



## Sessione Congiunta AMCLI - ISS

### La conferma di laboratorio dei casi e la sorveglianza virologica del morbillo e della rosolia nella Regione Emilia Romagna



**Tiziana Lazzarotto**

U.O. di Microbiologia - Virologia

*Dipartimento di Medicina Specialistica,  
Diagnostica e Sperimentale*

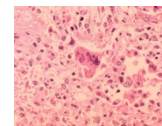
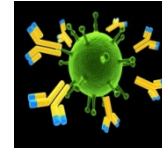
Policlinico Universitario S. Orsola Malpighi  
Università di Bologna

# ⇒ Conferma dei casi di sospetto morbillo e rosolia

**Diagnosi sierologica**

**Diagnosi molecolare**

**Isolamento virale**

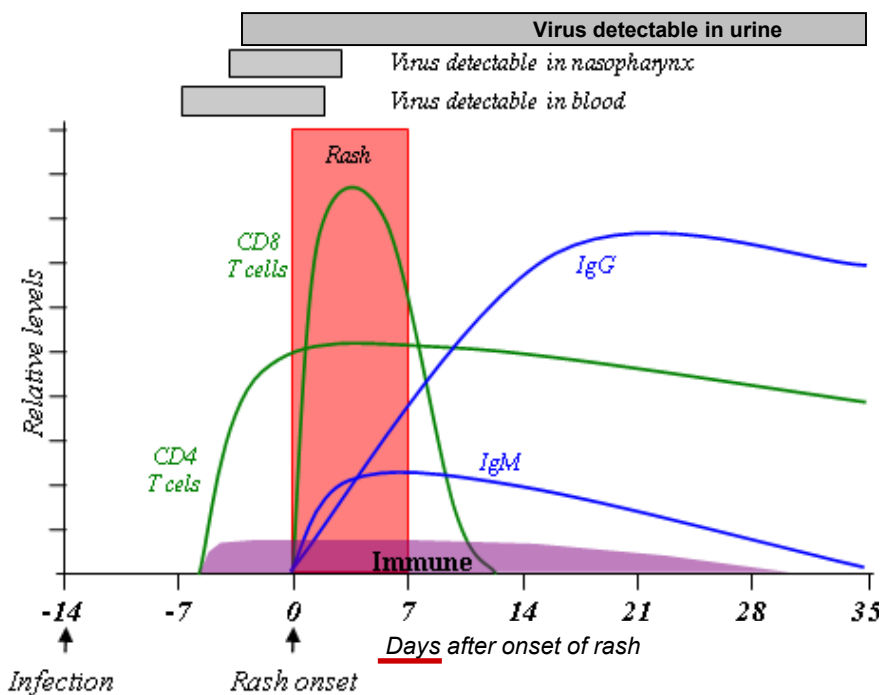


**Più utilizzati**

**Per una corretta diagnosi microbiologica è essenziale conoscere:**

- le manifestazioni cliniche**
- la cinetica anticorpale**
- la cinetica di replicazione del virus**

## Morbillo

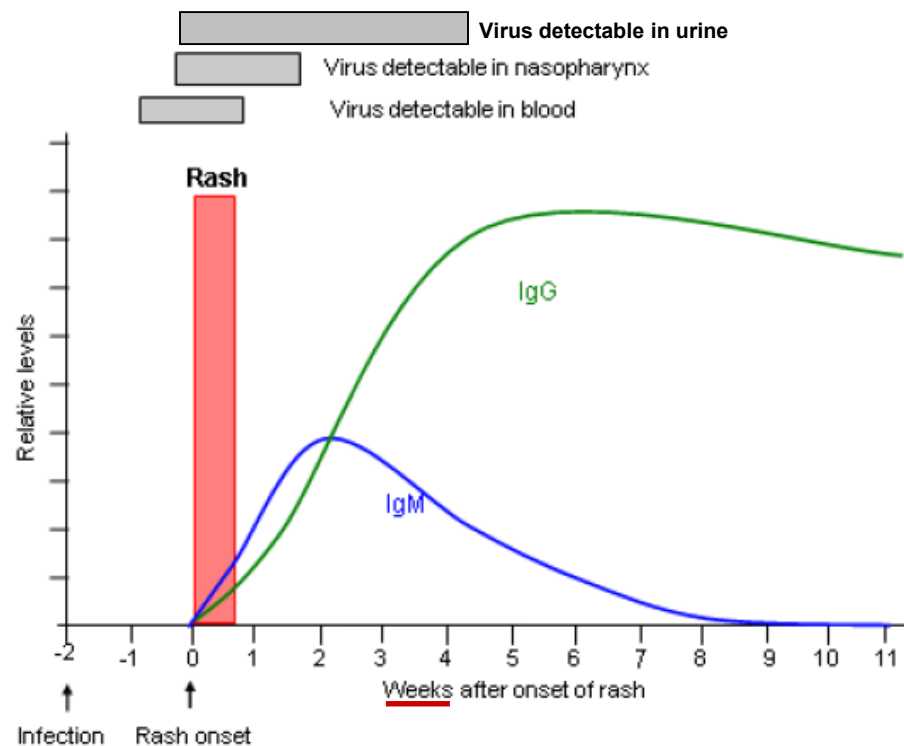


modificato da WHO: Manual for the Laboratory-based Surveillance of Measles, Rubella, and Congenital Rubella Syndrome, 2007

**Diagnosi sierologica:** ricerca IgM ed IgG anti MV o anti RV su siero  
 → campioni raccolti <72h dal rash possono dare risultati falsi negativi (~23% dei casi)

**Diagnosi molecolare:** la ricerca RNA-MV o RNA-RV su tampone oro-faringeo e urine → fortemente influenzata da: i) momento della raccolta del campione rispetto al rash, ii) conservazione e iii) trasporto → risultati negativi non permettono di escludere il caso

## Rosolia



**Sorveglianza integrata:** campioni negativi per MV devono essere saggiati per RV e viceversa



## Molecular detection and genetic characterization of circulating measles virus in northern Italy

Giulia Piccirilli<sup>a</sup>, Angela Chierighin<sup>a</sup>, Maria Grazia Pascucci<sup>b</sup>, Gabriella Frasca<sup>b</sup>, Roberta Zuntini<sup>c</sup>, Simona Ferrari<sup>d</sup>, Liliana Gabrielli<sup>a</sup>, Maria Paola Landini<sup>e</sup>, Tiziana Lazzarotto<sup>e,\*</sup>

**Table 2**

Results of MV-RNA detection considering the sampling time after the onset of rash among confirmed cases.

Days after rash onset	MV-RNA	
	N° of samples tested	N° of positive samples (%)
0–3	74	71 (95.9%)
4–7	157	139 (88.5%)
8–13	39	27 (69.2%)
≥14	4	2 (50%)
Total	274 <sup>a</sup>	239 (87.2%)

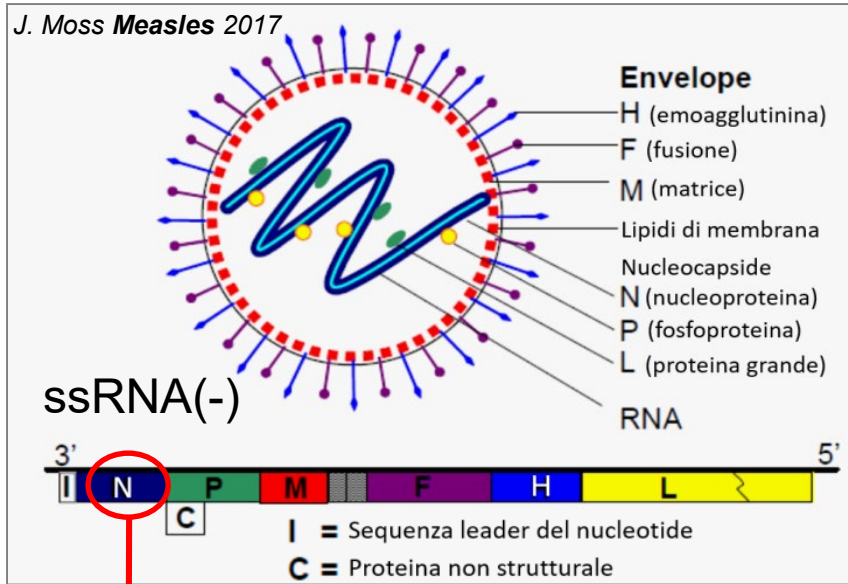
<sup>a</sup> MV-RNA results were available for 274 out of 276 confirmed measles cases.

# ⇒ caratterizzazione molecolare dei ceppi di MV e RV coinvolti

**per identificare le vie di trasmissione e discriminare i casi autoctoni da quelli di importazione**

## Virus del morbillo

**Famiglia:** Paramyxoviridae  
**Genere:** Morbillivirus



**Nucleoproteina (gene N) → 450 nt COOH-terminale**

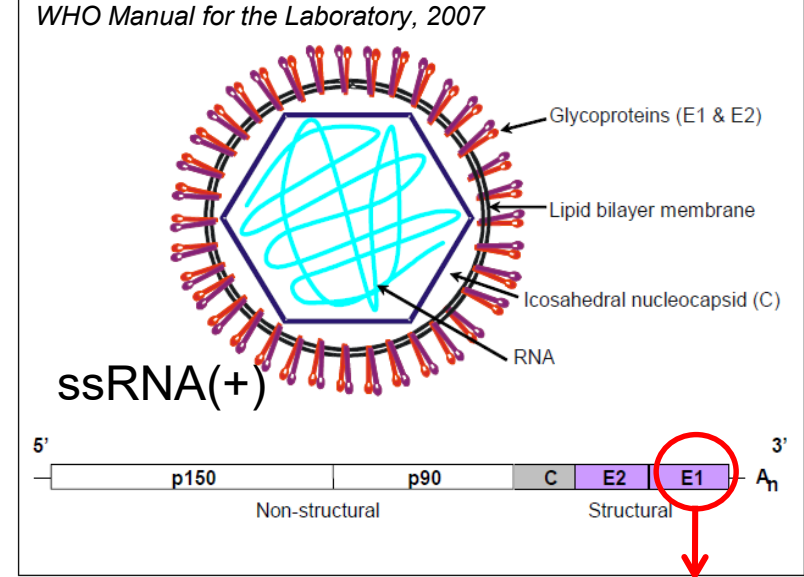
**1 sierotipo**

**24 genotipi:** A, B1-3, C1-2, D1-11, E, F, G1-3, H1-2

**Diverse varianti**

## Virus della rosolia

**Famiglia:** Togaviridae  
**Genere:** Rubivirus



**Proteina E1 (gene E1) → 739-nt**

**1 sierotipo**

**13 genotipi:** 10 genotipi Clade 1 (1a, 1B-1J)

3 nel Clade 2 (2A, 2B, 2C)

**Diverse varianti**

**Attività del Laboratorio di Riferimento Regionale**

**Emilia Romagna**

**2010-2018**

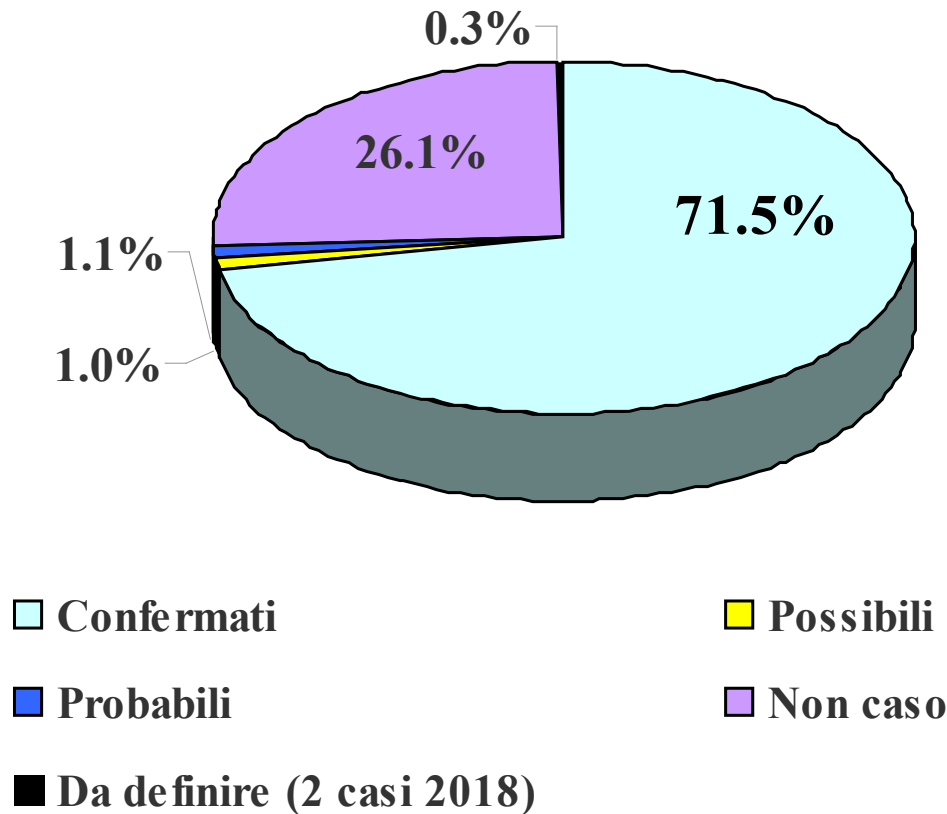
**MORBILLO**

# Casi di sospetto morbillo 2010-2018

<b>N. casi sospetti di morbillo</b>	<b>723</b>
<b>Maschi/Femmine</b>	366/357
<b>Età mediana</b>	34 anni (range: 1 mese - 90 anni)
<b>Stato vaccinale</b>	
1 dose	102 (14.2%)
2 dose	27 (3.7%)
Non vaccinato	468 (64.7%)
Non noto	126 (17.4%)
<b>Campioni biologici</b>	
Urine/fluidi orali	231
Siero	20
Siero e Urine/fluidi orali	468
Non disponibili*	4

\*Membri di una stessa famiglia → negato consenso alla raccolta dei campioni biologici per la conferma dei casi

# Classificazione dei 723 casi di sospetto morbillo

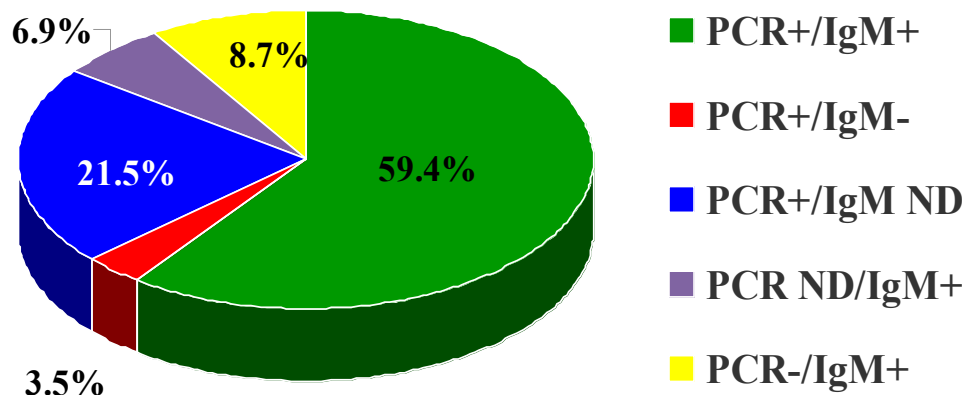


**Casi confermati: 517 (71.5%)**

**positività ad almeno un test: sierologico e/o molecolare**

# Risultati diagnosi sierologica e/o molecolare

## 517 casi confermati in RER 2010-2018



molecolare/sierologici		TOTALE
PCR+/IgM+		307
→ PCR+/IgM-		18
PCR+/IgM ND		111
PCR ND/IgM+		36
→ PCR-/IgM+		45
TOTALE		517

Entro 24h dalla comparsa del rash

Dopo 7 gg dalla comparsa del rash

ND: non disponibile



Ministero della Salute

DIPARTIMENTO DELLA SANITÀ PUBBLICA E INNOVAZIONE  
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE  
UFFICIO 05 ex DGPREV

Malattie Infettive e profilassi Internazionale

Prospetto al Foglio del .....  
N° .....

Ministero della Salute

DGPRE

1004460-P-20/02/2013

I.4.c.a.9/2011/20



1011

ema 20 febbraio 2013

## VPD Surveillance Manual Measles: Chapter 7.1

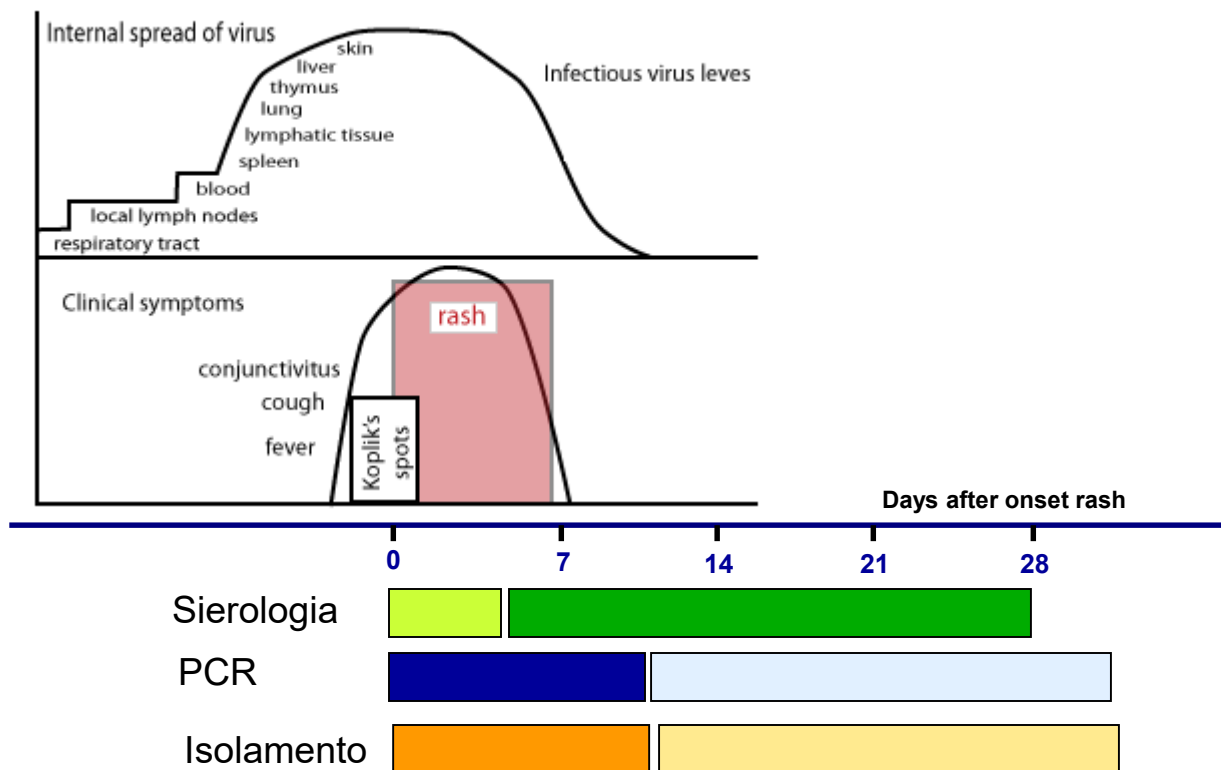


Centers for Disease  
Control and Prevention  
National Center for Immunization  
and Respiratory Diseases

### Chapter 7: Measles

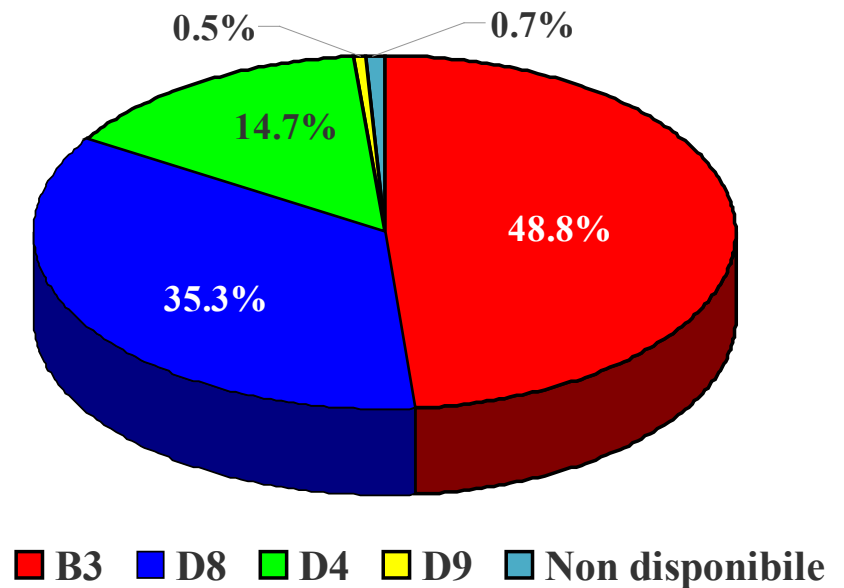
Paul A. Gastanaduy, MD, MPH; Susan B. Redd; Nakia S. Clemmons, MPH; Adria D. Lee, MSPH; Carole J. Hickman, PhD;  
Paul A. Rota, PhD; Manisha Patel, MD, MS

## Optimal Timing for Diagnostic Testing

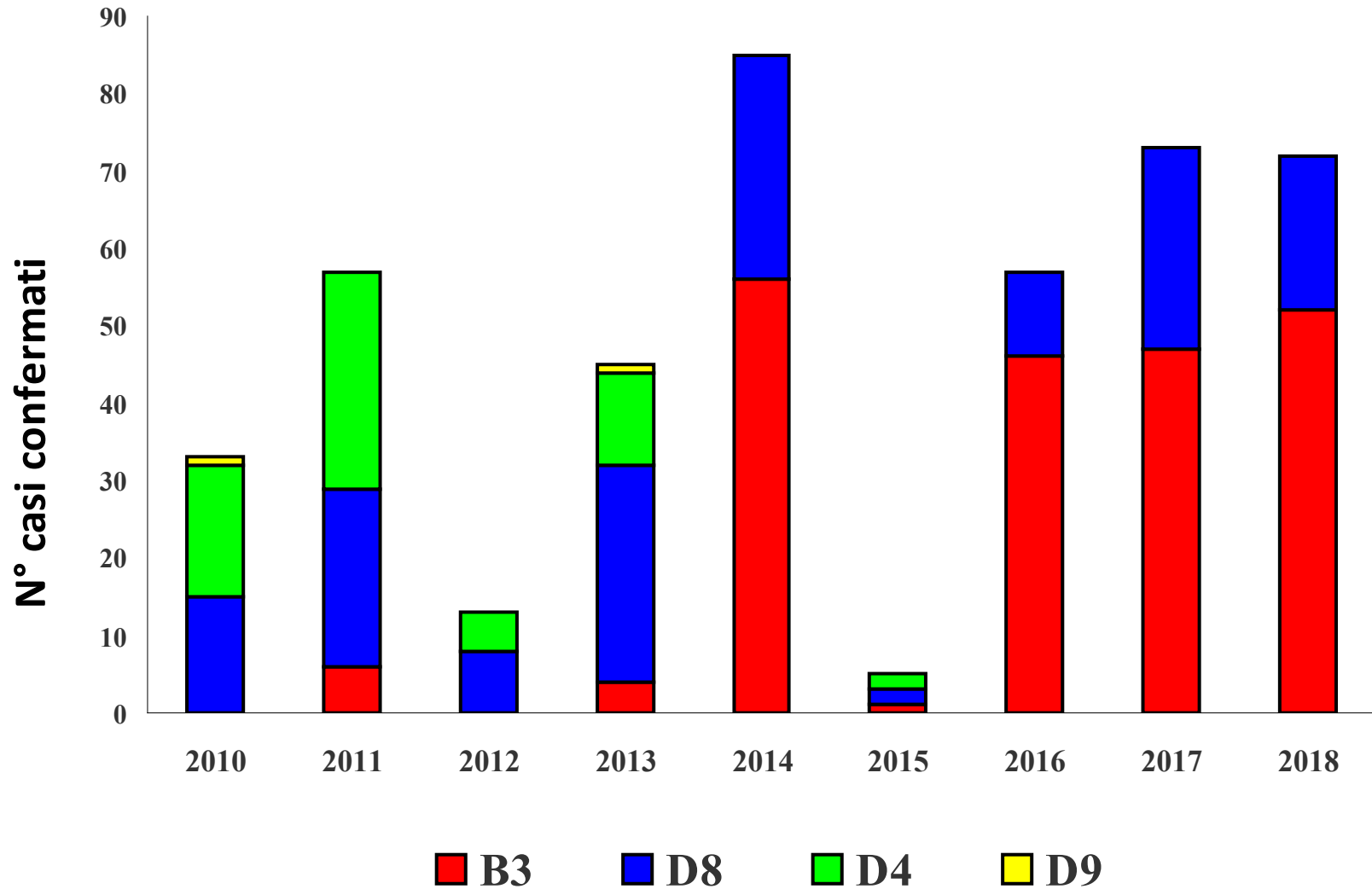


# GENOTIPI MORBILLO IDENTIFICATI 2010-2018 IN RER

Genotipi identificati	N. casi
B3	213
D8	154
D4	64
D9	2
Non disponibile	3
<b>Totale</b>	<b>436</b>

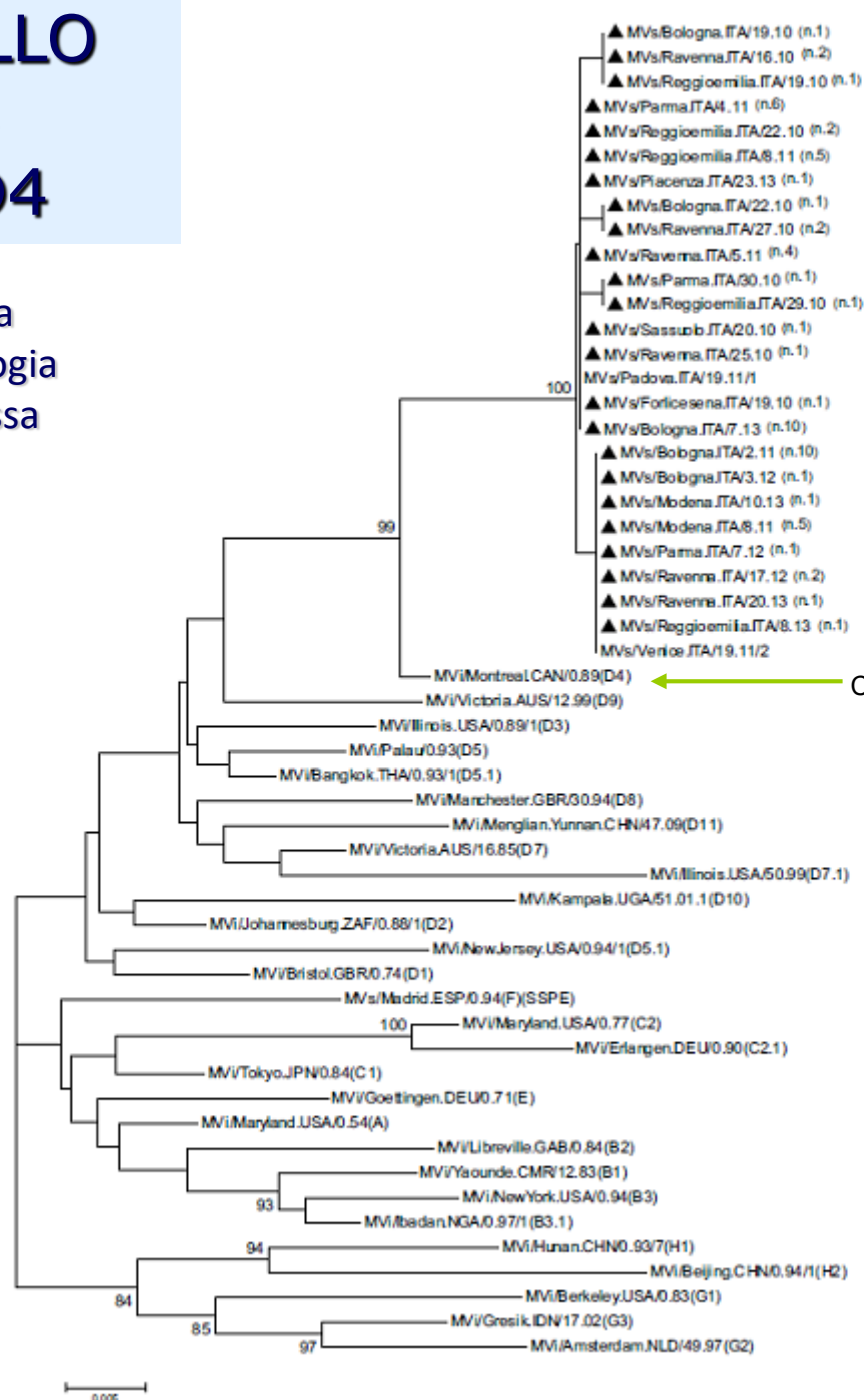


# GENOTIPI MORBILLO IDENTIFICATI 2010-2018 IN RER



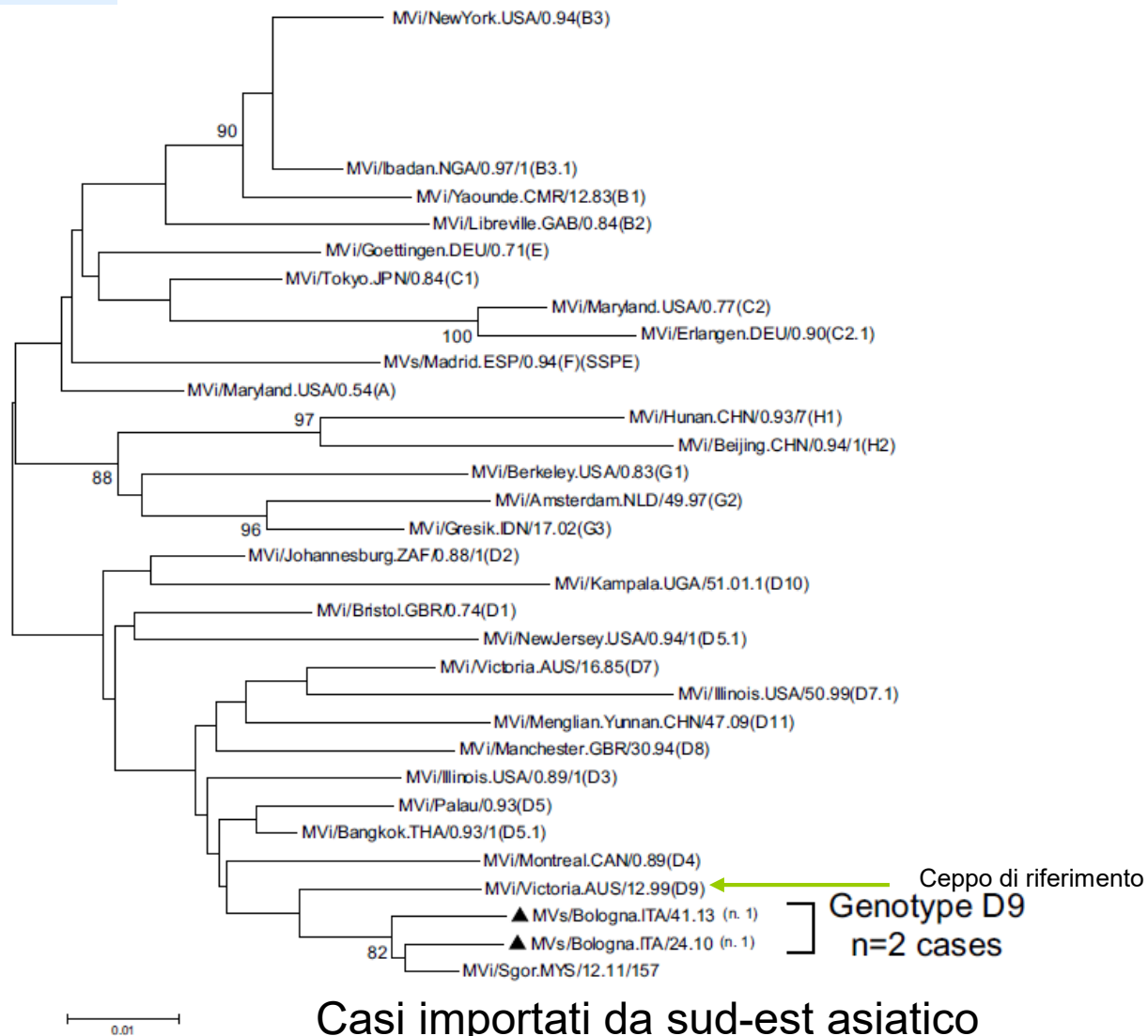
# CEPPI MORBILLO 2010-2018 GENOTIPO D4

E' stata rappresentata solo una sequenza per ceppi con omologia del 100% identificati nella stessa città e nella stessa settimana epidemiologica.



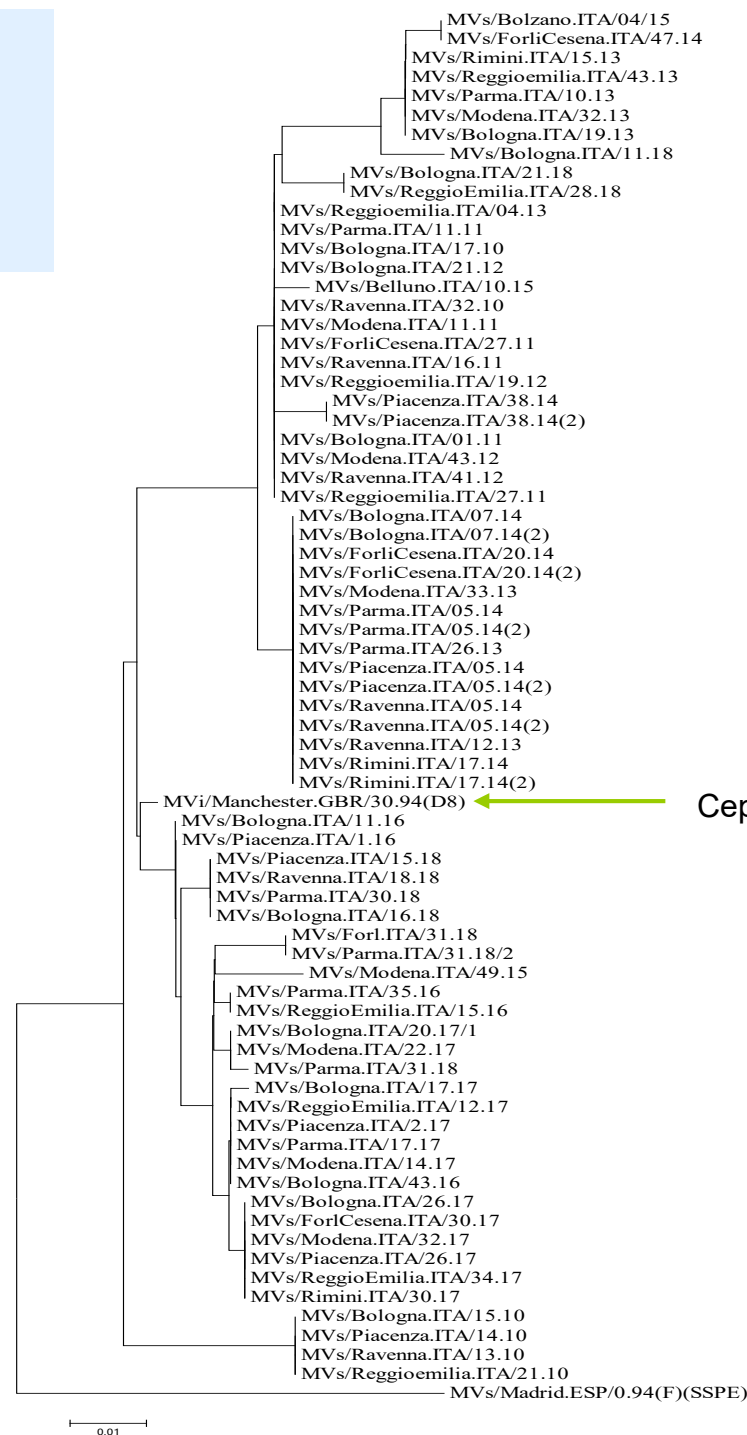
Genotype D4  
n=64 cases

# CEPPI MORBILLO 2010-2018 GENOTIPO D9



# CEPPI MORBILLO 2010-2018 GENOTIPO D8

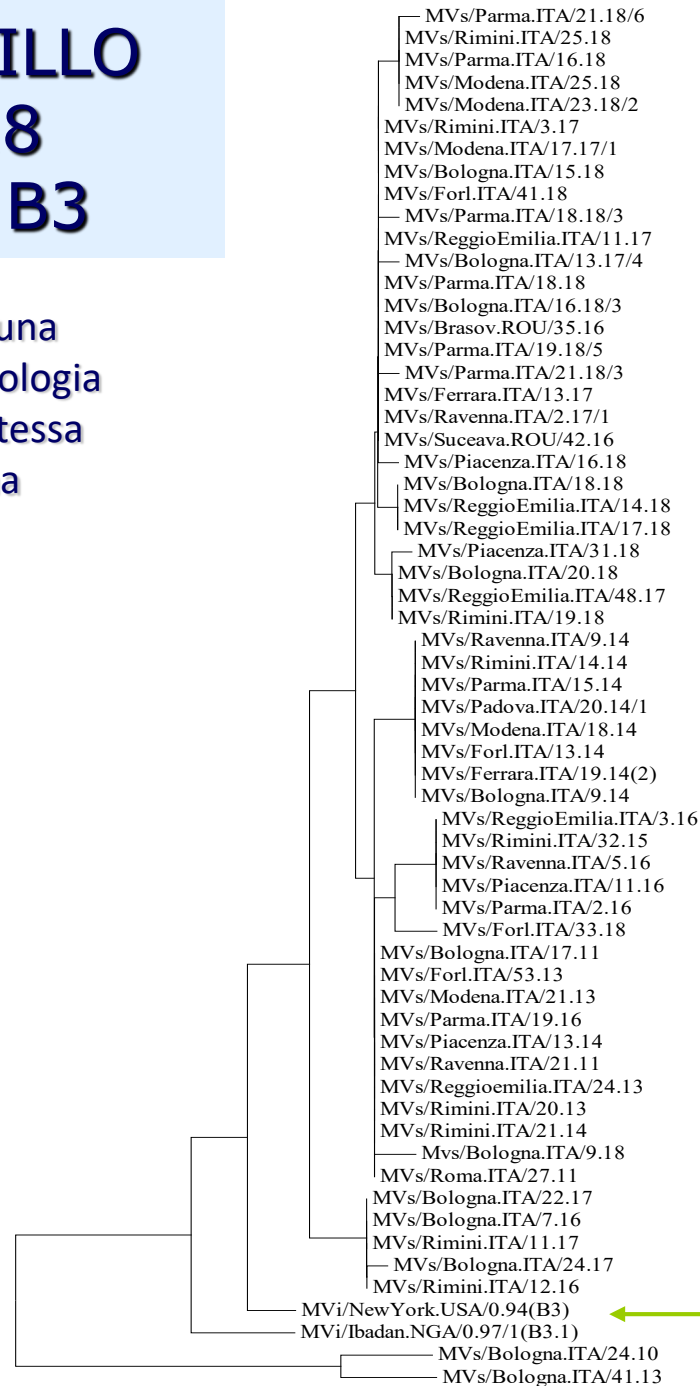
E' stata rappresentata solo una  
sequenza per ceppi con omologia  
del 100% identificati nella stessa  
città e nella stessa settimana  
epidemiologica.



Genotype D8  
n=154 cases

# CEPPI MORBILLO 2010-2018 GENOTIPO B3

E' stata rappresentata solo una sequenza per ceppi con omologia del 100% identificati nella stessa città e nella stessa settimana epidemiologica.



Genotype B3  
n= 213 cases

Cepi di riferimento

# Measles outbreaks in the Emilia-Romagna Region, Italy, during 2016

Giulia Piccirilli,<sup>1</sup> Angela Chierighin,<sup>1</sup> Gabriele Turello,<sup>1</sup> Roberta Zuntini,<sup>2</sup> Silvia Felici,<sup>1</sup> Melissa Baggieri,<sup>3</sup> Loredana Nicoletti,<sup>3</sup> Fabio Magurano,<sup>3</sup> Gabriella Frasca,<sup>4</sup> Maria Grazia Pascucci,<sup>4</sup> Liliana Gabrielli,<sup>1</sup> Tiziana Lazzarotto<sup>1</sup>

## Discussion

During 2016, a high number of measles cases was reported in the ERR with incidence equal to 1.8/100,000 inhabitants (17). The 71.3% of suspected cases were confirmed by laboratory diagnosis using molecular and/or serological methods. Among the cases tested by both methods, discordant results were obtained in 22.2% of cases due to the timing of specimen collection (4,16,21,23,). In the 77.8% of confirmed cases the phylogenetic analysis was performed and results showed the circulation of MV strains belonging to genotype B3 (80.4%) and D8 (19.6%). The data reflect the nationwide MV genotypes circulation during last two years

**95% dei ceppi virali identificati sono ceppi circolanti in Italia con trasmissione endemica.**

95%, which was set to eliminate the endemic transmission of MV (2). During 2015, in ERR, the coverage for the second dose of MMR was equal to 88.9% in 7 year old children (7). Among the confirmed cases, for which vaccination status was known, 91.8% were unvaccinated and most of the cases were reported among adults ranging between ages of 15 to 39. As described by other authors, in Italy, in this group the higher number of susceptible individuals is present (19).

Finally, our data also showed the spread of MV in a nosocomial setting, occurring in 34.7% (25/72) of confirmed cases. Of note, HCWs were involved in 60% (15/25) of cases, suggesting that

**35% dei casi la trasmissione è avvenuta in ambito ospedaliero e ha coinvolto nel 60% dei casi il personale sanitario.**

important to underline that, in ERR, the transmission of measles among HCWs occurred in 20.8% (15/72) of confirmed cases. In fact, HCWs have a higher risk to measles infection than the general population given their greater opportunity for exposure and being a source of infection for their colleagues and susceptible patients, including those hospitalised with critical conditions (10,13,14).

# FOCOLAI MORBILLO BOLOGNA 2016

Casi 23: confermati (n=18) probabili (n=3) possibili (n=2)

Ambiente **Ospedaliero**

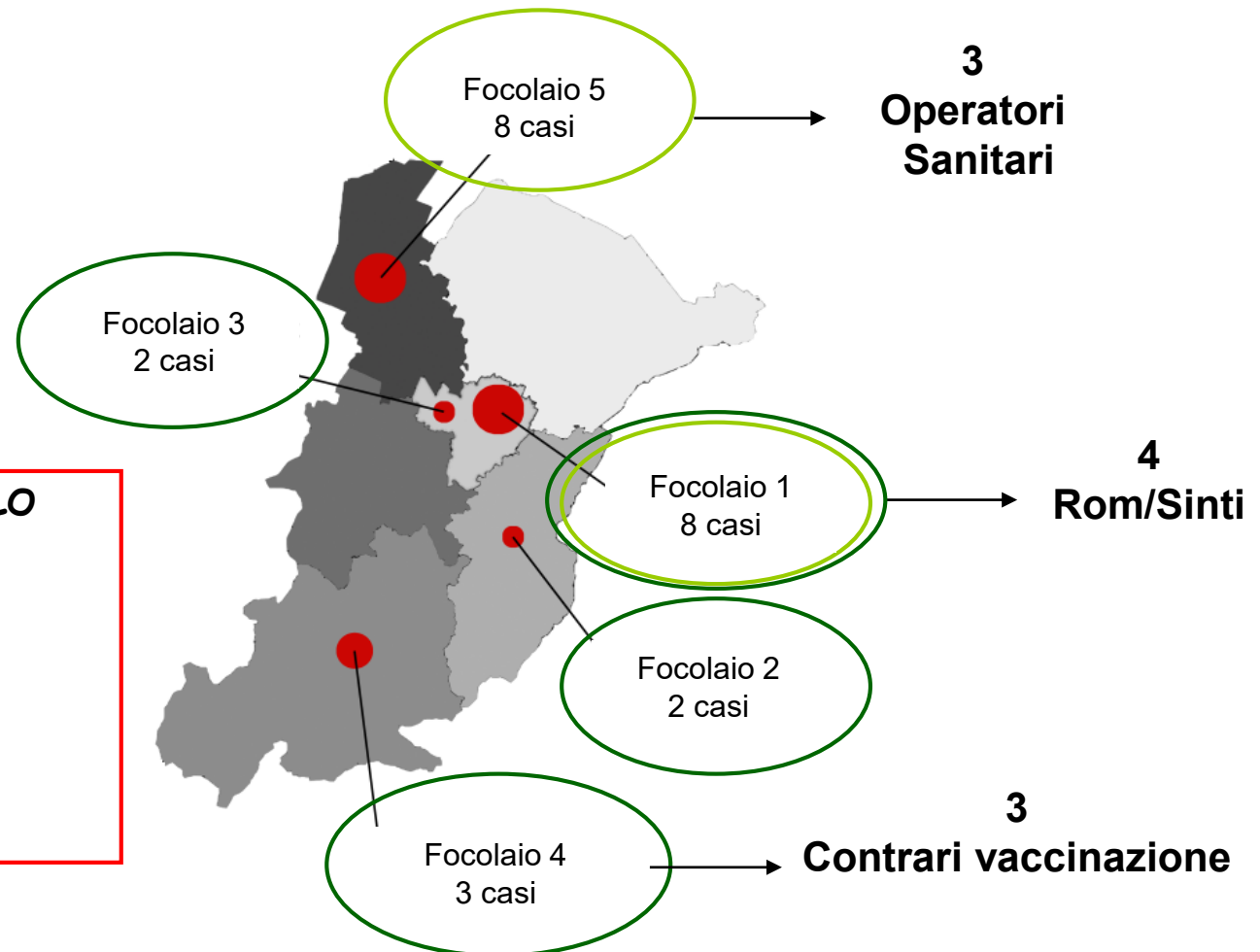
N. casi =15

Ambiente **Extra Ospedaliero**

N. casi =8

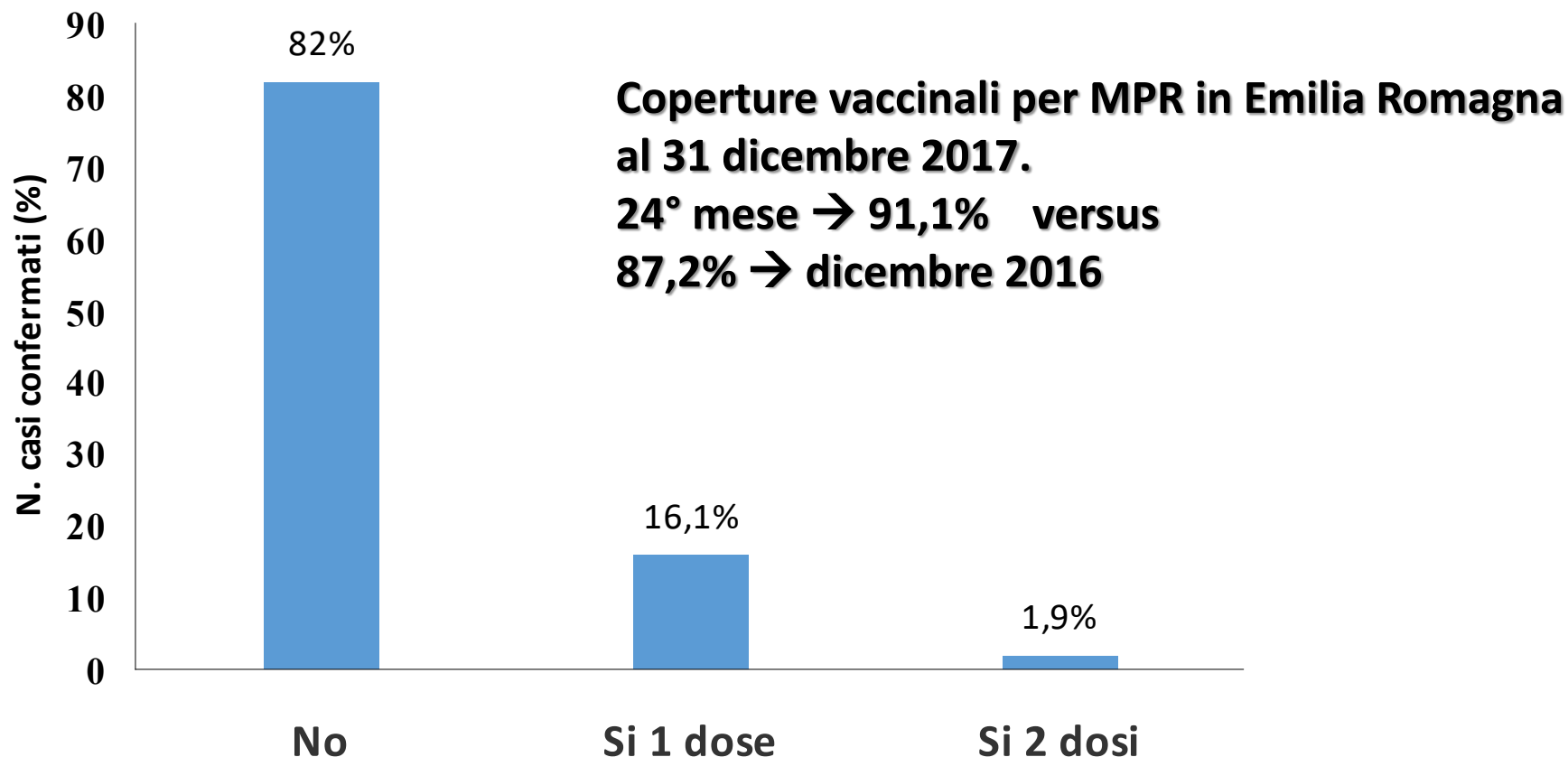
## MISURE DI CONTROLLO

- identificazione:
  - contatti
  - personale sanitario suscettibile
- offerta vaccinazione

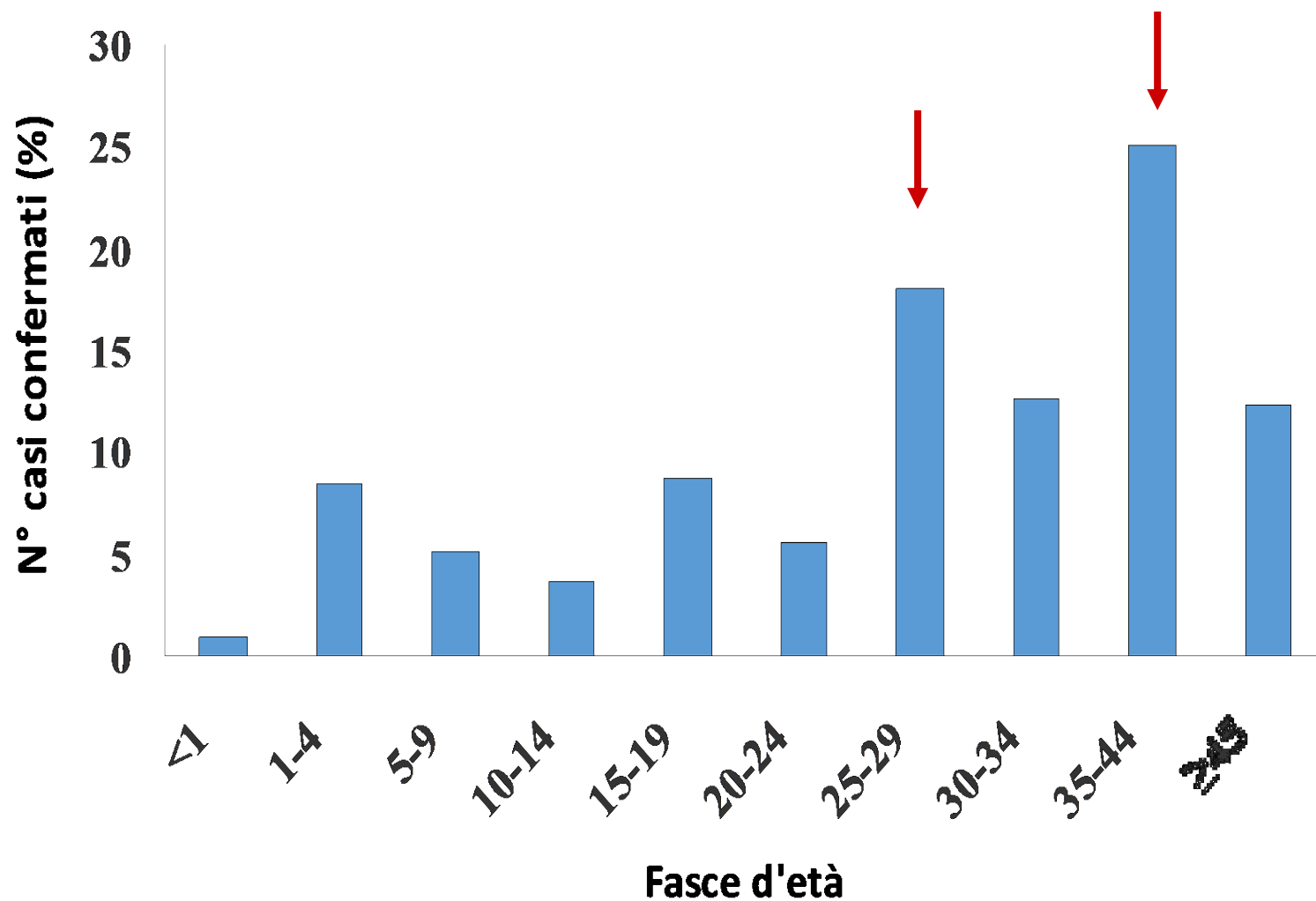


## Stato vaccinale dei casi confermati (2010 – 2018)

Lo stato vaccinale era noto per 327/517 (63.2%) casi confermati



## 517 casi confermati distribuiti per fasce d'età (2010-2018)



## Complicanze rilevate in 92 casi confermati

Complicanze	n°	%
Polmonite	21	15.8
Cheratocongiuntivite	23	17.3
Diarrea	21	15.8
Epatite	19	14.3
Trombocitopenia	5	3.7
Laringotracheobronchite	12	9.0
Otite	5	3.7
Encefalite	6	4.6
Stomatite	9	6.8
Insufficienza respiratoria	3	2.2
Altre	9	6.8
<b>TOTALE</b>	<b>133</b>	

*Altre: stomatiti (n=4), convulsioni (n=2), pericardite (n=2), glomerulonefrite (n=1)*

- Informazioni complicanze disponibili per 174/517 (33.6%) casi confermati
- Complicanze rilevate in 92/174 casi (52.9%)

**21/03/16**  
(Ricovero)

**Malattie Infettive: pz. donna 43 anni con sospetta infezione da morbillo**

---

Segni clinici: febbre, tosse, eruzione cutanea morbilliforme

Esami ematici: ipertransaminasemia → epatite satellite

No vaccinazione anti-morbillo

**Giorno 1**

**Diagnosi: infezione acuta da virus del morbillo**

---

Esami sierologici: -IgG anti-MV: negativo (verrà documentata sieroconversione dopo 10 gg)

-IgM anti-MV: positivo

Esami molecolari: - RNA-MV su urine: positivo (genotipo D8)

*Esami sierologici e molecolari per altri patogeni → negativi*

**Giorno 4****Sospetta encefalite da morbillo**

---

Segni clinici: comparsa di stato soporoso e confusionale

TC encefalo e torace: negativi

Rachicentesi:

- Liquor → pleiocitosi linfocitaria e iperprotidorrachia
- Liquor → ricerca batteri, miceti e virus neurotropi (incluso MV-RNA): negativo

***Intrapresa terapia: Immunoglobuline e.v., ribavirina e desametasone  
→ ipotesi danno cerebrale immuno-mediato***

**Giorno 9**

---

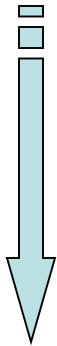
Segni clinici: Sindrome ipocinetica

RM cerebrale: negativa

EEG: anomalie di fondo diffuse aspecifiche senza segni focali di discreta entità.

**Giorno 13****(dimissione - trasferimento)**

Segni clinici: netto miglioramento, pz vigile, orientata collaborante,  
persiste sindrome ipocinetica



***Terapia: sospensione immunoglobuline e.v., ribavirina  
inizio decalage del desametasone***

**Giorni 13 – 43****Ricovero U.O. Medicina fisica e riabilitativa**

Programma riabilitativo: 2 sedute di fisioterapia quotidiana

Alla dimissione:

raggiungimento di un buon livello di recupero con deambulazione in autonomia in luoghi chiusi e con supervisione in spazi aperti. Ottenuti buoni risultati della gestualità motoria complessa

Barthel index code: 92/100

## Review

### Measles-induced encephalitis

D.L. FISHER<sup>1</sup>, S. DEFRES<sup>2,3</sup> and T. SOLOMON<sup>2,4,5</sup>

#### Primary measles encephalitis

Encephalitis concurrent with measles infection affects 1–3/1000 patients with measles infection and is referred to as primary measles encephalitis. Typically, the brain becomes infected during the rash phase of the infection. The primary mechanism of infection is unclear, but onset at the early phase suggests a primary viral invasion of neurological cells followed by chemokine induction and lymphocytic infiltration.<sup>9</sup> The detection of measles virus RNA in the CSF lends support to this theory.<sup>10</sup> Treatment is largely supportive. The mortality rate is 10–15% and a further 25% of patients endure permanent neurological damage.<sup>6</sup>

## Identification of 12 Cases of Acute Measles Encephalitis Without Rash

Sai-Zhen Zeng,<sup>1,a</sup> Bing Zhang,<sup>1,a</sup> Yan Zhang,<sup>2,a</sup> Le-Yun Xie,<sup>1</sup> Jie Xiong,<sup>1</sup> Tian Yu,<sup>1</sup> Zhi-ping Xie,<sup>2</sup> Han-chun Gao,<sup>2</sup> and Zhao-Jun Duan<sup>2</sup>

#### DISCUSSION

For acute primary measles encephalitis, MeV can be detected in the brain and CSF [3, 5]. An Indian study found MeV in the serum of 4.6% (4/87) of patients with viral encephalitis, but the virus was not isolated in cell culture [6]. During outbreaks of acute encephalopathy, MeV was isolated from approximately half (4/9) of all patients with measles-specific IgM in the CSF [7]. From April to June 2013, 7 measles encephalitis cases were confirmed and the incidence of measles was 1.2 per 100 000 subjects (1875 cases) of Hunan province. The MeV positivity rate in the CSF was 7.45% by qPCR; however, measles-specific IgM was evident in only 1 CSF sample. Previous studies have found that only about 50% of suspected measles cases are IgM-positive when clinical specimens are collected within 5–7 days of rash onset [8, 9]. In this study, 3 serial serum samples were collected from each patient on the second, fifth, and sixth days after fever onset. All of the CSF samples were collected within 7 days after fever onset, except for the IgM-positive sample, which was collected on day 8 after fever onset. In fact, fever often develops 3–4 days before rash. Our negative IgM results may be attributable to the fact that we collected specimens in the early stages of disease.

# Acute Measles Encephalitis in Partially Vaccinated Adults

Annette Fox<sup>1,2\*</sup>, Than Manh Hung<sup>3</sup>, Heiman Wertheim<sup>1,2</sup>, Le Nguyen Minh Hoa<sup>1</sup>, Angela Vincent<sup>4</sup>, Bethan Lang<sup>4</sup>, Patrick Waters<sup>4</sup>, Nguyen Hong Ha<sup>3</sup>, Nguyen Vu Trung<sup>3</sup>, Jeremy Farrar<sup>1,2</sup>, Nguyen Van Kinh<sup>3</sup>, Peter Horby<sup>1,2</sup>

## Introduction

Measles is a highly contagious vaccine preventable illness. Globally, measles deaths fell by 50% between 2000 and 2008 following intensified vaccination campaigns but recent large outbreaks demonstrate the potential for rapid recrudescence in under-immunized groups [1]. Around 30% of reported measles cases develop complications [2]. Pneumonia is the commonest complication followed by acute measles encephalitis (AME), which occurs in 1–3 per 1000 infected persons and is more common in adults than children [2]. Other serious CNS complications are rare in immune competent people [3]. Sub-acute sclerosing panencephalitis (SSPE) occurs in ~ 1 per 10000 infected persons many years after the initial infection and is the result of persistent measles virus infection of the CNS [4–5].

The clinical course and pathogenesis of AME are not well understood. Although lymphoid cells are the principle targets for measles virus infection, measles can infect neurons [6–7], and appears to have several mechanisms for circumventing the blood brain barrier [8–9]. Recent studies also indicate that CNS infection may be relatively common, with measles virus RNA detected by RT-PCR at autopsy in the brain of around 19% of individuals that never had CNS disease [7,10]. T cell responses control neurological infection in mouse models [11] and may therefore be an important factor in preventing encephalitis in humans. However, AME is often termed measles post-infectious encephalitis or PIE because symptoms generally start 3–10 days after the onset of rash [2]. In addition, measles virus has rarely been detected in post-mortem CNS tissue collected at the time of acute encephalitis using immunohistochemistry, which may be less sensitive than RT-PCR but detects measles virus in post-mortem

brain tissue from fatal SSPE [6,12]. Myelin basic protein has been detected in cerebrospinal fluid (CSF) and nearly 50% of patients have lymphocyte proliferative responses to myelin basic protein [13]. Consequently it has been proposed that AME is an immune-mediated demyelinating syndrome [6,12–15]. The role of myelin reactive autoantibodies is controversial [16–17]. In animal models injection of myelin leads to the production of myelin-reactive antibodies and pathology similar to that in AME, but techniques such as ELISA and radioimmunoassay fail to detect any increase in myelin-reactive antibody in patients with CNS pathology [17]. Recently assays that detect conformation sensitive myelin-reactive antibodies have detected increased levels in a subset of acute disseminated encephalomyelitis patients [16]. Immune-modulators including intravenous immunoglobulin (IVIG) [18–20] corticosteroids [20–22] and plasmapheresis [23] have been used to treat AME, but with variable effect.

**23/03/17****Pz maschio 25 anni non ospedalizzato****Diagnosi: infezione acuta da virus del morbillo**

Sintomi: congiuntivite,  
febbre, tosse, esantema  
morbilliforme

No vaccinazione anti-morbillo

Esami sierologici dopo 2 giorni dal rash:

-IgG anti-MV: positivo

-IgM anti-MV: positivo

Esami molecolari dopo 2 giorni dal rash:

- RNA-MV su urine: positivo (genotipo B3)

**trasmissione**

**9/04-13/04****Sorella 13 anni****(Degenza Malattie infettive )****Padre 55 anni****10/04-13/04****(Degenza Malattie infettive )**

Sintomi: febbre, tosse, esantema morbilliforme, diarrea, vomito,  
forte difficoltà ad alimentarsi e idratarsi

Esami sierologici dopo 1 giorno dal rash: -IgG anti-MV: positivo

-IgM anti-MV: positivo

Esami molecolari dopo 1 giorno dal rash: - RNA-MV su urine: positivo  
(genotipo B3)

RX torace: rinforzo trama  
bronco-vasale in assenza di  
consolidazioni parenchimali

**Terapia reidratante fino a miglioramento delle  
condizioni cliniche**

17/10/2016

Pz. donna 42 anni

Vaccinazione MPR: consigliata  
a soggetto sieronegativo per  
MV e convivente con coniuge  
immunodepresso.

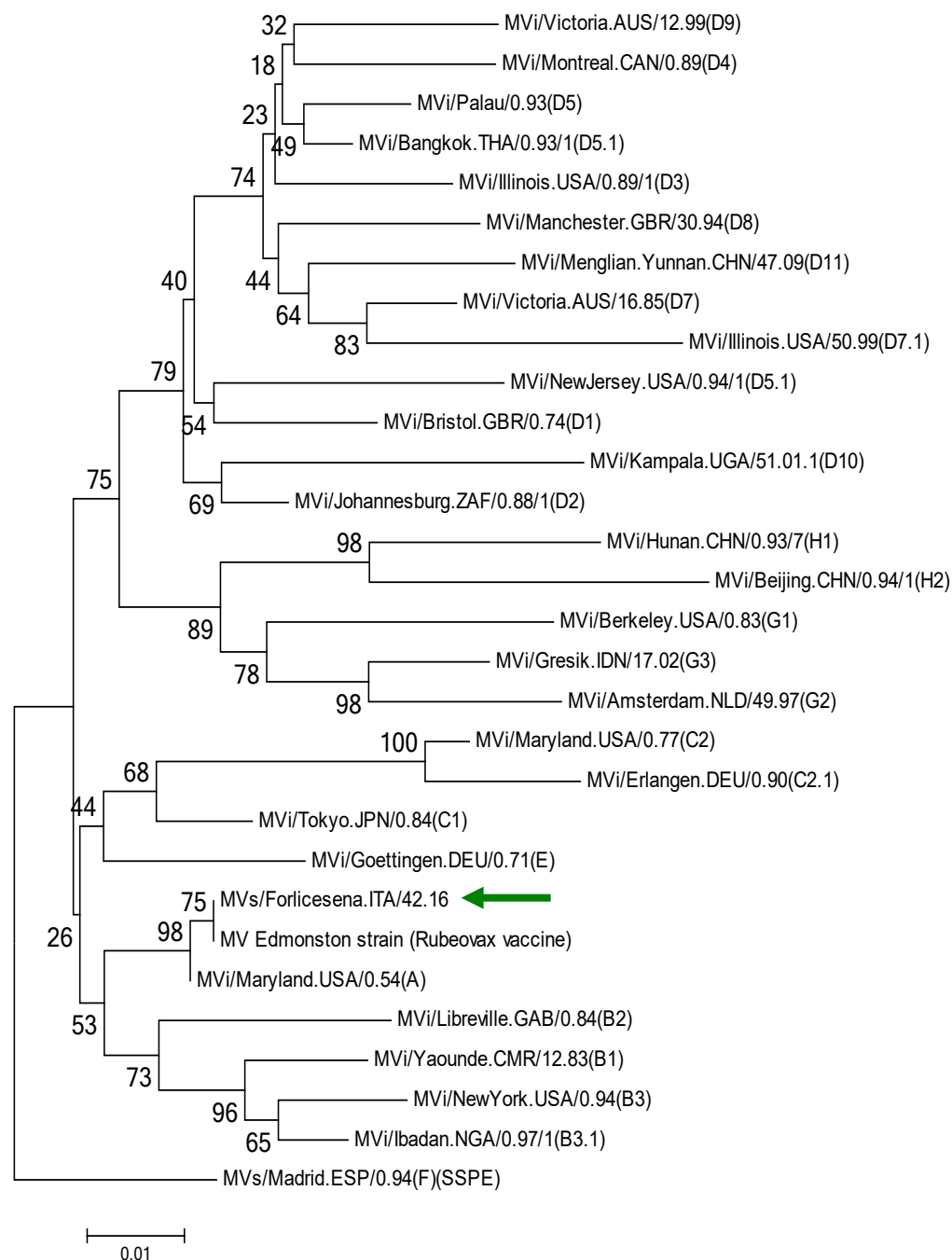
Comparsa esantema  
morbilliforme dopo 12 giorni da  
vaccinazione MPR

Dopo 4 giorni dal rash

Esami sierologici: -IgM anti-MV:  
positivo

Esami molecolari: - RNA-MV su  
urine: positivo

**(genotipo A ceppo vaccino)**



## Chapter 7: Measles

Paul A. Gastanaduy, MD, MPH; Susan B. Redd; Nakia S. Clemmons, MPH; Adria D. Lee, MSPH; Carole J. Hickman, PhD;  
Paul A. Rota, PhD; Manisha Patel, MD, MS

### **Note:**

*when a patient with suspected measles has been recently vaccinated (6–45 days prior to blood collection) neither IgM nor IgG antibody responses can distinguish measles disease from the response to vaccination. Determination of the measles genotype is necessary when measles symptoms occur.*

**Attività del Laboratorio di Riferimento Regionale**

**Emilia Romagna**

**2016-2017**

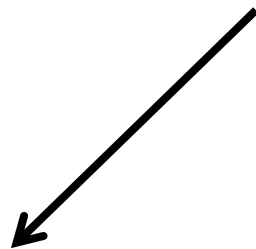
**ROSOLIA**

# Attività del laboratorio 2016-2017

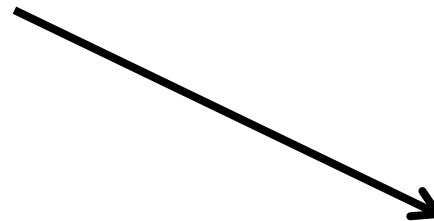
## ROSOLIA

Dal 2016-2017 tutti i campioni risultati negativi per la ricerca del virus del Morbillo sono stati saggiati per la ricerca del virus della Rosolia e hanno dato tutti esito negativo.

Inoltre sono stati inviati campioni relativi a **8 casi di sospetta Rosolia**



5 neonati con sospetta  
rosolia congenita



3 adulti

# CASO CONFERMATO DI ROSOLIA CONGENITA

Tra i 5 neonati con sospetta RC, è stato identificato 1 caso di Sindrome da Rosolia Congenita ad ottobre 2016.

La madre era profuga dalla Nigeria ed è arrivata in Italia a 27 settimane di gravidanza.

## a) DIAGNOSI DI INFEZIONE CONGENITA DA RV

### Esami sierologici

Ab anti-RV IgG (CMIA) = Positivo

Ab anti-RV IgM (CMIA) = Positivo

Ab anti-RV IgM (CLIA) = Positivo

### Esami virologici colturali

Urina = Positivo

Tampone orofaringeo = Positivo

### Esami molecolari (Real-Time RT-PCR)

Sangue e plasma = Negativo

Urina = Positivo

Tampone orofaringeo = Positivo

## b) DIAGNOSI DI INFEZIONE CONGENITA DA CMV

### Esami molecolari (Real-Time PCR)

Sangue = Positivo < 500 copie/ml

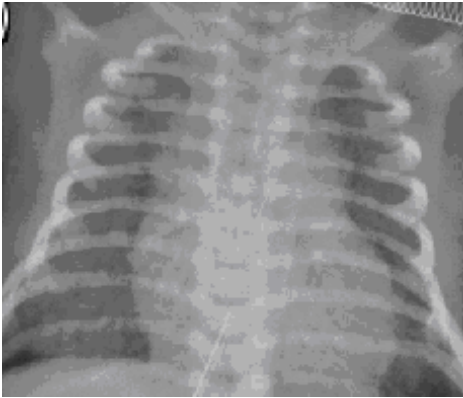
Urina = 1.187.729 copie/ml

Tampone orofaringeo = Positivo

*CLIA: chemi-luminescent immuno-assay; CMIA: chemiluminescent microparticle immuno-assay*

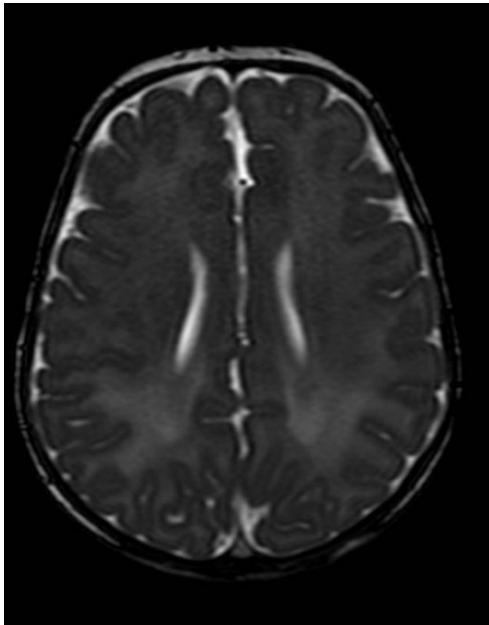
# CASO CONFERMATO DI ROSOLIA CONGENITA

I sintomi alla nascita erano: polmonite interstiziale, petecchie (blue-berry-muffin), piastrinopenia ed epatite.



**Figura 1. Polmonite interstiziale.**

RX torace: bilaterale accentuazione interstizio-alveolare, nettamente più evidente a destra.

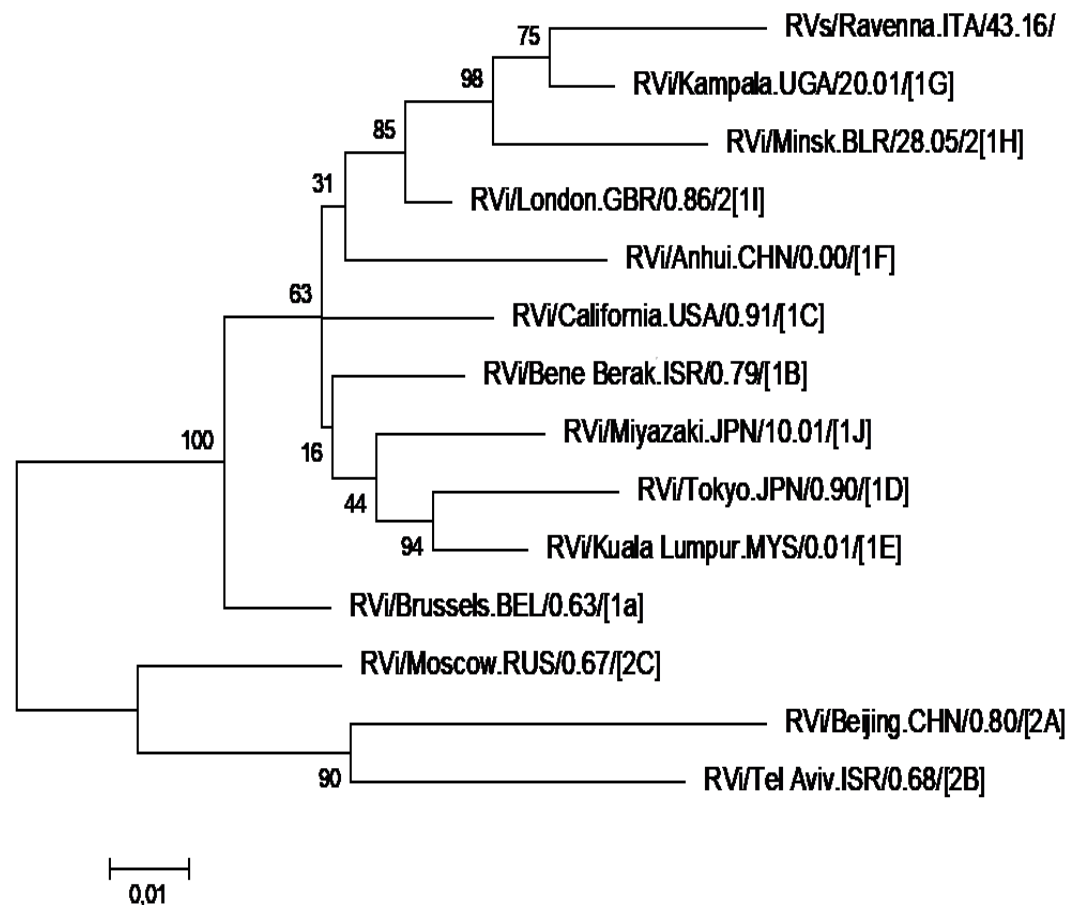


**Figura 2. Alterazioni cerebrali.**

RM encefalo: alterato segnale della sostanza bianca periventricolare e sottocorticale (aree frontali e parietali), espressione di danno tissutale. Strutture malacico-cistiche localizzate nei poli temporali e assottigliamento della corteccia limitrofa, espressione di processo infettivo.

# CASO CONFERMATO DI ROSOLIA CONGENITA

## Analisi filogenetica del ceppo RV identificato.



# CASI CONFERMATI DI ROSOLIA

**Tra i 3 adulti con sospetta rosolia, 2 sono stati confermati attraverso la diagnosi sierologica e molecolare.**

caso	Età (anni)	Vaccinazione	Sintomi	Ab anti-RV IgM	Ab anti-RV IgG <sup>+</sup>	RNA-RV urine	RNA-RV Tampone orofaringeo	Misure di controllo
1	41	No	esantema, febbre, congiuntivite adenopatia	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	vaccinati 64 contatti suscettibili. Di questi, 5 hanno rifiutato il vaccino
2	39	No	esantema, febbre, congiuntivite adenopatia	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	

<sup>\*</sup>E' stato eseguito test di avidità delle IgG anti-RV risultata intermedia in entrambi i casi

**Il primo caso, identificato a marzo 2017, ha trasmesso l'infezione al secondo caso in un contesto familiare.**

**I due soggetti, di nazionalità filippina, sono residenti in Italia da molti anni e non avevano storie recenti di viaggi all'estero. La tipizzazione del ceppo di RV coinvolto è in corso.**



SERVIZIO SANITARIO REGIONALE  
EMILIA-ROMAGNA  
Azienda Ospedaliero - Universitaria di Bologna

Policlinico S. Orsola-Malpighi



Laboratorio di Riferimento Regione Emilia Romagna  
Laboratorio di Virologia - UO di Microbiologia  
Azienda Ospedaliero-Universitaria  
Policlinico S. Orsola Malpighi di Bologna

**LRR01** → Giulia Piccirilli, Gabriele Turello,  
Liliana Gabrielli, Alessandra Moroni

**RER** → Maria Grazia Pascucci, Gabriella Frasca

**ISS** → Fabio Magurano, Melissa Baggieri,  
Loredana Nicoletti, Paola Stefanelli

