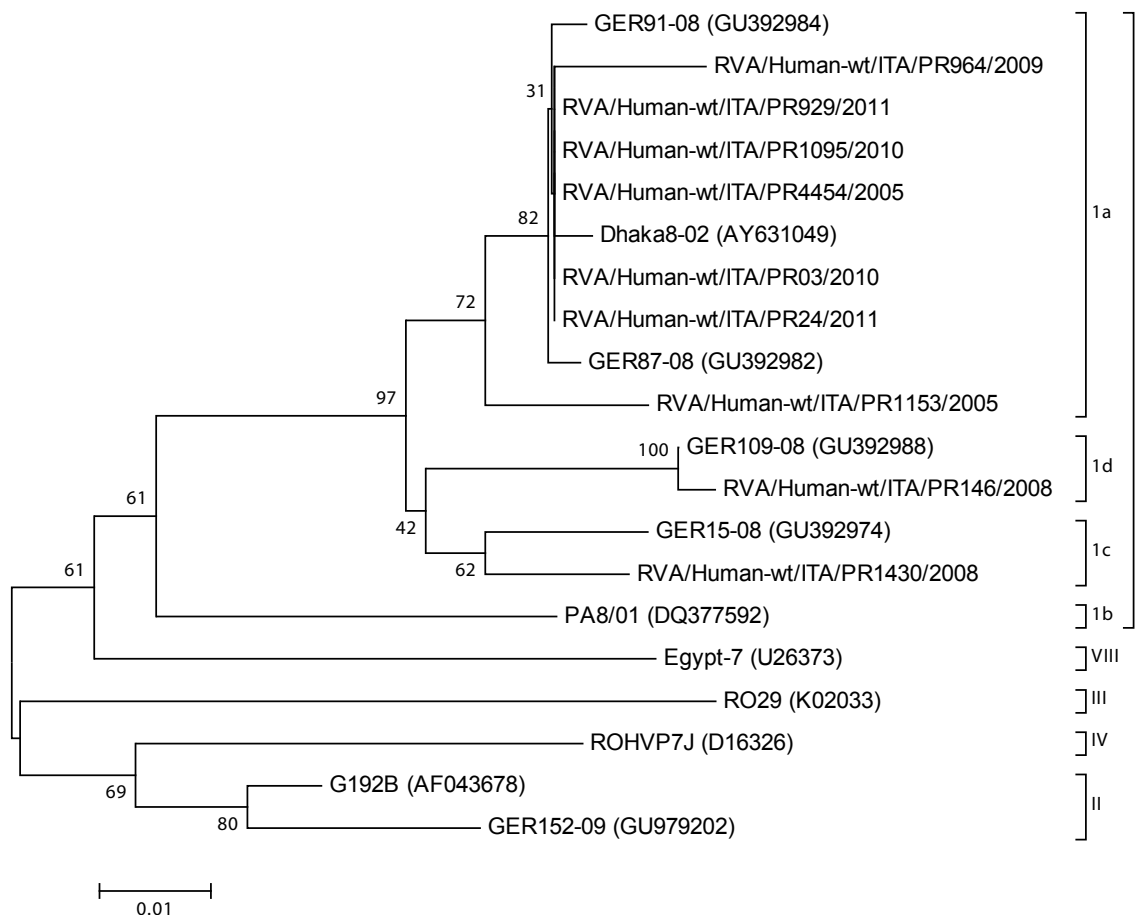


Figura 1. Dendrogramma del gene VP7 di ceppi G1P[8] rilevati nell'area di Parma (2004-2005 e 2008-2011)

Il dendrogramma costruito sul gene VP4 ha dimostrato che tutti i ceppi G1P[8] erano ascrivibili al lignaggio P8-III, nell'ambito del quale quelli circolanti nel 2010 apparivano essersi originati in progressione lineare nel corso degli anni da quelli circolanti nel 2004 (Figura 2).

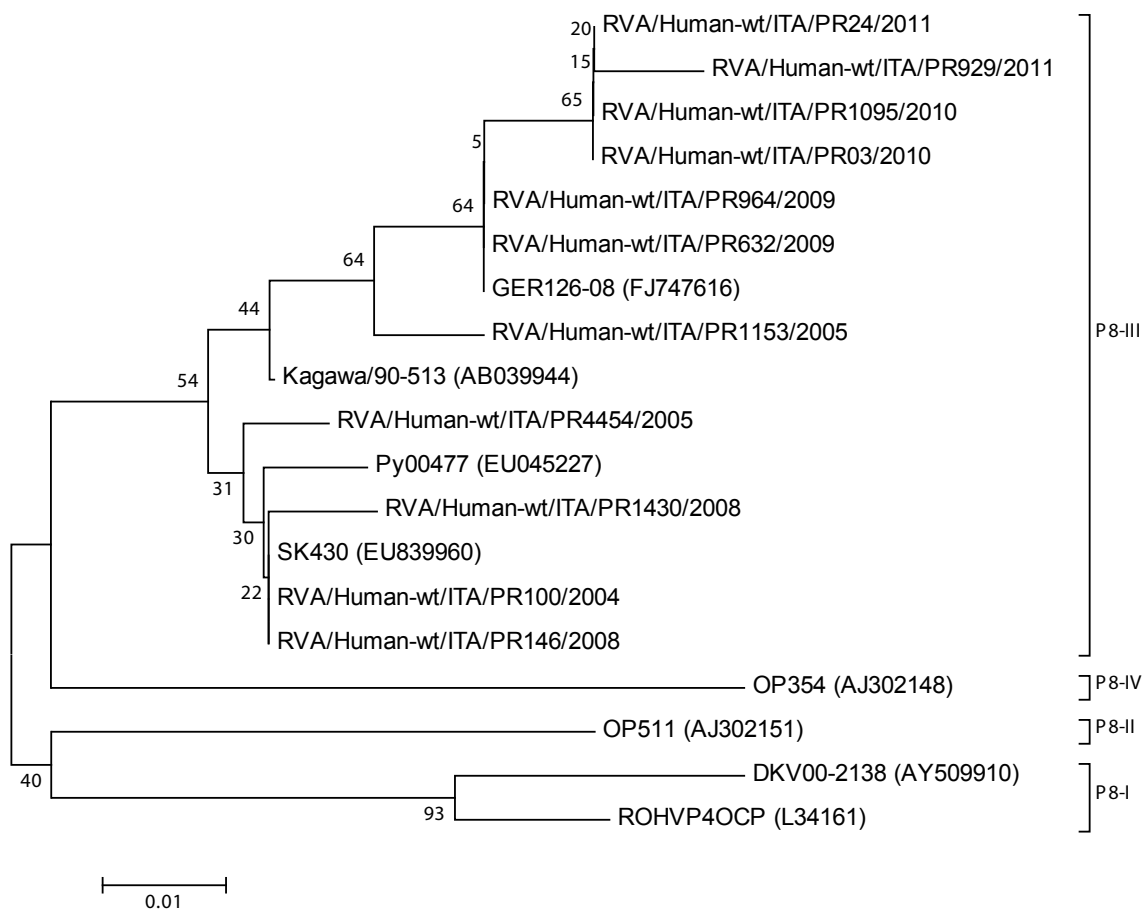


Figura 2. Dendrogramma del gene VP4 di ceppi G1P[8] rilevati nell'area di Parma (2004-2005 e 2008-2011)

L'analisi dei ceppi G4P[8] ha dimostrato che essi possedevano un alto grado di omologia nucleotidica delle sequenze del gene VP7, che segregavano riunite nel lignaggio IC (Figura 3), ed erano, relativamente al gene VP4, ascrivibili al lignaggio P8-III, nell'ambito del quale quelli circolanti nel 2004 si riunivano in un sub-lignaggio minore, mentre in un sub-lignaggio maggiore segregavano in progressione ceppi circolanti dal 2005 al 2010 (Figura 4).

L'analisi filodinamica, condotta attraverso una ricostruzione filogenetica Bayesiana, di una sequenza di 780 nt del gene VP4 di 65 ceppi di tipo-P8-III associati a diversi G-tipi (G1, G3, G4 e G9) circolanti nel 1988 e negli anni 2004-2005 e 2008-2011, ha dimostrato che le sequenze P8-III erano suddivise in massima parte in molteplici sub-lignaggi, ciascuno comprendente sequenze di ceppi circolanti in un anno diverso (Figura 2). In particolare si distinguevano sub-lignaggi comprendenti sequenze con discreta variabilità genetica appartenenti a ceppi circolanti negli anni contraddistinti da una maggior prevalenza (G1P[8]: 2004 (67,5%), 2008 (67,7%), 2010 (71,1%), 2011 (96,3%); G3P[8]: 2005 (16%); G4P[8]: 2004 (15,7%), 2009 (10,3%), 2010 (19,6%) e sub-lignaggi comprendenti sequenze con una più alta omologia nucleotidica appartenenti a ceppi circolanti negli anni contraddistinti da una minor prevalenza (G1P[8]: 2005 (32%) e 2009 (42%); G3P[8]: 2009 (6,8%) e 2010 (4,1%); G4P[8]: 2005 (0,5%) e 2008 (2,1%). D'altra parte, il ritrovamento in bassa percentuale di

sequenze P[8]-III identificate in associazione a G1 in ceppi circolanti dal 1988 al 2005, riuniti con identità nucleotidica del 95% in un nodo separato da quello da cui si sono generati gli altri sub-lignaggi induce a ritenere che per almeno 18 anni abbiano circolato, sebbene sporadicamente, anche ceppi con sequenze altamente conservate.

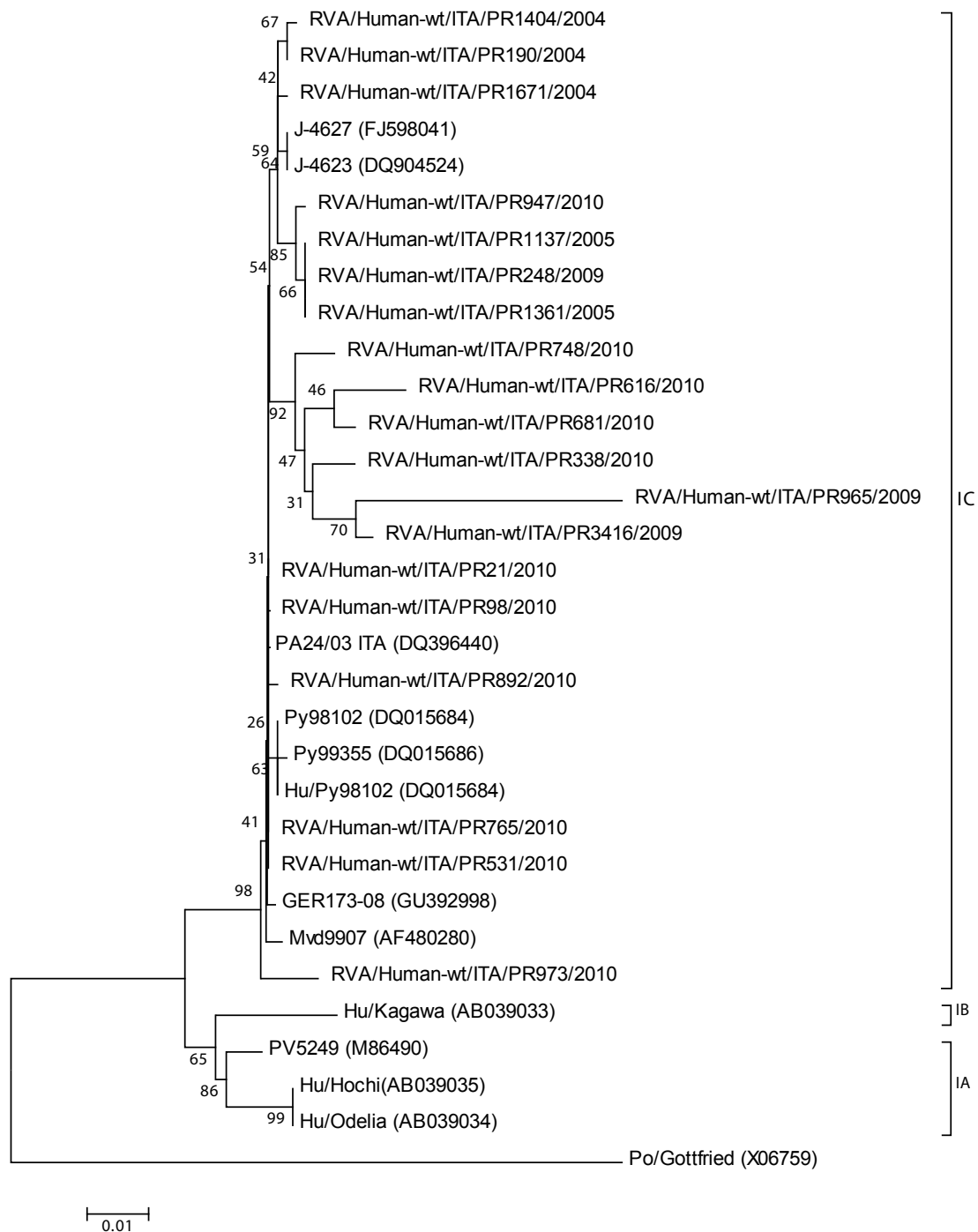


Figura 3. Dendrogramma del gene VP7(C) di ceppi G4P[8] rilevati nell'area di Parma (2004-2005 e 2008-2010)

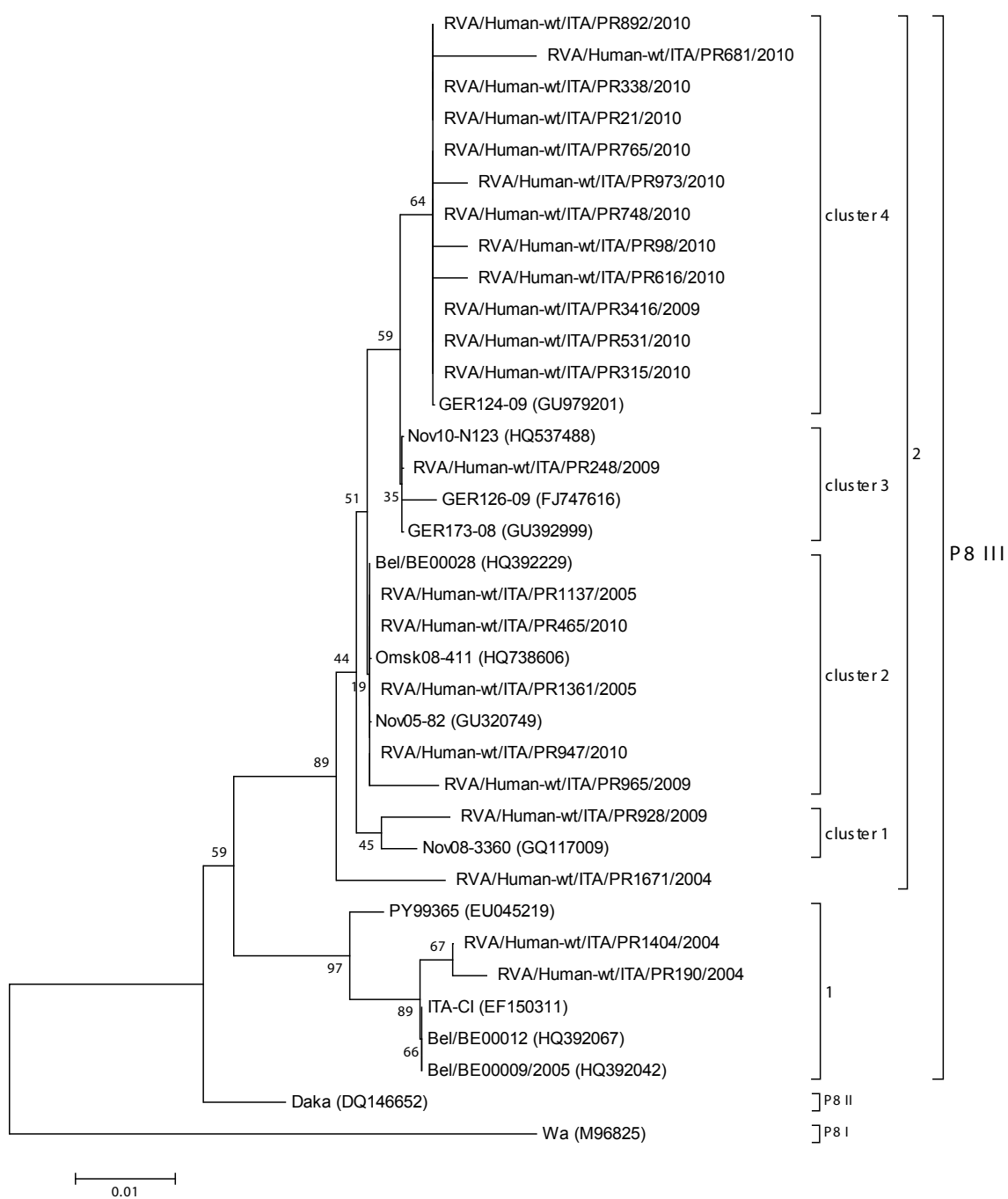


Figura 4. Dendrogramma del gene VP4 di ceppi G4P[8] rilevati nell'area di Parma (2004-2005 e 2008-2010)

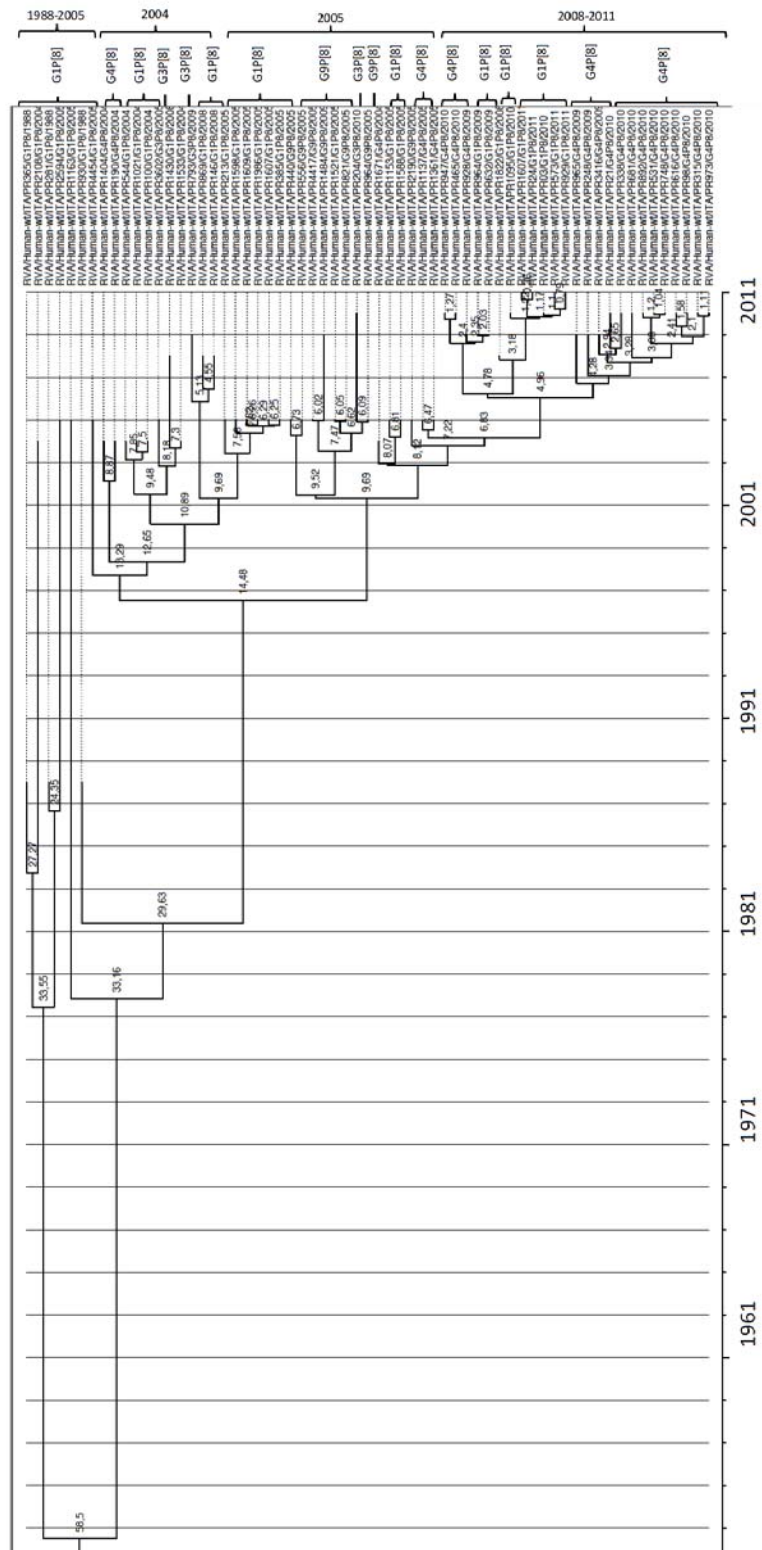


Figura 2. Ricostruzione filogenetica Bayesiana mediante analisi Markov chain Monte Carlo mediante software BEAST V 1.7 di 65 sequenze VP4 di tipo P[8]-III associate a diversi G-tipi (G1,G3,G4,G9) di rotavirus identificati a Parma (1998-1999, 2004-2005 e 2008-2011)

Conclusioni

Questa analisi condotta su ceppi di RV circolanti nell'area di Parma, seppure preliminare, sembra dimostrare, in primo luogo, che la circolazione dei genotipi G1P[8] e G4P[8] di RV non correla con cambiamenti nucleotidici sul gene VP7, ma piuttosto con cambiamenti delle sequenze di lignaggio P[8]-III sul gene VP4, confermando la maggior variabilità di questo gene rispetto al gene VP7, e, in secondo luogo, che le sequenze P[8]-III evolvono in continua progressione. Inoltre, la stessa analisi suggerisce che rapidi eventi di riassortimento abbiano prodotto negli anni nuove combinazioni di G-tipi (G1, G3, G4 e G9) con diversi sub-lignaggi P[8]-III e che tali combinazioni siano state responsabili di epidemie come pure della riduzione della circolazione e/o della emergenza/ri-emergenza di taluni genotipi.

FILOGENESI DI CEPPI DI ROTAVIRUS UMANI G9P[8] IDENTIFICATI IN ITALIA, 2007-2010

Giovanni Ianaro (a), Roberto Delogu (a), Franco M. Ruggeri (b), Lucia Fiore (a)

(a) Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione dei Prodotti Immunobiologici, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

I rotavirus di gruppo A (RVA) causano gastroenterite acuta tra pazienti in età pediatrica e sono responsabili, ogni anno, di circa 450.000 morti per disidratazione (1). Questo fenomeno rappresenta una piaga sociale nei Paesi in via di sviluppo e, per questo motivo, la vaccinazione è raccomandata. Circa il 90% delle gastroenteriti acute da RVA in tutto il mondo sono causate dai cinque genotipi considerati comuni negli umani: G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] e G9P[8]. In Italia, durante la sorveglianza rotavirus condotta tra il 2007 e il 2010, il genotipo prevalente è risultato essere il G1P[8] (44,9%) seguito dal G9P[8] (22,4%) (2). Vista l'alta circolazione in Italia del genotipo G9P[8], è stata effettuata un'analisi molecolare di alcuni ceppi che esibivano questo specifico genotipo al fine di una loro più approfondita caratterizzazione.

Risultati

L'analisi filogenetica dei 15 ceppi di rotavirus di genotipo G9P[8] identificati ha mostrato, per il gene VP7, identità nucleotidiche comprese tra 96,5% e 100% (Figura 1).

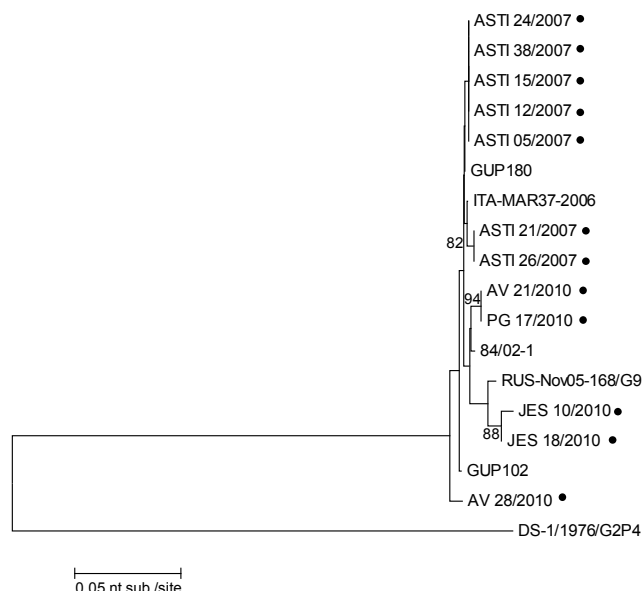


Figura 1. Dendrogramma relativo al gene VP7
(i ceppi G9P[8] studiati sono evidenziati con un cerchio nero)

I ceppi hanno, inoltre, mostrato un'elevata identità nucleotidica anche con sequenze di altri ceppi di genotipo G9 identificati in Italia (nel 2002), Russia e Korea. I genotipi italiani G9 analizzati hanno per la maggior parte mostrato elevata identità nucleotidica con ceppi circolanti nella stessa area geografica e nello stesso periodo, ad eccezione di 2 ceppi identificati ad Aversa, in Campania, i quali presentavano un'identità nucleotidica del 96,5% e appartenevano a due cluster distinti.

Conclusioni

L'analisi filogenetica del gene VP7 ha mostrato un'alta conservazione tra i ceppi di rotavirus G9P[8] identificati dai casi di gastroenterite acuta dal 2007 al 2010 in diverse regioni d'Italia. L'analisi delle sequenze di VP7 ha rilevato un'elevata identità nucleotidica (range 96,5-100%), ma anche divergenze in siti antigenicamente rilevanti (dati non mostrati). Tali divergenze sembrano derivare esclusivamente da eventi casuali di mutazione puntiforme, i quali rappresentano un meccanismo costante e molto importante per l'evoluzione dei rotavirus.

Bibliografia

1. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases* 2012;12:136-41.
2. Ruggeri FM, Delogu R, Petouchoff T, Tcheremenskaia O, De Petris S, Fiore L. Molecular characterization of rotavirus strains from children with diarrhea in Italy, 2007-2009. *Journal of Medical Virology* 2011;83:1657-68.

SORVEGLIANZA AMBIENTALE DI ROTAVIRUS IN ALCUNE CITTÀ ITALIANE E CORRELAZIONE CON CEPPI IDENTIFICATI IN BAMBINI CON GASTROENTERITE, NELLE STESSE CITTÀ E PERIODO

Paolo Bonomo (a), Andrea Battistone (a), Roberto Delogu (a), Giovanni Ianaro (a),
Franco M. Ruggeri (b), Michele Labianca (c), Josef Simeoni (d), Francesca Pennino (e),
Antonella Cicala (f), Paolo Castiglia (g), Lucia Fiore (a)

(a) *Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione dei Prodotti Immunobiologici, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(c) *Osservatorio Epidemiologico Regione Puglia, Bari*

(d) *Comprensorio Sanitario di Bolzano, Bolzano*

(e) *Università degli studi di Napoli "Federico II", Napoli*

(f) *Agenzia Municipalizzata Acquedotto di Palermo SpA, Palermo*

(g) *Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari, Sassari*

Introduzione

La sorveglianza delle gastroenteriti acute da rotavirus e la loro genotipizzazione è principalmente riferita ai bambini ospedalizzati della fascia d'età 0-5 anni (1). Negli adulti, l'infezione da rotavirus può essere lieve o asintomatica, e le informazioni sulla circolazione dei rotavirus in questa popolazione sono limitate (2). I rotavirus (RV) (3) vengono eliminati attraverso le feci e confluiscono nei depuratori (4, 5).

Lo studio ha riguardato il monitoraggio dei rotavirus nei liquami, all'ingresso dei depuratori, di alcune città italiane nelle quali viene condotta anche la sorveglianza delle gastroenteriti acute in età pediatrica, al fine di confrontare i genotipi di RV identificati. In una fase preliminare è stato necessario mettere a punto un metodo rapido di concentrazione dei liquami e di identificazione molecolare dei ceppi di RV presenti. Sono stati a tal fine eseguiti esperimenti di *spiking* con il ceppo di RV di riferimento Wa per valutare il recupero virale dopo ultracentrifugazione e l'effetto degli inibitori dell'RNA sulla identificazione molecolare dei virus presenti.

Risultati

Sono stati analizzati 299 campioni di acque reflue prelevati a monte degli impianti di depurazione, nel 2010 e 2011. Nel 2010, sono stati analizzati solo 61 campioni provenienti dalle città di Bari e Napoli. Nel 2011 il campionamento è stato esteso a cinque città: Bari, Napoli, Palermo, Sassari e Bolzano. Sono stati raccolti 238 campioni che hanno permesso di analizzare un campione più significativo. I campioni sono stati concentrati e, dopo estrazione dell'RNA, sono stati genotipizzati per i geni VP7 e VP4. La percentuale media totale di positività per RV nei campioni delle 5 città prese in esame è stata del 60%, in un range variabile dal 93% di Bari nel 2010 al 31% a Napoli nel 2011 (Tabella 1).

Tabella 1. Campioni esaminati e campioni positivi per VP6 nei reflui urbani, 2010/2011

Anno	Città	N. campioni	N. campioni positivi VP6 (%)
2010	Bari	44	41 (93)
	Napoli	17	8 (47)
		61	49 (70)
2011	Bari	62	39 (63)
	Napoli	74	23 (31)
	Palermo	54	34 (63)
	Bolzano	24	15 (62)
	Sassari	24	19 (79)
		238	103 (66)
Totale 2010/2011		299	179 (60)

Il RV è stato rilevato in 179 (60%) dei campioni esaminati. Il 21,2% dei campioni RV-positivi (38/179) presentava G-tipi multipli. Sono stati complessivamente identificati 211 G-tipi; il 23,7% dei campioni (40/179) conteneva P-tipi multipli, per un totale di 212 P-tipi (Tabella 2).

Tabella 2. Genotipi G e P rilevati nei reflui urbani delle varie città 2010-2011

Geno- tipo	2010				2011										2010/2011	
	Napoli		Bari		Napoli		Bari		Bolzano		Sassari		Palermo		Totale	
	n.	%	n.	%	n.	%	n.	%	n.	%	n.	%	n.	%	n.	%
G tipi																
G1	8	88,8	40	81,6	16	55,2	21	46,7	11	52,4	18	90,0	19	50,0	133	63,0
G2	1	11,2	6	12,2	6	20,7	14	31,2	4	19,0	1	5,0	12	31,6	44	20,8
G3	0	0	0	0	2	6,9	0	0	1	4,7	0	0	0	0	3	1,5
G4	0	0	3	6,2	3	10,3	3	6,6	2	9,6	0	0	1	2,6	12	5,7
G9	0	0	0	0	2	6,9	6	13,3	3	14,3	1	5,0	6	15,8	18	8,6
G6	0	0	0	0	0	0	1	2,2	0	0	0	0	0	0	1	0,4
Totale	9		49		29		45		21		20		38		211	
P tipi																
P[8]	8	72,7	41	87,2	18	78,3	29	60,4	15	79,0	19	100	30	66,7	160	75,6
P[4]	3	27,3	6	12,8	5	21,7	18	37,5	4	21,0	0	0	15	33,3	51	24,0
P[14]	0	0	0	0	0	0	1	2,1	0	0	0	0	0	0	1	0,4
Totale	11		47		23		48		19		19		45		212	

Per il gene VP7 (tipo G), il genotipo G1 è stato trovato più frequentemente (63,0%), seguito da G2 (20,8%), G9 (8,6%) e G4 (5,7%), mentre il genotipo G3 è stato rilevato più raramente (1,5%). Per il gene VP4 (tipo P), il genotipo P[8] è stato riscontrato nel 75,8% dei campioni e il P[4] nel 23,7%. In un unico campione proveniente da Bari nel 2011 è stato rilevato sia il genotipo non comune G6 che il genotipo non comune P[14], implicando una loro possibile appartenenza a uno stesso ceppo non comune di RV.

Nonostante il genotipo G1 sia risultato predominante in tutte le città interessate, seguito dai genotipi G2, G9 e G4, sono state trovate alcune differenze nelle singole città e negli anni.

Nel 2011 il campionamento ha interessato cinque città, ed è stato possibile effettuare un confronto tra i G-tipi trovati nei liquami con quelli disponibili per i pazienti pediatrici con gastroenterite acuta; tale confronto è riportato in Figura 1. Nel complesso, è stata riscontrata una buona correlazione tra i genotipi, anche se è stata osservata una maggiore prevalenza dei genotipi G2 e G9 nei campioni di acque reflue rispetto ai casi clinici.

Analizzando la sequenza parziale del gene VP7, alcuni ceppi ambientali appartenenti ai ceppi G1 e G2 hanno mostrato una similarità molto elevata, pari al 99%, con quelli provenienti da alcuni casi clinici nelle stesse città.

L'analisi filogenetica delle sequenze parziali di VP7 e VP4 dei genotipi non comuni G6 e P[14], rilevati entrambi in un campione ambientale raccolto a Bari nel 2011, ha mostrato, per entrambi i geni, una somiglianza elevata con un ceppo clinico G6P[14], riscontrato a Bari nel 2012 (Ba46/2012/G6P[14]).

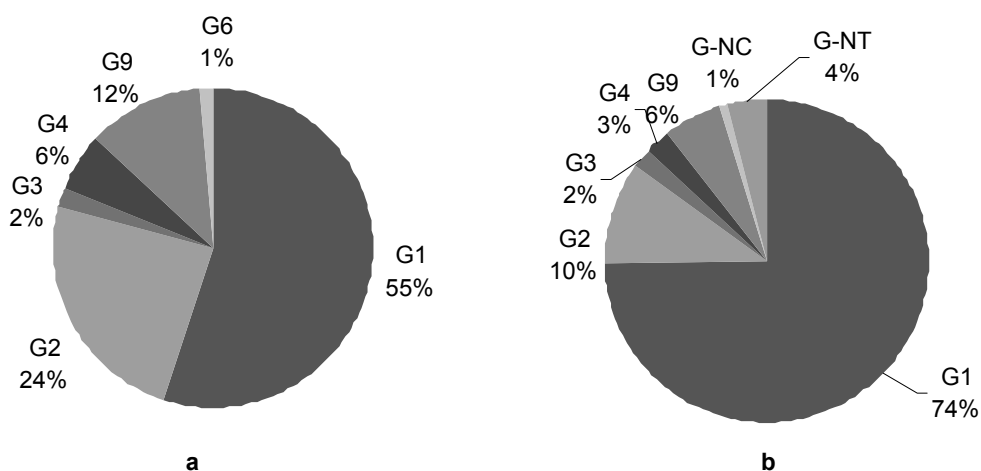


Figura 1. Confronto tra ceppi di rotavirus con specificità G trovati a) nell'ambiente, e b) nei casi clinici, nel 2011 nelle città di Napoli, Bari, Sassari e Palermo (NC: Non Comuni; NT: Non Tipizzabili)

Conclusioni

Lo studio comparativo del 2011 tra i genotipi trovati nell'ambiente e quelli identificati nei pazienti con gastroenterite acuta nelle 4 città (Napoli, Bari, Sassari e Palermo) ha mostrato complessivamente una buona correlazione, anche se è stata osservata una maggior prevalenza dei genotipi G2 e G9 nei campioni ambientali in alcune città: la presenza relativamente maggiore di questi genotipi nei liquami suggerisce una loro più diffusa circolazione nella popolazione adulta, per lo più asintomatica. L'alta prevalenza del genotipo G2 nell'ambiente è anche correlata con un'elevata presenza del genotipo P[4] nelle acque reflue urbane.

Nel complesso, i risultati confermano la circolazione di genotipi comuni, presenti nelle formule dei vaccini attualmente in commercio, sia nei pazienti con gastroenterite acuta che nell'ambiente. Ceppi di genotipo non comune di probabile origine riassortante e/o zoonotica sono stati identificati con bassa frequenza nei pazienti e raramente nell'ambiente. In particolare il genotipo G6, associato con il genotipo P[14] o con altri genotipi P, è stato sporadicamente riscontrato in Europa e in Italia nei bambini con gastroenterite acuta mentre è più diffuso in

Africa e Asia. Genotipi non comuni possono pertanto essere importati da questi Paesi e potrebbero emergere e diffondersi come avvenuto in passato per il genotipo G9P[8].

La sorveglianza ambientale dei rotavirus, come attività complementare a quella della sorveglianza dei casi clinici, può aiutare a confermare l'adeguatezza delle formule vaccinali (6) e monitorare la possibile emergenza di nuovi ceppi.

Bibliografia

1. Ruggeri FM, Delogu R, Petouchoff T, Tcheremenskaia O, De Petris S, Fiore L. Molecular characterization of rotavirus strains from children with diarrhea in Italy, 2007-2009. *Journal of Medical Virology* 2011;83:1657-1668.
2. Hopkins RS, Gaspard GB, Williams FP, Jr., Karlin RJ, Cukor G, Blacklow NR. A community waterborne gastroenteritis outbreak: evidence for rotavirus as the agent. *American Journal of Public Health* 1984;74:263-265.
3. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases* 2012;12:136-141.
4. Carter MJ. Enterically infecting viruses: pathogenicity, transmission and significance for food and waterborne infection. *Journal of Applied Microbiology* 2005;98:1354-1380.
5. Espinosa AC, Mazari-Hiriart M, Espinosa R, Maruri-Avidal L, Mendez E, Arias CF. Infectivity and genome persistence of rotavirus and astrovirus in groundwater and surface water. *Water Research* 2008; 42:2618-2628.
6. Jiang V, Jiang B, Tate J, Parashar UD, Patel MM. Performance of rotavirus vaccines in developed and developing countries. *Human Vaccines* 2010;6:532-542.

CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI ROTAVIRUS G8P[8] IDENTIFICATI IN CROAZIA NEL 2006

Roberto Delogu (a), Giovanni Ianaro (a), Franco M. Ruggeri (b), Lucia Fiore (a)

(a) Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione dei Prodotti Immunobiologici, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Nell'ambito di una collaborazione tra l'ISS e alcune strutture ospedaliere di Zagabria, in Croazia, tra il 2005 e il 2006 è stata condotta una sorveglianza delle infezioni da rotavirus (RV) nei bambini (0-5 anni) ospedalizzati per gastroenterite acuta, al fine di valutare i genotipi circolanti nel Paese.

Complessivamente, sono stati raccolti 459 campioni di feci (276 nel 2005 e 183 nel 2006), risultati RV-positivi attraverso screening con test rapido Rotalex (Orion Diagnostic). I campioni sono stati inviati all'ISS per la genotipizzazione, che è stata effettuata mediante RT-nested multiplex PCR, secondo protocolli standardizzati a livello internazionale (1). In aggiunta ai genotipi G1P[8] (22%), G2P[4] (19%), G3P[8] (5%), G4P[8] (13%) e G9P[8] (1%), sono stati identificati anche 31 ceppi con genotipo non comune G8P[8] (7%), che rappresenta un possibile riassortante uomo-animale (2). Per determinare l'origine e l'evoluzione di questo particolare genotipo, è stata condotta un'analisi filogenetica, confrontando le sequenze ottenute con quelle presenti in GenBank.

Risultati

L'analisi di sequenza per i geni per le proteine VP4 e VP7 di 10 dei ceppi G8P[8] identificati nel 2005 e nel 2006 ha mostrato un'alta identità nucleotidica (tra il 98 e il 100%) tra di loro, indicando quindi la circolazione di uno stesso ceppo nei due anni (denominato CR2006).

L'analisi filogenetica è stata condotta utilizzando il programma MEGA 5.0 (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*) versione 5.0, applicando metodi di costruzione e modelli di correzione statistica appropriati (metodo "neighbour-joining", modello "Kimura-2-parametri"). L'analisi delle sequenze del gene VP4 di alcuni campioni G8P[8] della Croazia e quelli presenti nella banca dati ha mostrato una stretta correlazione con ceppi identificati in Africa tra il 2000 e il 2004 (Etiopia e Camerun, genotipo G8P[8], 98-99% di identità), con ceppi italiani del 2005 (G9P[8], 98%) e con ceppi identificati in Belgio tra il 2006 e il 2009 (G1P[8], 99%) (Figura 1).

Per le sequenze di VP7 l'analisi ha mostrato, un'elevata identità nucleotidica con diversi ceppi africani (ARN, G8P[8]) (Etiopia, Tunisia, Camerun, 98-99%) e con un ceppo della confinante Slovenia circolato nel 2006 (SI-885, G8P[8], 98%) (Figura 2).

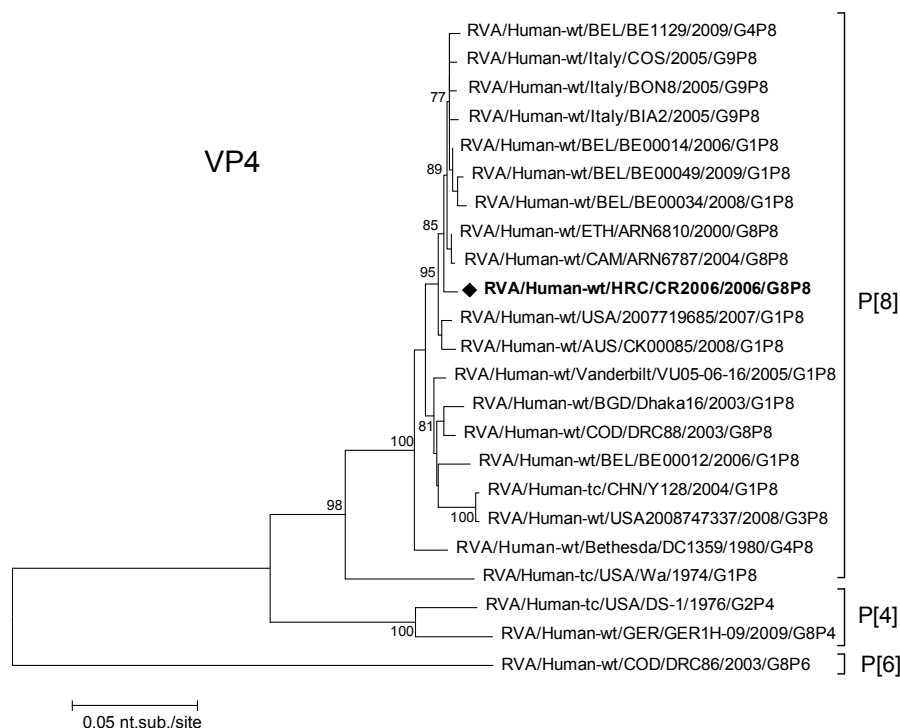


Figura 1. Albero filogenetico delle sequenze nucleotidiche del gene VP4 (il ceppo CR2006 identificato in Croazia nel 2006 è indicato in grassetto)

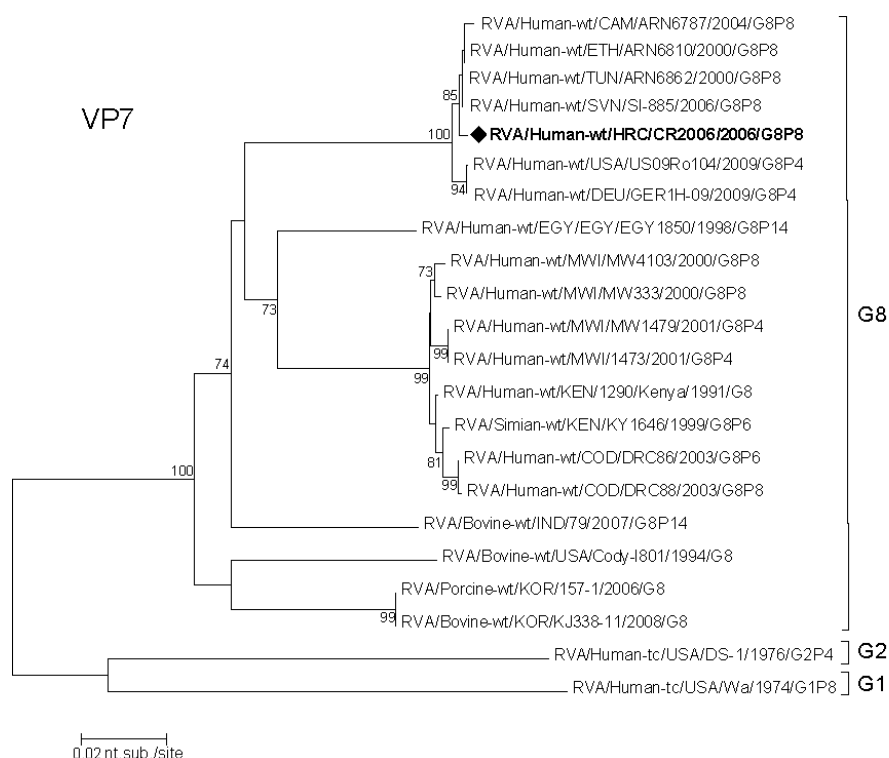


Figura 2. Albero filogenetico delle sequenze nucleotidiche del gene VP7 di ceppi di rotavirus umani e animali (il ceppo CR2006 identificato in Croazia nel 2006 è indicato in grassetto)

Conclusioni

Dall'analisi filogenetica è possibile ipotizzare che il ceppo croato G8P[8] sia originato da un riassortimento tra un ceppo di tipo Wa-like (G1P[8]) circolante in Europa, con un ceppo G8 presente in Croazia o in un Paese vicino (3). Inoltre, la stretta correlazione tra il ceppo croato e alcuni ceppi umani con genotipo G8 identificati in diversi Paesi dell'Africa centrale e settentrionale (ceppi ARN) (4) suggerisce che il gene per la VP7 (G8) sia stato originariamente importato dall'Africa.

Il ritrovamento più frequente del nuovo genotipo G8 pone attenzione sulla possibilità che anche questo ceppo emergente possa diffondersi nella popolazione, evolvendo come già osservato per il genotipo raro G9 che, negli ultimi dieci anni, è gradualmente divenuto uno dei genotipi di rotavirus riscontrati più comunemente nella popolazione mondiale, e in alcuni Paesi il genotipo prevalente.

Lo studio sottolinea la necessità di un continuo monitoraggio dei genotipi di RV circolanti, per individuare l'insorgenza di nuove varianti, derivanti dal riassortimento tra geni umani e animali o importati da Paesi esotici, e per verificare nel tempo la congruità delle formule vaccinali.

Bibliografia

1. Ruggeri FM, Delogu R, Petouchoff T, Tcheremenskaia O, De Petris S, Fiore L. Molecular characterization of rotavirus strains from children with diarrhea in Italy, 2007-2009. *Journal of Medical Virology* 2011;83:1657-68.
2. Tcheremenskaia O, Marucci G, De Petris S, Ruggeri FM, Dovecar D, Sternak SL, Matyasova I, Dhimolea MK, Mladenova Z, Fiore L. Molecular epidemiology of rotavirus in Central and Southeastern Europe. *Journal of Clinical Microbiology* 2007;45:2197-204.
3. Steyer A, Poljsak-Prijatelj M, Bufon TL, Marcun-Varda N, Marin J. Rotavirus genotypes in Slovenia: unexpected detection of G8P[8] and G12P[8] genotypes. *Journal of Medical Virology* 2007;79:626-32.
4. Esona MD, Geyer A, Page N, Trabelsi A, Fodha I, Aminu M, Agbaya VA, Tsion B, Kerin TK, Armah GE, Steele AD, Glass RI, Gentsch JR. Genomic characterization of human rotavirus G8 strains from the African rotavirus network: relationship to animal rotaviruses. *Journal of Medical Virology* 2009;81:937-51.

*Stampato da Ugo Quintily SpA
Viale Enrico Ortolani 149/151, 00125 Roma*

Roma, ottobre-dicembre 2013 (n. 4) 18° Suppl.