

**ANALISI MOLECOLARE DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCIZIALE IN BAMBINI OSPEDALIZZATI NEL PERIODO DAL 2009 AL 2015.**

D. Trotta<sup>1</sup>, M.L. Ferreri<sup>3</sup>, K. Marinelli<sup>3</sup>, P. Bagnarelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche e Sanità Pubblica, Università Politecnica delle Marche

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche e Sanità Pubblica, Università Politecnica delle Marche - SOD Virologia Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti Ancona

<sup>3</sup>SOD Virologia Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti Ancona

**INTRODUZIONE**

Tra le infezioni virali respiratorie, quelle provocate da Virus Respiratorio Sinciziale (RSV), responsabile della maggior parte delle patologie respiratorie gravi in ambito pediatrico, sono da annoverare tra le più interessanti per lo studio dell'evoluzione genetica di un virus a RNA. Il monitoraggio molecolare di questo virus nelle sue due varianti co-circolanti RSVA e RSVB deve essere costante, per la possibile interazione tra mutazioni e severità dell'infezione.

**METODI**

RSV è stato studiato per 7 stagioni epidemiche consecutive dal 2008/09 al 2014/15. Sono stati raccolti ed analizzati campioni biologici (tamponi faringei e lavaggi bronco-alveolari) provenienti da pazienti pediatrici ospedalizzati. La diagnosi è stata effettuata tramite real time RT-PCR, con sonde specifiche che discriminano tra i sierotipi RSVA ed RSVB; i campioni positivi sono stati analizzati amplificando la II zona ipervariabile della glicoproteina di membrana G con RT-PCR, il prodotto ottenuto è stato sequenziato tramite reazione di SANGER. Le sequenze sono state analizzate con programmi bioinformatici: Seqscape 2.6 ed eBiox per l'analisi molecolare e MEGA 6.06 per l'analisi filogenetica.

**RISULTATI**

Nel periodo considerato sono stati analizzati 1579 campioni respiratori relativi a singoli pazienti di questi 569 sono risultati positivi per RSV (65% RSVA e 35% RSVB). I dati mostrano una prevalenza variabile dei sierotipi A e B durante le differenti stagioni epidemiche, 51A/5B nel 2008/2009, 23A/7B nel 2009/2010, 53A/73B nel 2010/2011, 79A/34B nel 2011/2012, 103A/8B nel 2012/13, 59A/25B nel 2013/14 e nel 2014/15, 5A/44B. Dall'analisi molecolare della glicoproteina G, si è visto, a partire dalla stagione 2011/12, l'insorgere di una variante di RSVA che presentava una duplicazione di 24 AA nella II regione ipervariabile della proteina, già identificata in Ontario nel 2010 (ON1). Questa variante, nel 2011/12, è coesistita con i ceppi che già circolavano di RSVA (NA1), mentre nelle stagioni successive è divenuta predominante. L'analisi filogenetica delle sequenze di RSVA ha evidenziato la presenza di questo sottogruppo ON1 significativamente distante dal gruppo NA1. L'analisi delle sequenze di RSVB ha evidenziato una sostanziale omogeneità del virus. In due sequenze del 2011/12, sono state riscontrate 2 diverse duplicazioni di 3 AA nella II regione ipervariabile non più osservate nelle stagioni successive. L'analisi filogenetica delle sequenze di RSVB ha mostrato la minore variabilità del virus che va a raggrupparsi in un unico cluster denominato BA.

**CONCLUSIONI**

I dati presentati sottolineano l'importanza di un monitoraggio molecolare costante di RSV, che è causa di infezioni ricorrenti dovute all'immunità parziale e non di lunga durata che genera nell'organismo. In primo luogo la diagnosi non dovrebbe fermarsi alla sola specie ma identificare i due gruppi antigenici (RSVA/RSVB), dato il variare da stagione a stagione della loro prevalenza. Vista la natura dei campioni clinici tutti relativi a pazienti pediatrici ospedalizzati, che quindi presentavano sintomi respiratori importanti, i nostri dati non sono in grado di identificare un aumento della virulenza associata ad uno o all'altro sierotipo, sottogruppo o variante che ha circolato nel periodo studiato, anche se è chiaro che il successo della variante ON1, che presenta una importante duplicazione nella porzione della glicoproteina più esposta alla pressione selettiva, indica una forma di escape strategy.