

## Ecologia dei patogeni emergenti nell'interfaccia uomo-animale: Chiroterri e Coronavirus

Maria Alessandra De Marco<sup>\*^</sup>, Marzia Facchini<sup>\*\*</sup>, Maria Zambon<sup>\*\*\*</sup>, Maria Rita Castrucci<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA); <sup>\*\*</sup>Istituto Superiore per la Sanità (ISS); <sup>\*\*\*</sup>Public Health England (PHE)

<sup>^</sup>Relatore: [mariaalessandra.demarco@isprambiente.it](mailto:mariaalessandra.demarco@isprambiente.it)

L'ecologia delle malattie trasmissibili studia le interazioni tra gli agenti patogeni (in senso lato "parassiti") e gli ospiti suscettibili, individuando nelle specie serbatoio (umana o animali) quelle in grado di perpetuare in natura i patogeni stessi attraverso un equilibrio coevolutivo instauratosi nel rapporto ospite-parassita. Il cambiamento globale che si sta verificando sulla Terra, di fatto entrata nell'era dell'Antropocene, è influenzato dai cosiddetti *drivers* ecologici, elementi in grado di indurre alterazioni ecosistemiche a livello generale (come il cambiamento climatico) o locale (come l'introduzione di specie aliene invasive o l'espansione di aree antropizzate, a loro volta possibile causa di perdita di biodiversità e frammentazione di habitat). Tali elementi sono anche in grado di determinare e modulare l'emergenza di alcuni patogeni (soprattutto virus) trasmessi da specie animali serbatoio ad altre specie *spillover*, evolutivamente non adattate e quindi inclini a manifestare malattia. Questi eventi possono coinvolgere anche la popolazione umana, come recentemente accaduto per l'epidemia di MERS (Middle East Respiratory Syndrome), sostenuta da un coronavirus (CoV) responsabile finora di 2103 casi umani (733 dei quali letali) verificatisi in 27 paesi, ma soprattutto localizzati in Medio Oriente (<http://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>). I CoVs causano comunemente infezioni respiratorie ed enteriche nell'uomo e negli animali e i pipistrelli rappresentano il probabile serbatoio naturale e ancestrale degli alfa- e beta-CoVs (Hu et al., 2015. *Virology* 53:221), che occasionalmente possono "entrare" nella popolazione umana attraverso complessi meccanismi di trasmissione interspecie. Nel caso della MERS, ad esempio, lo *spillover* virale da un serbatoio animale sconosciuto (probabilmente rappresentato dai pipistrelli) è stato caratterizzato dall'infezione di una specie intermedia, rappresentata dal Dromedario, in grado di adattare e trasmettere il CoV all'Uomo (Dudas e Rambaut, 2016. *Virus Evolution* 2(1):vev023). Da ciò si evince l'importanza degli studi volti ad individuare precocemente i circuiti di trasmissione interspecie dei patogeni emergenti.

Nel contesto dell'emergenza MERS, nel 2014 ha avuto inizio il progetto di ricerca finalizzata del Ministero della Salute "Emerging respiratory viruses: monitoring of coronavirus infections at the human-animal interface", coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) in collaborazione con Public Health England (PHE) di Londra, Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna (IZSLER). Nell'ambito delle ricerche svolte sull'ecologia dei CoVs e sul rischio di infezione umana, ISPRA ha avuto il compito di pianificare e coordinare la raccolta di campioni di siero da categorie di individui esposti a pipistrelli, possibile serbatoio naturale di CoV emergenti. Perciò sono stati arruolati, su base volontaria: i) individui a contatto diretto con pipistrelli durante attività occupazionali e/o ricreative (come chiroterologi e persone operanti in centri di recupero fauna selvatica) oppure esposti indirettamente, a livello ambientale, a tali mammiferi (come speleologi); ii) un gruppo di controllo, costituito da individui non esposti a chiroterri. I campioni ematici raccolti dalle suddette categorie sono stati processati presso i laboratori dell'ISS e/o PHE, per valutare, attraverso la ricerca di anticorpi specifici, l'eventuale esposizione tramite i pipistrelli al beta-CoV della MERS. Il protocollo è stato messo a punto presso il PHE che è centro di eccellenza per la diagnostica dei CoVs emergenti e provvisto di laboratori dotati di livelli di biosicurezza (BSL4 e BSL3) idonei alla manipolazione del virus della MERS, potenzialmente patogeno per il personale coinvolto nell'esecuzione delle prove.

Tale protocollo prevede l'impiego di tre diversi test sierologici, volti ad evidenziare *in vitro* l'eventuale legame tra antigene (CoV della MERS) e anticorpi specifici (indice di avvenuta esposizione al virus). In particolare sono stati utilizzati tre micrometodi immuno-enzimatici: a) MERS indirect antigen Enzyme Immuno-Assay (EIA Assay), primo test di screening che evidenzia la presenza di anticorpi legatisi a un lisato di cellule infette; b) MERS Immunofocus Assay (IFO Assay), secondo test di screening che evidenzia la presenza di anticorpi specifici legatisi a cellule precedentemente infettate; c) Microneutralization—Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (MN—ELISA), test di conferma che evidenzia la presenza di anticorpi specifici neutralizzanti in grado di inibire la crescita del virus durante l'infezione delle cellule.

Durante la tavola rotonda “Chiroterri e speleologi, un rapporto complesso”, tenutasi il 2/11/17 nell'ambito dell'Incontro Internazionale di Speleologia “Finalmente Speleo 2017”, sono stati presentati i risultati ottenuti dai campioni ematici prelevati da alcuni partecipanti al precedente raduno internazionale di speleologia “Strisciando 2016” (Figura). In base alle analisi effettuate, 5/35 soggetti arruolati sono risultati positivi al primo screening (EIA-Assay) ma queste positività non sono state confermate dall'IFO-Assay e dalla MN-ELISA. Grazie ad un approccio multi-metodologico, finalizzato a discriminare eventuali sieropositività dovute ad anticorpi aspecifici che possono cross-reagire con l'antigene utilizzato nelle prove di laboratorio, i risultati ottenuti consentono di escludere la presenza di anticorpi verso il beta-CoV della MERS nei campioni raccolti nel 2016 da alcuni partecipati a “Strisciando 2016”.

Nel rispetto della conservazione delle specie e tutela della salute umana, i dati prodotti nel progetto contribuiranno a fornire ulteriori indicazioni sulla dinamica delle malattie infettive emergenti.

