

## Ricerca corrente IZS VE 02/22

**Sviluppo di substrati innovativi e saggi di fenotipizzazione mirati alla caratterizzazione in vitro della fitness di virus influenzali aviari in specie avicole e selvatiche.**

**Responsabile scientifico: Francesco Bonfante**

I fenomeni di incursione di virus dell'influenza aviaria (AIV) ad alta patogenicità (HPAI) in nuove aree geografiche ed in nuove nicchie ecologiche sono riconducibili in larga parte alla migrazione di volatili selvatici, ed in particolare a quella degli uccelli acquatici dell'ordine degli Anseriformi, considerati da sempre un serbatoio naturale dell'influenza aviaria. A partire dal 2020, pollame ed avifauna in Europa sono stati investiti da un eccezionale aumento del numero di casi di HPAI, sostenuti da virus dei sottotipi H5N8 ed H5N1 appartenenti al lineaggio GsGd, clade 2.3.4.4b. Questi virus, stabilitisi in modo persistente nei volatili selvatici, hanno causato centinaia di focolai nel comparto avicolo e sono stati associati a numerosi casi di spillover nel mammifero e limitati di infezioni in personale esposto a pollame infetto. Queste evidenze dimostrano ancora una volta come i virus dell'influenza aviaria ad alta patogenicità costituiscano una minaccia costante, sia per il comparto zootecnico, sia per il personale coinvolto nell'allevamento e nella cura del pollame, o nelle operazioni di distruzione dello stesso nel corso delle epidemie. I virus HPAI debbono pertanto essere oggetto di continua sorveglianza e di una pronta caratterizzazione, che non si limiti alla genotipizzazione ma che permetta di decifrare le caratteristiche fenotipiche dei virus emergenti, al fine di delineare strategie di controllo efficaci e proporzionate alle caratteristiche dei virus circolanti.

Gli studi in vivo di fenotipizzazione virale, permettono di caratterizzare i virus HPAI emergenti tramite infezioni sperimentali condotte direttamente nelle specie target, siano esse di interesse zootecnico o, più di rado, ecologico-faunistico. Questi studi forniscono informazioni fondamentali (es. virulenza, infettività, trasmissibilità, etc) per la comprensione delle dinamiche di introduzione e trasmissione dei virus, a loro volta atte allo sviluppo di sistemi di early detection e al disegno di sorveglianze mirate e basate sulla valutazione del rischio. Questi studi pongono problemi etici legati al sacrificio di decine di volatili e alla complessa definizione ed individuazione di endpoint umanitari, dovuta ad aggravamenti improvvisi della sintomatologia tipici dei virus HPAI. Inoltre durante le fasi emergenziali di un'epidemia, i laboratori in grado di condurre studi in vivo di fenotipizzazione virale risultano essere gli stessi coinvolti in prima linea in attività di sorveglianza e diagnostica virologica. Il sovraccarico lavorativo legato a questi compiti istituzionali inderogabili, fa sì che gli studi di fenotipizzazione vengano svolti solo a conclusione delle epidemie e non nelle fasi iniziali, quando i risultati di tali studi potrebbero giovare al controllo delle stesse. Risulta altresì importante comprendere a pieno la suscettibilità delle diverse specie selvatiche coinvolte nell'introduzione del virus nel settore zootecnico e per le quali una infezione sperimentale porrebbe innumerevoli ostacoli di tipo logistico ed etico.

Al fine di ridurre o sostituire l'utilizzo di animali ad uso sperimentale per una caratterizzazione dei virus influenzali che sia non solo tempestiva ma anche economicamente/eticamente sostenibile, è prioritario sviluppare sistemi in vitro alternativi, in grado di generare dati fenotipici predittivi della patobiologia associata alle diverse specie animali. Le recenti innovazioni nella coltura di organoidi rappresentano una spinta allo sviluppo di piattaforme predittive ad alto valore clinico per la caratterizzazione dei virus (2). In virologia traslazionale gli organoidi sono stati utilizzati con successo al fine di tipizzare il tessuto-tropismo virale (3) e per indagare la differente capacità infettiva di ceppi influenzali emergenti (4). Dato il tropismo dei AIV per i tessuti respiratori/intestinali dei volatili, la recente pubblicazione di protocolli sperimentali per la produzione di enteroidi respiratori e del tratto gastrointestinale di alcune specie avicole (5,6) offre un valido punto di partenza per lo sviluppo di una piattaforma in vitro di fenotipizzazione virale che includa non solo specie di interesse zootecnico ma anche specie selvatiche di volatili.