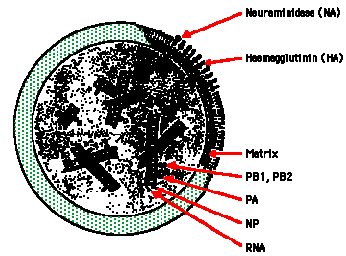
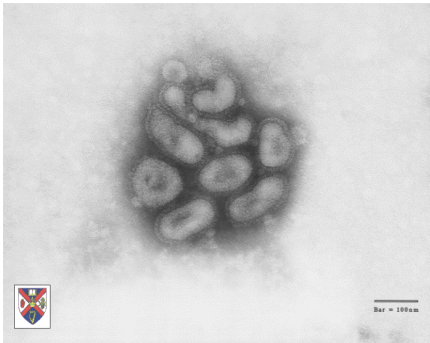


## Infezioni respiratorie virali

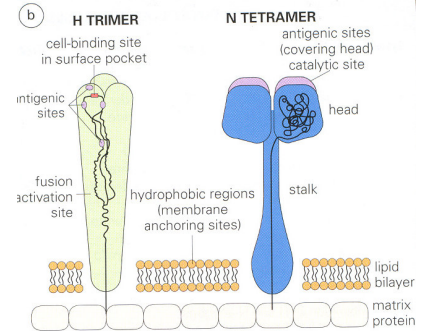
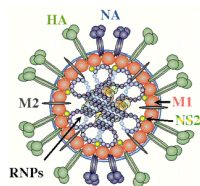
## Virus influenzali

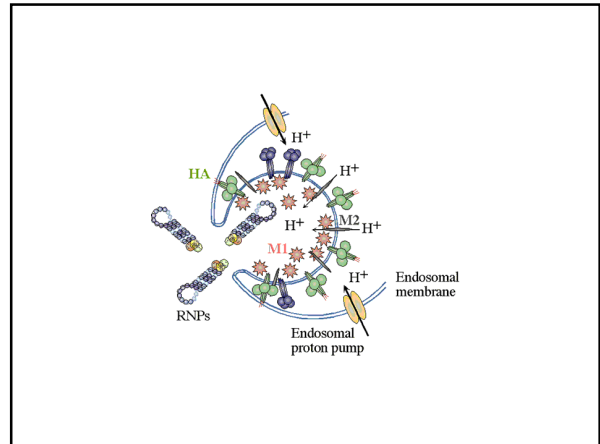
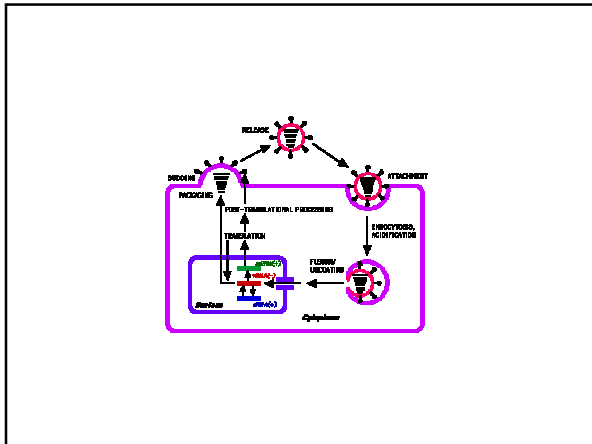


### *Orthomyxoviridae*

- ssRNA-
- 7-8 segmenti di RNA
- Envelope
- Capside simm elicoidale
- Diam 80-120 nm

Proteine non strutturali: M2, NS1 e NS2





### Influenza Virus Hemagglutinin:

- Attachment
- Fusion
- Target of neutralizing antibodies

The diagram shows the structure of the HA1 and HA2 domains of the influenza virus hemagglutinin protein. The HA1 domain contains a signal peptide and a proteolytic activation site. The HA2 domain contains a transmembrane domain. The two domains are connected by a disulfide bond (S-S).

### Influenza Viruses: Classification and Nomenclature

⇒ 3 tipi (A, B, C) in base a proprietà antigeni della nucleoproteina

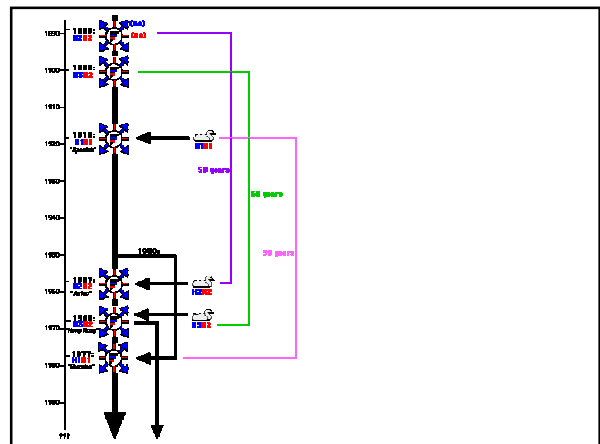
	Type A	Type B	Type C
Frequency of isolation	+++	++	+
Severity of disease	+++	++	+
Non-human subtypes	Yes	No	No

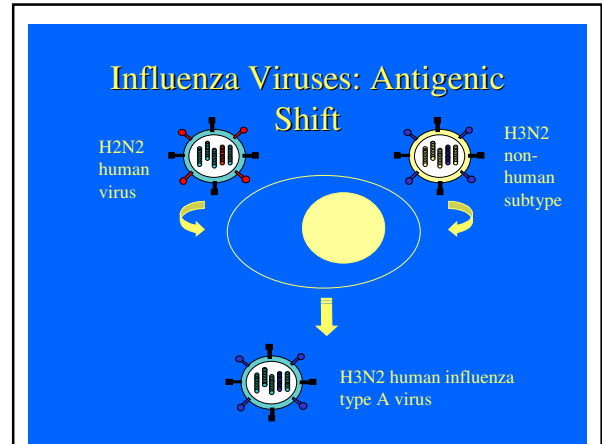
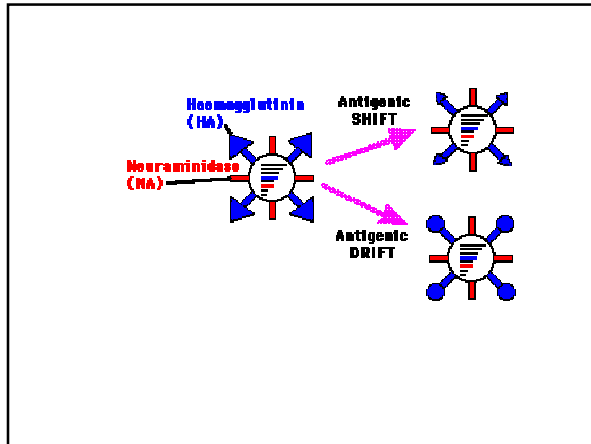
- Tipo/città o paese/n° di isolamento/anno/sottotipo  
– es. A/Hong Kong/1/68/H3N2

### Influenza Type A Viruses: Antigenic Shift 1889-1977

Year	Subtype	Common Name	Source
1889	H2N2	?	?
1900	H3N8	?	?
1918	H1N1	Spanish flu	Avian
1957	H2N2	Asian flu	Avian <sup>1</sup>
1968	H3N2	Hong Kong flu	Avian <sup>1</sup>
1977	H1N1	Russian flu	?

<sup>1</sup> Reassortant with avian virus



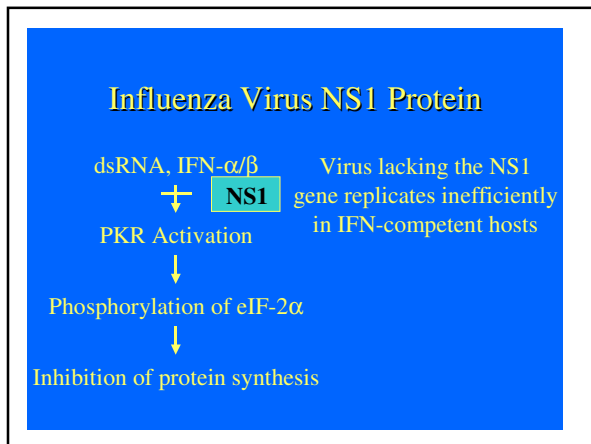


### Influenza Viruses: Antigenic Drift

- Graduale accumulo di mutazioni che consentono all'emoagglutina di sfuggire agli anticorpi neutralizzanti
- Ceppi epidemici hanno cambiamenti in tre o più siti antigeni

### Immune Response to Influenza Virus Infections

- INF- $\alpha$  e - $\beta$  (presenti alla comparsa dei sintomi) limitano la replicazione virale
- CTLs virus-specifici tra 6-10 gg; lisi delle cellule infettate
- Anti-influenza virus anticorpi serici presenti a pochi gg da infezione; picco a 10-14 gg
- Titoli di Anti-influenza virus anticorpi secretori cominciano ad aumentare 7 gg post infection



### Pathogenesis of Influenza Virus Infections

- Virus enters respiratory tract via aerosols produced by talking, coughing, sneezing
- Infection is limited to superficial cells of the upper and lower respiratory tract
- Viral replication leads to cell death
- Local symptoms are the result of cell death and inflammatory response to infection

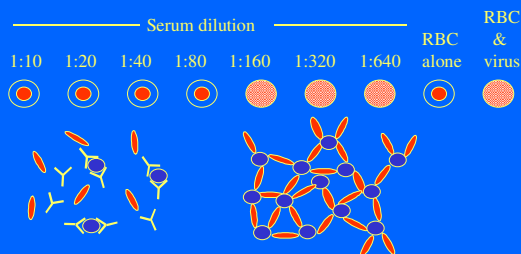
## Pathogenesis of Influenza Virus Infections (continued)

- ⇒ 1-4 day incubation period
- ⇒ Viral shedding begins 1 day before onset of symptoms
- ⇒ Signs & symptoms include fever, chills, headache, myalgia, arthralgia, dry cough, sore throat, rhinitis, weakness
- ⇒ Loss of ciliated and mucus-producing epithelial cells impairs clearance of invading microbes

## Diagnosi

- Tampone nasale o faringeo
- Lavaggio endonasale
- Isolamento
  - in uova                      giorni
  - In MDCK
  - tipizzazione
- Diagnosi rapida:
  - ricerca di antigeni virali      Poche ore
  - ricerca genoma virale:RT-PCR    24 ore

## Influenza: Serologic Diagnosis (Hemagglutination Inhibition)



## Emerging Influenza Viruses

- ⇒ Hong Kong 1997: 18 cases of influenza in humans caused by a highly pathogenic avian influenza virus (H5N1); 30% fatality rate
- ⇒ H9N2 subtype also detected among infected poultry
- ⇒ 1999: H9N2 influenza viruses isolated from two patients in Hong Kong; reassortant between quail H9N2 virus and H5N1 chicken/duck virus
- ⇒ In the future: reassortment between H9N2 or H5N1 avian viruses and H1N1 or H3N2 human viruses???

## Prevention of Influenza: Vaccines

- ⇒ Vaccino 2003-2004 :
  - A/Moscow/10/99 (H3N2)-like virus
  - A/New Caledonia/20/99 (H1N1)-like virus
  - B/Hong Kong/330/01-like virus
- ⇒ Recomendato per:
  - Persons at high risk of complications
  - [Children 6 mo. to ≤ 9 yrs]
  - Persons who might transmit virus to a person at high risk
- ⇒ Da somministrare in Ottobre-Novembre .

## Influenza Vaccines

- ⇒ Whole virus vaccine: inactivated virus vaccine grown in embryonated eggs; 70-90% effective in healthy persons <65 years of age, 30-70% in persons ≥65 years
- ⇒ Split virus vaccine: previously associated with fewer systemic reactions among the elderly and children <12 years
- ⇒ Subunit vaccine: composed of HA and NA
- ⇒ Live, attenuated influenza virus vaccines under development

## Influenza: Chemotherapy

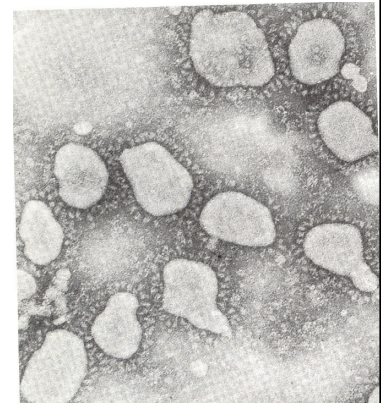
- ⇒ Amantadine and rimantadine (solo A)
- ⇒ Zanamivir and oseltamivir: inibitori neuraminidasi (type A and B influenza viruses)
- ⇒ Riducono la durata of illness di ~1 g se somministrati entro 2 gg dalla comparsa dei sintomi. <rischio di complicazioni

## Coronavirus e coronavirus SARS

Firenze, Congresso AMCLI 2003

## Un nuovo coronavirus possibile causa di SARS

- Fine marzo 2003 ➔ Segnalazioni di individuazione del virus in casi di SARS in laboratori diversi :
  - Cina (Singapore e Hong Kong)
  - USA
  - Germania
  - Canada
  - Francia



l isolato dai polli: 1937  
l isolato dall'uomo:  
Tyrrell e Bynou, 1965

Ordine: *Nidovirales*

## *Coronaviridae*

2 generi

Coronavirus

Torovirus

• 3 gruppi sierologici

- I: HCoV-229E
- II: HCoV-OC43
- III: IBV

Gruppi quasi perfettamente sovrapponibili con analisi filogenetica

Causa di malattie respiratorie e enteriche  
< epatiti  
< manifestazioni neurologiche

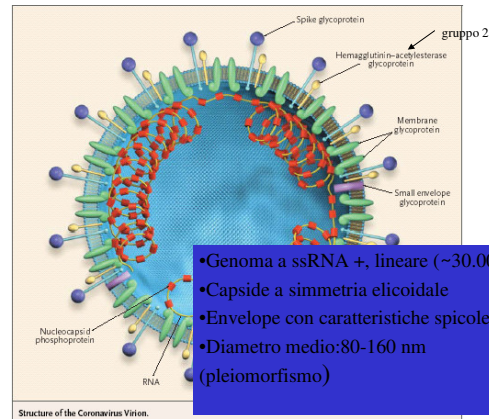
## I membri della Famiglia

- Numerosi patogeni per animali
  - Virus della bronchite infettiva degli uccelli
  - Coronavirus dei tacchini
  - Coronavirus dei bovini\*
  - Virus dell'epatite murina\*
  - Virus della peritonite infettiva dei felini
  - .....

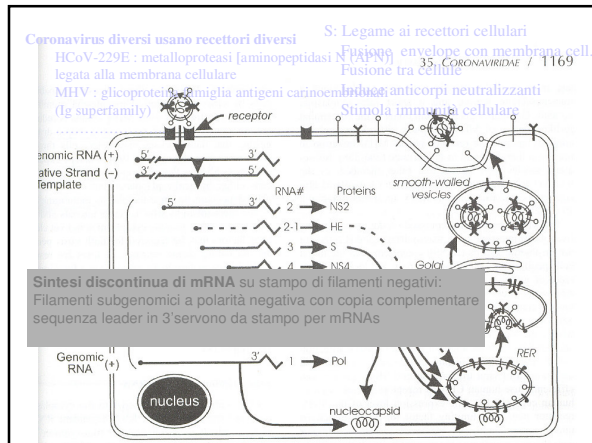
Barriera di specie

## I coronavirus dell'uomo

- Due prototipi
  - 229E
  - OC43
- Diversi “sierotipi”
- Coronavirus SARS



- Genoma a ssRNA +, lineare (~30.000 nts)
- Capside a simmetria elicoidale
- Envelope con caratteristiche spicole
- Diametro medio: 80-160 nm (pleiomorfismo)



## Il nuovo coronavirus è l'agente eziologico della SARS ?

- L'Infezione da SARS-CoV è stata dimostrata nel 75% di 436 pazienti (isolamento, RT-PCR, sierconversione)
- Solo nel 12% di 335 pazienti è stata dimostrata infezione da hMPV

## Un primo modello sperimentale

- **Macaca fascicularis (cynomolgus)**
- 4 animali (2M e 2F)
- SARS-CoV coltivato in cellule Vero ( $1 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml)
- Inoculazione intratracheale, intranasale, congiuntivale
- Prelievi prima e dopo 2, 4 e 6 giorni dall'infezione. Controlli clinici quotidiani.

T. Kollan, Lancet 2003

## Un modello sperimentale

- |               |                         |
|---------------|-------------------------|
| 3 giorni p.i. | Letargia e rash cutaneo |
| 4 giorni p.i. | Difficoltà respiratoria |
| 6 giorni p.i. | Sacrificati             |

Eliminazione del virus dal naso e dal faringe dal giorno 2  
 Virus nelle feci (in una seconda prova) a 16 giorni  
 Polmonite interstiziale di diversa gravità, sincizi ...

- Superinfezione con clamidia o metapneumovirus non aggrava il quadro clinico

*Paguma larvata*



- Indagine a Hong Kong e Shenzhen (sud Cina) su animali selvatici in vendita in un mercato per il consumo di carni pregiate



- Infezione da CoV geneticamente correlati a CoV SARS in  
Masked palm civet (zibetto)  
Racoon dog (procione)  
Chinese ferret budger

Y Guan, Science 2003

- Positività all'isolamento e RT-PCR
- Anticorpi anti-CoV SARS
- Stessa sequenza nucleotidica + breve sequenza aggiuntiva (rispetto a virus SARS)