

## Norovirus GII.4 Sydney 2012 in Italy

**Giovanni Maurizio Giammanco<sup>1</sup>, Simona De Grazia<sup>1</sup>, Fabio Tummo<sup>2</sup>, Adriana Calderaro<sup>2</sup>, Floriana Bonura<sup>1</sup>, Alessio Buonavoglia, Vito Martella<sup>3</sup>, Maria Cristina Medici<sup>2</sup>**

*1 Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute e Materno Infantile "G. D'Alessandro", Palermo*

*2 Unità di Microbiologia e Virologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Parma*

*3 Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università Aldo Moro di Bari, Valenzano (BA), Italy*

**Key words:** Norovirus, Surveillance, Italy, GII.4, Variant Sydney 2012

**Sorveglianza delle gastroenteriti da Norovirus in Italia: comparsa e diffusione della nuova variante GII.4 Sydney 2012**

### SUMMARY

In the 2012-2013 winter season, global surveillance for norovirus circulation evidenced the onset of a new norovirus GII.4 variant, termed Sydney 2012. In Italy, ISGEV hospital-based surveillance revealed that this variant already circulated at low frequency in the winter season 2011-2012 and emerged definitively only in the late 2012. This lag-time pattern mirrors the findings reported elsewhere and suggests that the novel variant circulated at low prevalence before spreading globally.

### INTRODUZIONE

I norovirus (NoV), appartenenti alla famiglia *Caliciviridae*, sono riconosciuti in tutto il mondo come la causa più frequente di epidemie di gastroenterite acuta in tutte le fasce di età. Essi acquisiscono un particolare ruolo eziologico nei bambini di età inferiore a 5 anni rappresentando la seconda causa di ricovero per gastroenterite dopo rotavirus (7, 8, 14). Il problema dell'emergenza di NoV nei paesi industrializzati è legato alle caratteristiche biologiche e genetiche di questi virus ma anche al crescente fenomeno della globalizzazione e a cambiamenti nelle abitudini alimentari, come il consumo sempre maggiore di prodotti surgelati.

I NoV possono essere suddivisi geneticamente in almeno cinque genogruppi, GI-GV (6). Sebbene all'interno dei genogruppi GI, GII e GIV siano stati descritti più di 30 genotipi di NoV che infettano l'uomo (9), un singolo genotipo, GII.4, è associato alla maggior parte delle gastroenteriti da NoV, sia in forma epidemica che sporadica, in tutto il mondo (1).

La sorveglianza epidemiologica dei ceppi circolanti viene condotta mediante genotipizzazione utilizzando una strategia "multi-target" che mira a tipizzare sia il gene che codifica per la RNA-polimerasi virale (ORF1), nelle regioni A e B, che quello della proteina capsidica maggiore VP1 (ORF2), nelle regioni C, E e D del genoma di NoV (10). Le sequenze geniche ottenute dalle regioni rappresentative del genoma virale consentono di definire il genotipo polimerasico e capsidico del ceppo analizzato mediante confronto con

le sequenze di riferimento depositate nella banca dati del NoroNet, istituita in Olanda presso il RIVM (*Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu*), utilizzando il software di analisi filogenetica on-line *Norovirus Typing Tool* (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>).

L'analisi di sequenza dei NoV GII.4 ha evidenziato che tali ceppi sono particolarmente soggetti ad accumulo di mutazioni puntiformi e/o a eventi di ricombinazione genetica. Tali eventi mutazionali danno origine a nuove varianti genetiche/antigeniche che sembrano emergere ogni 2-3 anni in diverse aree geografiche (2).

In vari Paesi alla fine del 2012 è stata segnalata un'aumentata incidenza sia di episodi epidemici che di casi sporadici di gastroenterite da NoV associati all'emergenza di una nuova variante del genotipo GII.4, denominata Sydney 2012, in quanto identificata per la prima volta in Australia nel marzo del 2012 (13).

### PRESENTAZIONE DELLO STUDIO

Il Gruppo di Studio Italiano sui Virus Enterici (ISGEV; <http://isgev.net>) effettua una costante sorveglianza sulla circolazione dei virus enterici in bambini con gastroenterite ricoverati in ospedale od osservati ambulatorialmente in una sede del Sud Italia, Palermo, e in una del Nord Italia, Parma (5, 11).

La presente nota riporta i dati della genotipizzazione dei NoV circolanti in Italia nelle ultime due stagioni epidemiche, 2011-2012 e 2012-2013. Durante la stagione invernale 2011-2012 (novembre-marzo), la prevalenza di infezione da NoV,

**Corresponding author: Maria Cristina Medici**

Unità di Microbiologia e Virologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale,  
Viale Antonio Gramsci 14, 43126 Parma, Italy - Tel. 0521-033495/033499 - Fax 0521-993620  
E-mail: [mariacristina.medici@unipr.it](mailto:mariacristina.medici@unipr.it)

diagnosticata mediante metodiche molecolari, è stata del 22.2% (121/545). Una selezione di 48 (40.5%) campioni di feci NoV-positivi è stata sottoposta a sequenziamento genico della regione A della polimerasi virale (ORF1, pol) e della regione C del capsido virale (ORF2, cap) e di questi il 41.7% è risultato riconducibile alla variante GII.4 New Orleans 2009. Tale variante è considerata una variante pandemica che ha circolato su scala globale a partire dal 2008 (3). L'analisi nucleotidica ha permesso anche di rilevare nel 12.5% dei NoV un gene polimerasico riconducibile al genotipo GII.4 New Orleans 2009 in associazione con due distinti tipi di sequenze capsidiche, nessuna delle quali corrispondente a sequenze depositate nel Norovirus Typing Tool. Sono stati, inoltre, identificati 2 casi (4.2%) riconducibili a ceppi GII.4 Den Haag 2006b. Come pure tra la fine del 2011 e l'inizio del 2012 (novembre 2011- gennaio 2012) sono stati identificati 4 casi sporadici e un piccolo focolaio epidemico (febbraio 2012), che erano stati originariamente associati a un ceppo di NoV ricombinante pol/cap, GII.Pe\_GII.4. A seguito del più recente aggiornamento del database Norovirus Typing Tool, che ha consentito l'inserimento delle sequenze di riferimento della nuova variante GII.4 Sydney 2012 nel software di identificazione, è stato possibile riclassificare questi ceppi ricombinanti GII.Pe\_GII.4 come appartenenti alla nuova variante GII.4 Sydney.

La sorveglianza è stata proseguita anche nei periodi primaverile, estivo e autunnale del 2012 e da aprile a ottobre sono stati rivelati altri 56 campioni NoV-positivi su 737 analizzati (7.6%). L'analisi di sequenza di 34 (60.7%) di questi ceppi ha dimostrato che nel 41.2% dei casi il gene cap era riconducibile a NoV GII.3 (la maggior parte in combinazione con GII.Pb pol), il 26.5% era riconducibile a GII.Pg\_GII.1 ed il 17.6% a diverse varianti GII.4, tra le quali la variante New Orleans 2009 era predominante, mentre la variante Sydney 2012 sembrava essere apparentemente scomparsa. Alla fine del 2012 (novembre-dicembre) e nel gennaio 2013 l'ISGEV ha rilevato una prevalenza del 28.9% di infezione da NoV in bambini con gastroenterite ricoverati o visitati in ambulatorio, similmente a quanto riscontrato nello stesso periodo della stagione invernale precedente 2011-2012 (25.2%). Una selezione di 35 (38.9%) campioni NoV-positivi è stata sottoposta a sequenziamento ed il 74.3% dei ceppi è stato caratterizzato come variante GII.4 Sydney 2012, confermando che anche in Italia questa variante ha acquisito una rilevanza epidemiologica paragonabile a quella evidenziata in altri paesi europei ed extra-europei. I risultati ottenuti concordano con quanto osservato in uno studio danese (4), che ha evidenziato una

bassa prevalenza della variante GII.4 Sydney 2012 all'inizio del 2012 e un significativo aumento della sua circolazione solo alla fine dell'anno. Grazie a quanto evidenziato in questo studio è possibile anticipare la data della prima comparsa della variante GII.4 Sydney 2012 già alla fine del 2011.

La variante GII.4 Sydney 2012 sembra riconoscere l'origine del gene cap dalle precedenti varianti GII.4 Apeldoorn 2008 e New Orleans 2009. Tuttavia, rispetto ai loro progenitori questi ceppi presentano una serie di sostituzioni aminoacidiche che interessano il dominio riconosciuto dagli anticorpi neutralizzanti (regione P2) (4).

## CONCLUSIONI

Durante l'attività di sorveglianza della circolazione di NoV in Italia sono stati identificati dall'ISGEV dei ceppi "precoci" della variante GII.4 Sydney 2012 di NoV. Lo studio di questi ceppi può essere utile per approfondire le conoscenze sui meccanismi che hanno indotto la comparsa e la diffusione di questa variante pandemica di NoV.

In molti paesi la comparsa e la diffusione della variante GII.4 Sydney 2012 è stata associata a un incremento dell'attività di NoV che si è riscontrato progressivamente negli ultimi mesi del 2012 e all'inizio del 2013 (aumentata incidenza degli episodi epidemici e dei casi sporadici di gastroenterite da NoV) (13). I dati ottenuti dall'ISGEV sembrano suggerire un andamento analogo anche in Italia. La continua sorveglianza delle infezioni da NoV attuata dall'ISGEV e la disponibilità di maggiori informazioni sulle caratteristiche cliniche ed epidemiologiche delle infezioni sostenute da questa nuova variante consentirà di valutare le implicazioni della variante GII.4 Sydney 2012 sulla salute pubblica in Italia.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bok K, Abente EJ, Realpe-Quintero M, et al. Evolutionary dynamics of GII.4 noroviruses over a 34-year period. *J Virol* 2009; 83: 11890-1.
2. De Grazia S, Martella V, Chironna M, et al. Nationwide surveillance study of human astrovirus infections in an Italian paediatric population. *Epidemiol Infect* 2013; 141: 524-8.
3. Eden JS, Bull RA, Tu E, et al. Norovirus GII.4 variant 2006b caused epidemics of acute gastroenteritis in Australia during 2007 and 2008. *J Clin Virol* 2010; 49: 265-71.
4. Fonager J, Hindbaek L, Fischer T. Rapid emergence and antigenic diversification of the norovirus 2012 Sydney variant in Denmark, October to December, 2012. *Euro Surveill* 2013; 18: pii=20413.
5. Giammanco GM, Rotolo V, Medici MC, et al. Recombinant norovirus GII.g/GII.12 gastroenteritis in

- children. *Infect Genet Evol* 2012; 12: 169-74.
6. Green KY. Caliciviridae. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, et al., editors. *Fields virology*. 5th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2007; 949-9.
  7. Hoa Tran TN, Trainor E, Nakagomi T, Cunliffe NA, Nakagomi O. Molecular epidemiology of noroviruses associated with acute sporadic gastroenteritis in children: global distribution of genogroups, genotypes and GII.4 variants. *J Clin Virol* 2013; 3: 185-93.
  8. Koopmans M. Progress in understanding norovirus epidemiology. *Cur Opin Infect Dis* 2008; 21: 544-2.
  9. Kroneman A, Vega E, Vennema H, et al. Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Arch Virol* 2013; In corso di stampa
  10. Kroneman A, Vennema H, Deforche K, et al. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses. *J Clin Virol* 2011; 51: 121-5.
  11. Medici MC, Tummolo F, Albonetti V, Abelli LA, Chezzi C, Calderaro A. Molecular detection and epidemiology of astrovirus, bocavirus, and sapovirus in Italian children admitted to hospital with acute gastroenteritis, 2008-2009. *J Med Virol* 2012; 84: 643-50.
  12. Siebenga JJ, Vennema H, Renckens B, et al. Epochal evolution of GII.4 norovirus capsid proteins from 1995 to 2006. *J Virol* 2007; 81: 9932-41.
  13. Van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, et al. Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012. *Euro Surveill* 2013; 18: 8-9.
  14. Zeng M, Xu X, Zhu C, et al. Clinical and molecular epidemiology of norovirus infection in childhood diarrhea in China. *J Med Virol* 2012; 84: 145-51.