



RAPPORTI ISTISAN 15|21

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

CENTRO NAZIONALE OMS PER L'INFLUENZA

Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia (stagione 2013-2014)

I. Donatelli, S. Puzelli, A. Palmieri,
A. Di Martino, M. Facchini, M. Meola, C. Fabiani,
L. Calzoletti, T. Grisetti, M.R. Castrucci



EPIDEMIOLOGIA
E SANITÀ PUBBLICA

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

CENTRO NAZIONALE OMS PER L'INFLUENZA
Sorveglianza virologica dell'influenza
in Italia (stagione 2013-2014)

Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Annapina Palmieri,
Angela Di Martino, Marzia Facchini, Monica Meola, Concetta Fabiani,
Laura Calzoletti, Tiziana Grisetti, Maria Rita Castrucci

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN
15/21

Istituto Superiore di Sanità

Centro nazionale OMS per l'influenza. Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia (stagione 2013-2014).

Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Annapina Palmieri, Angela Di Martino, Marzia Facchini, Monica Meola, Concetta Fabiani, Laura Calzoletti, Tiziana Grisetti, Maria Rita Castrucci
2015, iii, 37 p. Rapporti ISTISAN 15/21

I virus influenzali rappresentano ancora oggi una delle principali cause di infezione del tratto respiratorio umano ed, annualmente, costituiscono un grave problema nel mondo, sia in termini di mortalità che di morbilità. La vaccinazione costituisce attualmente la misura più efficace per contrastare l'influenza. La composizione vaccinale viene modificata annualmente adattandola alle variazioni antigeniche del virus, che si verificano a causa dell'alta frequenza di mutazioni. A tal fine, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha predisposto Centri di osservazione e di rilevamento per l'influenza presenti in tutto il mondo che, collaborando con i sei Centri di Riferimento OMS (Atlanta, Londra, Melbourne, Tokyo, Memphis, Pechino), permettono di identificare tempestivamente le varianti virali emergenti e di valutare, dal punto di vista sia antigenico sia molecolare, il grado di variazione acquisita dai virus influenzali circolanti nella popolazione. Nel seguente rapporto sono riassunti i dati della sorveglianza virologica per la stagione influenzale 2013-2014 in Italia.

Parole chiave: Virus influenzale; Vaccinazione; Italia; OMS

Istituto Superiore di Sanità

WHO National Influenza Centre. Virological influenza surveillance in Italy (2013-2014 season).

Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Annapina Palmieri, Angela Di Martino, Marzia Facchini, Monica Meola, Concetta Fabiani, Laura Calzoletti, Tiziana Grisetti, Maria Rita Castrucci
2015, iii, 37 p. Rapporti ISTISAN 15/21 (in Italian)

Influenza viruses continue to be a major cause of respiratory tract infection in humans, resulting every year in a significant morbidity and mortality all over the world. Vaccination is currently the main influenza prevention method. The influenza vaccine composition must be adjusted each year to match the antigenic characteristics of existing viruses, due to the constantly change of the circulating influenza viruses. For this reason, WHO created an international network of National Influenza Centres working together with the six WHO Collaborating Centres for Reference and Research on Influenza (Atlanta, London, Melbourne, Tokyo, Memphis, Beijing). This network helps to monitor influenza activity all over the world, to timely identify any emerging variant and provides an antigenic and molecular evaluation of the variability degree of the influenza viruses circulating world-wide. This report is a summary of the surveillance data collected during the 2013-2014 influenza season in Italy.

Key words: Influenza virus; Vaccination; Italy; WHO

Per informazioni su questo documento scrivere a: isabella.donatelli@iss.it

Citare questo documento come segue:

Donatelli I, Puzelli S, Palmieri A, Di Martino A, Facchini M, Meola M, Fabiani C, Calzoletti L, Grisetti T, Castrucci MT. *Centro nazionale OMS per l'influenza. Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia (stagione 2013-2014)*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2015. (Rapporti ISTISAN 15/21).

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Gualtiero Ricciardi*

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 114 (cartaceo) e n. 115 (online) del 16 maggio 2014

Direttore responsabile della serie: *Paola De Castro*

Redazione: *Paola De Castro* e *Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori, che dichiarano di non avere conflitti di interesse.

Rete dei Laboratori regionali INFLUNET coordinati dal NIC (sorveglianza sentinella)

- Prof. Filippo ANSALDI
Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Genova
- Prof.ssa Alberta AZZI
Dipartimento di Sanità Pubblica, Università di Firenze
- Prof. Fausto BALDANTI
Fondazione IRCCS Policlinico "San Matteo", Pavia
- Dott.ssa Maria CHIRONNA
UOC Policlinico di Bari DIMO, Bari
- Prof. Pierlanfranco D'AGARO
UCO Igiene e Medicina Preventiva, Università di Trieste
- Prof.ssa Caterina SERRA
Dipartimento di Scienze Biochimiche, Università di Sassari
- Prof. Maurizio SANGUINETTI
Istituto di Microbiologia, Università Cattolica S. Cuore, Roma
- Dott.ssa Valeria GHISETTI
Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedale "Amedeo di Savoia", Torino
- Dott.ssa Barbara CAMILLONI
Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Perugia
- Dott.ssa Elisabetta PAGANI
Laboratorio di Microbiologia e Virologia/Comprensorio Sanitario di Bolzano
- Prof. Giorgio PALÚ
Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Padova
- Prof.ssa Maria Luisa TANZI/ Dott.ssa Paola AFFANNI
Dipartimento di Sanità Pubblica, Università di Parma
- Prof. Francesco VITALE
Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Università di Palermo
- Prof. Alessandro ZANETTI
Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Università di Milano

Ministero della Salute

- Dott. Giuseppe RUOCCO
Direttore Generale della Direzione Generale della Prevenzione (DGPRE)
- Dott.ssa Maria Grazia POMPA, Dott.ssa Anna CARAGLIA
Ufficio V - Malattie Infettive e Profilassi Internazionale, D. G. Prevenzione

INDICE

Introduzione	1
Dati del Centro Nazionale Influenza in Italia	3
Sorveglianza virologica.....	3
Organizzazione e strutture coinvolte.....	3
Metodi impiegati nella diagnosi virologica.....	3
Analisi di sequenziamento nucleotidico e filogenesi.....	4
Saggi per la valutazione della farmaco-suscettibilità dei virus influenzali.....	4
Risultati delle indagini virologiche in Italia.....	5
Gruppi di età.....	7
Flusso dei dati.....	9
Caratterizzazione sierologica e molecolare degli isolati virali.....	9
Sottotipo A/H3N2.....	9
Sottotipo A/H1N1pdm09.....	13
Tipo B.....	15
Farmaco-resistenza dei virus influenzali.....	17
Casi umani di influenza aviaria.....	18
Circolazione dei virus influenzali in Europa e nel mondo	19
Isolamenti virali in Europa.....	19
Isolamenti virali nel mondo.....	21
Sottotipo A/H3N2.....	21
Sottotipo A/H1N1pdm09.....	23
Tipo B.....	23
Raccomandazioni dell'OMS per la composizione del vaccino antinfluenzale per la stagione 2014/2015 (Emisfero Nord)	25
Composizione del vaccino per la stagione 2014-2015.....	25
Bibliografia	26
Appendice	
Protocollo operativo (stagione 2013-2014) del sistema di sorveglianza FLU-ISS: estratto della parte virologica.....	29

INTRODUZIONE

L'influenza è una malattia respiratoria acuta altamente contagiosa, caratterizzata da febbre (>38°C) e sintomi a carico delle prime vie aeree (tosse, mal di gola, congestione nasale), accompagnati da dolori ossei e muscolari, astenia, cefalea. Le manifestazioni cliniche dell'influenza possono variare, comunque, dall'assenza di sintomatologia alla polmonite.

Caratteristica principale del virus influenzale, responsabile dell'infezione, è l'elevata variabilità genetica che è causa del susseguirsi degli eventi epidemici. La capacità di mutare continuamente le caratteristiche antigeniche delle proteine di superficie (*drift* antigenico) vanifica infatti l'immunità acquisita sia da pregresse infezioni naturali sia da copertura vaccinale.

Le epidemie influenzali hanno un andamento stagionale e si manifestano, nelle zone temperate dell'emisfero Nord, prevalentemente durante il periodo invernale. Il picco dell'attività influenzale, di 6-8 settimane, si presenta tra i mesi di dicembre e marzo.

La gravità delle epidemie può variare ampiamente di anno in anno, essendo influenzata da diversi fattori, quali ad esempio il tipo, il sottotipo e gli specifici ceppi virali circolanti, nonché dai livelli anticorpali presenti nella popolazione.

L'influenza è responsabile di un eccesso di mortalità nelle categorie di soggetti maggiormente a rischio, come ad esempio negli anziani o nei soggetti in cui erano già preesistenti condizioni patologiche predisponenti. Qualora si verificano superinfezioni batteriche, si possono presentare serie complicanze.

Occasionalmente, i virus influenzali possono subire variazioni drastiche e improvvise dovute a sostituzione di una o entrambe le proteine di superficie (*shift* antigenico). Questo fenomeno porta all'emergenza di nuovi sottotipi antigenici che, non incontrando alcuna resistenza immunitaria nella popolazione, sono in grado di provocare pandemie (1).

L'uso degli antibiotici per combattere la malattia è inefficace, trattandosi di una malattia virale. Tuttavia, tali farmaci sono necessari in caso di complicazioni batteriche. Attualmente sono disponibili farmaci antivirali che, se assunti tempestivamente, bloccano la diffusione del virus da una cellula all'altra dell'organismo e attenuano i sintomi rendendo più breve il decorso della malattia (2-9).

La più importante misura di prevenzione contro l'influenza in termini di costo-efficacia e costo-beneficio, resta la vaccinazione, particolarmente raccomandata nei soggetti di ogni età con malattie respiratorie, cardiache o metaboliche e negli anziani con più di 65 anni (10-11).

I virus influenzali responsabili delle manifestazioni cliniche più importanti per l'uomo sono suddivisi in virus di tipo A (sottotipi H3N2 e H1N1) e di tipo B. Tutti i sottotipi A, a differenza dei virus B, sono diffusi in altre specie animali, in particolare negli uccelli. Di norma i virus dell'influenza aviaria non infettano l'uomo ma, in alcune occasioni, sono stati descritti casi di sindromi respiratorie severe nell'uomo, causate da ceppi aviari altamente patogeni. Di recente, in alcuni paesi dell'Africa e dell'Asia, sono stati riportati casi di infezioni umane da sottotipi aviari H5N1 e H7N9. Sebbene il rischio di diffusione in Europa sia considerato molto basso, la sorveglianza è stata rinforzata anche in Italia. Nel nostro paese, in particolare, sono stati riportati nel 2013 casi sporadici di infezione da virus influenzali aviari, appartenenti in questo caso al sottotipo H7N7, tra allevatori di polli durante un'epidemia avvenuta in Nord Italia (12-13).

L'aggiornamento annuale della composizione vaccinale antinfluenzale costituisce lo scopo principale del Programma Mondiale di Sorveglianza dell'Influenza coordinato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), attraverso i suoi 6 Centri internazionali di riferimento (Atlanta, Pechino, Londra, Melbourne, Memphis, Tokyo) che collaborano con 141

Centri Nazionali che costituiscono la rete del sistema di sorveglianza dell'influenza, predisposti fin dal 1948 dall'OMS con l'obiettivo principale di identificare precocemente le nuove varianti virali circolanti al fine di intraprendere misure appropriate e tempestive in risposta ad epidemie influenzali di una certa entità.

A Ginevra, ogni anno, nel mese di febbraio, si svolge un incontro internazionale organizzato dall'OMS, nel quale viene fissata, sulla base delle informazioni epidemiologiche, virologiche e sierologiche raccolte dai Centri Nazionali, la composizione del vaccino antinfluenzale.

In Italia, la rete di sorveglianza virologica ed epidemiologica è costituita dal Ministero della Salute, dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) con il Centro Nazionale Influenza (*National Influenza Centre*, NIC), dai medici di base e dai pediatri di libera scelta. Principale obiettivo è quello di fornire dati utili a ridurre l'incidenza dell'influenza, a monitorare l'andamento dell'epidemia e a verificare l'efficacia della campagna vaccinale.

Specifiche campagne di vaccinazione per l'immunoprofilassi vaccinale vengono promosse annualmente dal Ministero della Salute e dall'ISS.

DATI DEL CENTRO NAZIONALE INFLUENZA IN ITALIA

In questa sezione sono riassunti i dati relativi al monitoraggio della circolazione dei virus influenzali in Italia durante il periodo compreso tra la 46^a settimana del 2013 (11-17 novembre) e la 17^a settimana del 2014 (21-27 aprile). Questa attività viene svolta nell'ambito del sistema integrato di sorveglianza virologica e clinico-epidemiologica, attivo in Italia dal 1997. In Appendice viene fornito l'estratto del Protocollo Operativo riguardante la parte virologica del sistema di sorveglianza sentinella dell'influenza basata su medici di medicina generale e pediatri di libera scelta.

Sorveglianza virologica

Organizzazione e strutture coinvolte

Anche nel periodo 2013-2014 il programma di sorveglianza virologica dell'influenza in Italia si è avvalso della collaborazione di alcuni Laboratori periferici, sia universitari che ospedalieri (Rete INFLUNET). La rete che collabora con l'ISS e partecipa alla sorveglianza virologica dell'influenza è così composta:

1. AS Alto Adige, Laboratorio Aziendale di Microbiologia e Virologia/Comprensorio sanitario di Bolzano;
2. Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedale Amedeo di Savoia, Torino;
3. Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Università degli Studi di Milano;
4. Virologia molecolare, Struttura complessa virologia/ microbiologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia;
5. Dipartimento di Medicina Molecolare Università degli Studi di Padova;
6. Dipartimento Universitario Clinico di Scienze mediche, chirurgiche e della salute, Università degli Studi di Trieste;
7. Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Genova;
8. Dipartimento di Sanità Pubblica, Università degli Studi di Parma;
9. Dipartimento di Sanità Pubblica, Università degli Studi di Firenze;
10. Dipartimento Medicina Sperimentale, Sezione Microbiologia, Università di Perugia;
11. Istituto di Microbiologia, Università Cattolica "S. Cuore", Roma;
12. Dipartimento di Scienze Biomediche ed Oncologia Umana, UOC policlinico di Bari;
13. Dipartimento di Scienze Biomediche, Sez. Microbiologia Sperimentale e Clinica, Università di Sassari;
14. Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute, Sezione di Igiene, Università di Palermo.

In aggiunta ai suddetti laboratori afferenti alla rete di sorveglianza sentinella, che hanno fornito dati e campioni clinici, i seguenti laboratori ospedalieri/universitari hanno contribuito fornendo informazioni utilizzate nel presente rapporto:

1. Servizio di Virologia Azienda Ospedaliera Universitaria "Ospedali Riuniti" Ancona;
2. IRCCS "Lazzaro Spallanzani" UOC Laboratorio Virologia, Roma.

Metodi impiegati nella diagnosi virologica

I campioni clinici utilizzati per la ricerca del virus influenzale sono rappresentati da tamponi faringei prelevati durante la fase acuta dell'infezione, generalmente caratterizzata da presenza di

febbre elevata. La raccolta dei tamponi faringei è stata eseguita utilizzando un apposito kit diagnostico. La presenza del virus influenzale nei campioni biologici è stata evidenziata attraverso l'isolamento virale e/o l'identificazione di componenti virali. Per l'isolamento del virus sono state utilizzate colture cellulari di rene di cane (*Madin-Darby Canine Kidney Cells*, MDCK) (14-17), particolarmente sensibili alla crescita del virus influenzale, e uova embrionate di pollo (18-19), sistema essenziale per avere a disposizione virus vivo per la preparazione del vaccino.

La presenza di virus è stata evidenziata mediante la ricerca di attività emagglutinante nel liquido colturale soprannatante o nel liquido allantoideo delle uova embrionate.

Per la tipizzazione e/o sottotipizzazione dell'agente emagglutinante isolato sono stati utilizzati metodi di identificazione sierologica, come il test di inibizione dell'emagglutinazione (*Haemagglutination Inhibition*, HI) (20-22), utilizzando antisieri policlonali prodotti in pollo e/o furetto presso l'ISS, qui di seguito elencati:

- A/Victoria/361/2011 e A/Texas/50/2012;
- antisiero A/California/07/2009;
- antisiero B/Brisbane/60/2008, B/Winsconsin/01/2010 e B/Massachusetts/02/2012.

Per l'identificazione di componenti virali - nucleoproteina (*NucleoProtein*, NP) e proteina di superficie emoagglutinina (*HemAgglutinin*, HA) - direttamente nei campioni clinici, si è fatto ricorso a metodi di diagnosi rapida, quali:

- *RT-PCR* (reazioni polimerasiche a catena, precedute da trascrizione inversa) (23-29);
- *Real Time RT-PCR "one-step"* (mediante kit "CDC Influenza virus *Real-time* RT-PCR Influenza A/B" e "CDC Influenza Virus *Real time* RT-PCR Influenza A(H1/H3/H1pdm09) Subtyping Panel").

La RT-PCR è stata condotta mediante l'utilizzo di coppie di *primer* dirette verso regioni altamente conservate delle proteine virali interne tipo-specifiche (es. NP dei virus influenzali) e di superficie sottotipo-specifiche (es. HA dei virus influenzali), permettendo in tal modo, oltre alla diagnosi di influenza, anche la tipizzazione e/o sottotipizzazione del virus identificato.

Analisi di sequenziamento nucleotidico e filogenesi

Gli amplificati ottenuti mediante la reazione di RT-PCR sono stati purificati e utilizzati nella successiva fase di sequenziamento in cui si è fatto uso del kit "Big Dye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing" (Applied Biosystems). I prodotti di sequenziamento sono stati infine sottoposti ad analisi con lo strumento "3500 Genetic Analyzer" (Applied Biosystems).

Le analisi e l'allineamento delle sequenze sono state eseguite mediante il programma BIOEDIT 7.0.3 (30-31). Le analisi filogenetiche relative al dominio HA1 della HA sono state effettuate utilizzando il pacchetto software MEGA5 e confrontando le sequenze dei virus isolati con quelle già presenti nelle banche dati specifiche (GenBank). La costruzione dell'albero filogenetico è stata effettuata con il metodo Kimura-2 e con l'algoritmo Neighbor-Joining (32-35).

Saggi per la valutazione della farmaco-suscettibilità dei virus influenzali

La sensibilità degli isolati virali agli Inibitori della Neuraminidasi (IN), oseltamivir e zanamivir, è stata testata mediante:

- Saggio enzimatico di inibizione della neuraminidasi, utilizzando come substrato il MUNANA (36);
- Analisi di sequenza della neuraminidasi, per evidenziare l'eventuale presenza di cambiamenti aminoacidici associati al carattere di resistenza.

Risultati delle indagini virologiche in Italia

Il monitoraggio virologico è stato eseguito nel periodo compreso tra la 46^a settimana del 2013 e la 17^a settimana del 2014. Complessivamente sono stati analizzati 4.444 campioni, di cui 1.036 (23%) positivi (Tabella 1). Il periodo di massima raccolta dei campioni è stato registrato tra la 4^a e la 9^a settimana 2014. La stagione è stata contraddistinta dalla quasi esclusiva circolazione di virus influenzali di tipo A, con prevalenza dei virus di sottotipo H3N2. In particolare, il 58% dei virus isolati e/o identificati nell'ambito del tipo A, è risultato appartenente al sottotipo H3N2, mentre i ceppi H1N1pdm09 hanno rappresentato il 35% del totale. Per il restante 7% dei ceppi di tipo A, il dato di sottotipizzazione non è disponibile. La circolazione dei ceppi di tipo B si è mantenuta a bassi livelli durante tutta la stagione. In particolare, i virus B hanno rappresentato solo il 3% dei virus isolati e/o identificati sull'intero territorio nazionale.

Tabella 1. Virus influenzali isolati e/o identificati in Italia nel periodo compreso tra la 46^a settimana del 2013 e la 17^a del 2014 su un totale di 4.444 campioni clinici raccolti (dati aggiornati al 30 aprile 2014)

Tipizzati	Non sottotipizzati	Sottotipizzati	Varianti antigeniche prevalenti
A 1.001 (97%)	68 (7%)	H3N2 584 (58%) H1N1pdm09 349 (35%)	A/Texas/50/2012 A/California/07/2009
B 35 (3%)			B/Massachusetts/02/2012 (B/Yamagata/16/88-like)

Nelle Figure 1 e 2 sono riportati il numero di campioni analizzati e i virus risultati positivi alle indagini di laboratorio a partire da novembre 2013 e fino ad aprile 2014.

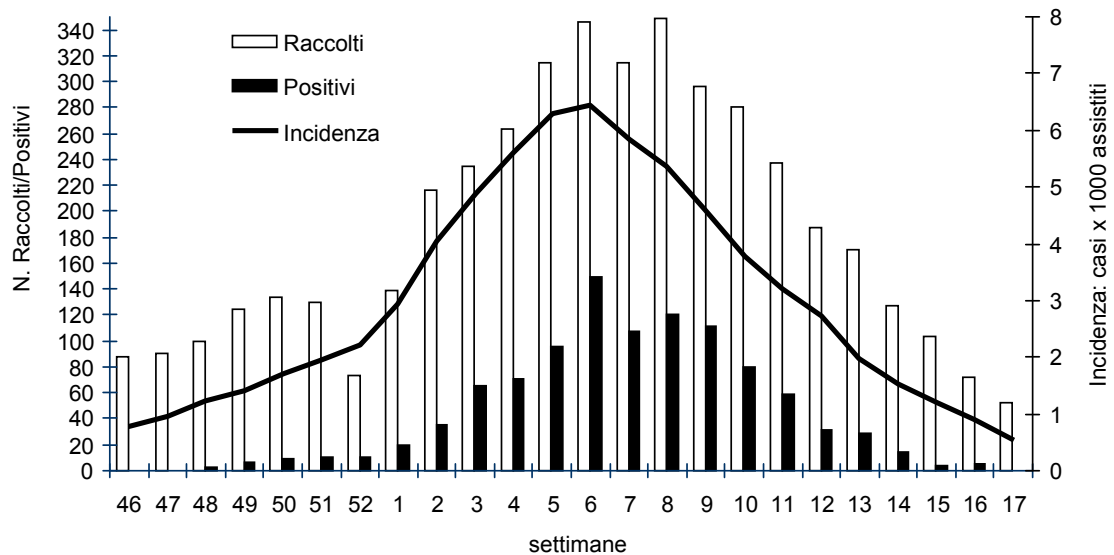


Figura 1. Andamento settimanale dei campioni clinici raccolti, dei campioni positivi e dell'incidenza della sindrome influenzale nella stagione 2013-2014

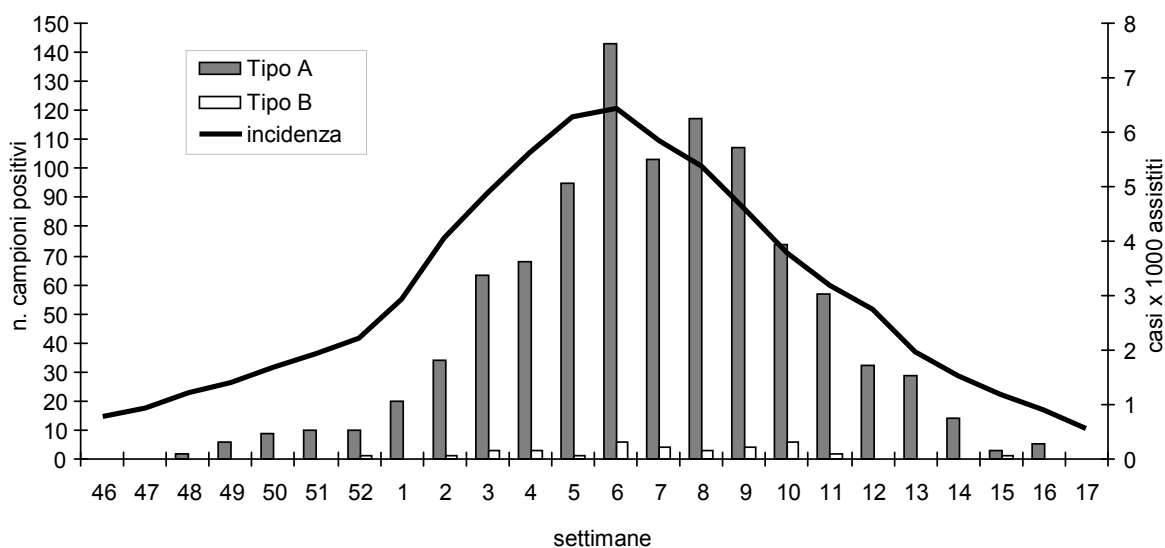


Figura 2. Andamento settimanale e dato di tipizzazione dei campioni positivi, stagione 2013-2014

La distribuzione settimanale dei campioni positivi durante la stagione influenzale 2013-2014 e la distribuzione geografica dei virus identificati vengono mostrate, rispettivamente, nelle Figure 3 e 4.

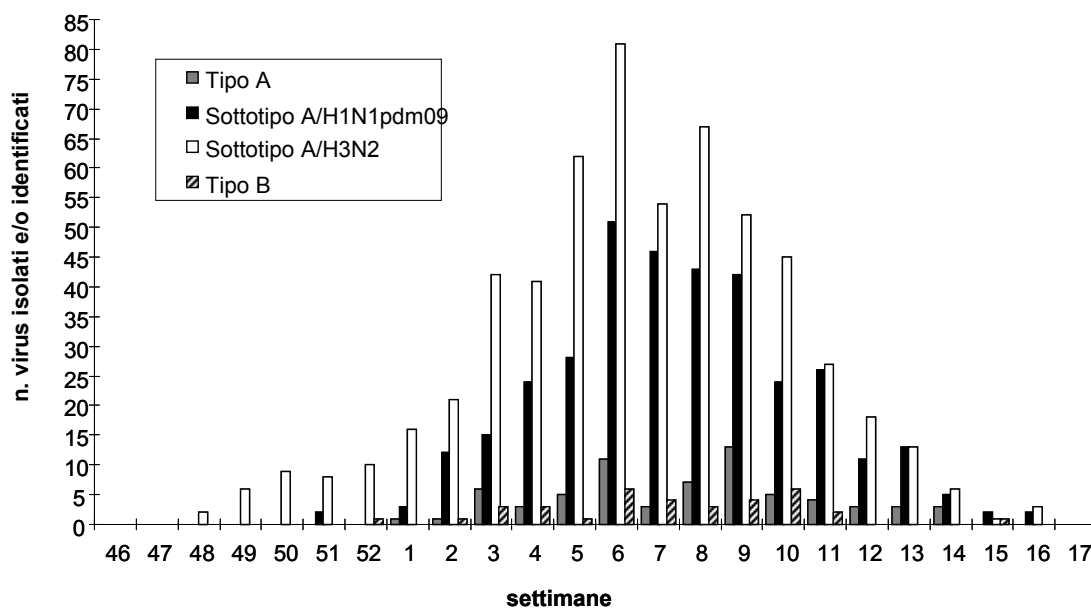


Figura 3. Distribuzione settimanale dei campioni positivi durante la stagione influenzale 2013-2014 per tipo e sottotipo (dati aggiornati alla 17ª settimana di sorveglianza)

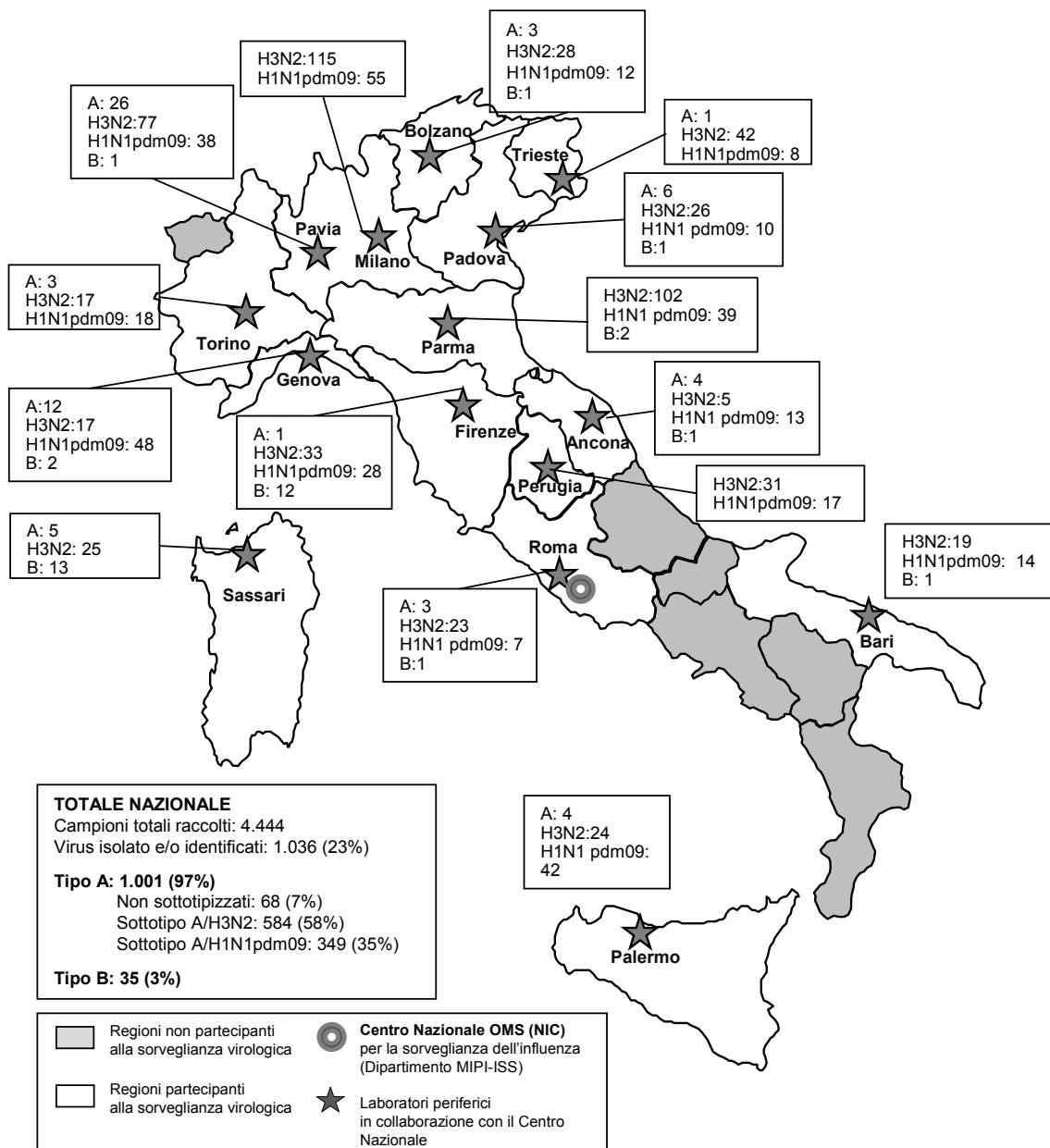


Figura 4. Distribuzione geografica dei ceppi virali identificati sull'intero territorio nazionale (dati aggiornati alla 17^a settimana di sorveglianza)

Gruppi di età

In Figura 5 è mostrata la percentuale per classi di età dei pazienti risultati positivi alla diagnosi di laboratorio. La Figura 6 riporta il numero assoluto dei campioni positivi per classi di età. Prevalentemente colpiti sono risultati i soggetti di età compresa tra 0 e 4 anni e tra 15 e 44

anni. Leggermente inferiori sono state le positività registrate nei campioni provenienti da pazienti appartenenti alle classi di età tra i 5 e i 14 anni, di quelli tra i 45 e i 64 anni e tra i pazienti con più di 64 anni.

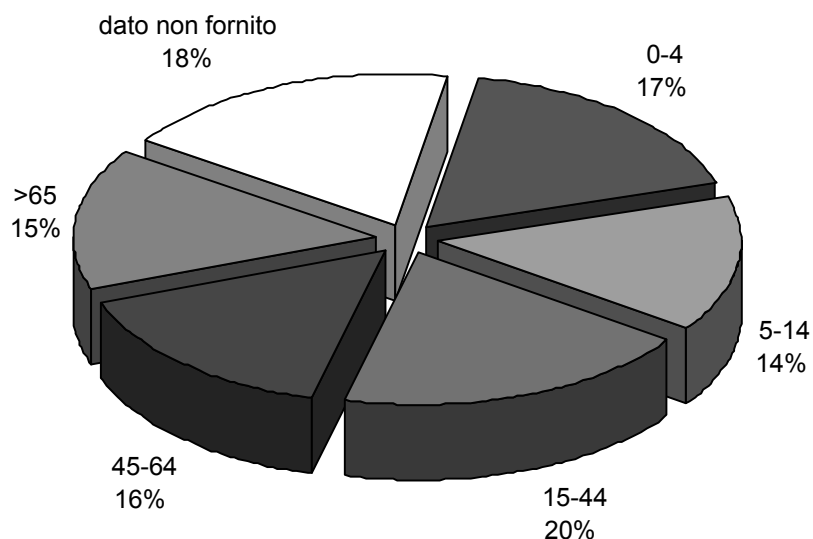


Figura 5. Distribuzione percentuale dei soggetti positivi alla diagnosi di laboratorio per classi di età

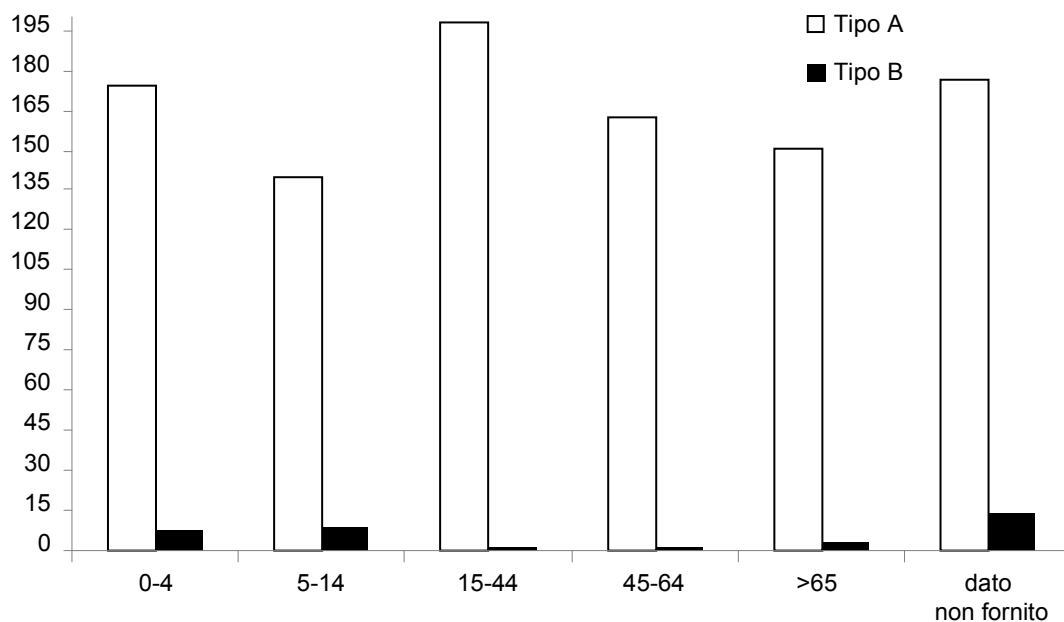


Figura 6. Numero di campioni positivi per classi di età

Flusso dei dati

L'invio dei dati, da parte dei laboratori periferici, avviene settimanalmente per via telematica mediante la compilazione di una scheda *online*. L'accesso è regolato dal riconoscimento del laboratorio di riferimento mediante *username* e *password*. I laboratori periferici sprovvisti di connessione internet inviano settimanalmente i dati al NIC, che provvede all'immissione nel database online.

L'ISS provvede, settimanalmente, a stilare un rapporto contenente i risultati virologici della sorveglianza, che viene poi pubblicato sul sito del Ministero della Salute al seguente indirizzo: http://www.salute.gov.it/portale/temi/p2_6.jsp?lingua=italiano&id=771&area=influenza&menu=sorveglianza.

I dati nazionali sono inoltre condivisi a livello internazionale sia con l'ECDC, mediante il sistema informativo *The European Surveillance System* (TESSy), attraverso il *Weekly Influenza Surveillance Overview* (WISO), sia con l'OMS attraverso il sistema informativo Flunet, che produce settimanalmente un rapporto di aggiornamento sull'influenza.

Tali rapporti sono disponibili rispettivamente all'indirizzo: http://ecdc.europa.eu/en/publications/surveillance_reports/influenza/Pages/weekly_influenza_surveillance_overview.aspx e http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/en/.

Caratterizzazione sierologica e molecolare degli isolati virali

Si riportano, di seguito, i risultati delle analisi di caratterizzazione antigenica e molecolare eseguite su alcuni ceppi virali, isolati in Italia durante la stagione 2013-2014.

Sottotipo A/H3N2

L'analisi antigenica dei virus appartenenti al sottotipo H3N2 è stata eseguita dal Centro OMS di riferimento di Londra, mediante un test HI effettuato con emazie di cavia in presenza di Oseltamivir, metodica introdotta di recente a causa delle difficoltà riscontrate nella caratterizzazione sierologica di questi virus con le emazie di diverse specie animali (37-38).

I virus analizzati hanno mostrato una minore reattività con l'antisiero prodotto contro il ceppo vaccinale A/Texas/50/2012, ottenuto in uovo. Una buona reattività si è invece riscontrata contro gli antisieri prodotti utilizzando virus di riferimento propagati in cellula A/Stockholm/18/2011, A/Athens/112/2012, A/Samara/73/2013 e A/Victoria/361/2011, antigenicamente correlati al ceppo A/Texas/50/2012 (Tabella 2). Come evidenziato in Tabella 3, una discreta reattività antigenica tra i virus analizzati è stata osservata anche verso i seguenti antisieri prodotti utilizzando virus di riferimento propagati in uovo: A/Stockholm/1/2013, A/South Africa/4655/2013 e A/Serbia/NS-210/2013.

Al fine di approfondire ulteriormente l'analisi delle caratteristiche dei virus A/H3N2 circolanti in Italia, è stato effettuato, presso il nostro laboratorio, il sequenziamento del gene dell'emagglutinina. Dall'analisi delle relazioni filogenetiche (Figura 7), risulta che gli isolati italiani vengono inclusi maggiormente nel raggruppamento genetico 3 ed, in particolare, nel sottogruppo 3C.3. Fanno eccezione i ceppi A/Sassari/12/20104 e A/Trieste/11/2014, A/Milano/152/2014 e A/Parma/32/2014 che si distribuiscono all'interno del sottogruppo genetico 3.C.2. Il ceppo vaccinale A/Texas/50/2012 appartiene al sottogruppo genetico 3C.1.

Tabella 2. A/H3N2: caratterizzazione antigenica (test HI) di virus influenzali isolati in Italia

Virus	Antiseri prodotti in furetto							
	A/Perth 16/09	A/Stock 18/11	A/Iowa 19/10	A/Vic 361/11	A/Ath 112/12	A/Tex 50/12 U	A/Sam 73/13	A/HK 146/13 U
Gruppo genetico	3A	6	3C.1	3B	3C.1	3C.3	3C.2	
Data analisi 29/01/2014								
A/Perth/16/09 ^a U	640	160	160	160	320	160	160	160
A/Stock/18/11	80	640	160	320	640	160	1280	320
A/Iowa/19/10 U	320	1280	1280	1280	1280	640	1280	640
A/Victoria/361/11 ^b	160	320	320	640	1280	320	1280	320
A/Athens/112/12	80	320	160	640	1280	160	640	320
A/Texas/50/12 ^c U	640	1280	1280	1280	2560	1280	1280	1280
A/Samara/73/13	80	320	160	640	640	320	1280	640
A/HK/146/13 U	320	1280	1280	1280	1280	640	2560	2560
A/Milano/59/2013	<	160	80	160	640	160	640	160
A/Milano/60/2013	<	80	40	160	320	80	320	160
A/Pavia/154/2013	<	160	80	320	640	160	640	160
A/Parma/1/2014	40	320	160	640	1280	320	1280	320
A/Parma/2/2014	<	80	40	160	320	80	320	80
A/Parma/3/2014	<	160	80	320	640	160	640	160
A/Trieste/37/2013	80	320	160	640	1280	320	1280	640
A/Pavia/145/2013	40	320	160	320	640	160	640	320
A/Pavia/146/2013	40	320	160	640	1280	320	1280	320
A/Pavia/147/2013	80	320	320	640	1280	320	1280	640
A/Pavia/148/2013	80	320	320	640	1280	320	1280	640
A/Pavia/149/2013	80	320	320	320	1280	320	1280	640
A/Trieste/38/2013	<	160	160	320	640	160	640	320
A/Trieste/39/2013	40	160	160	320	1280	160	640	320
A/Trieste/40/2013	40	320	320	640	1280	320	1280	320
A/Milano/58/2013	<	160	160	320	1280	320	640	320
A/Trieste/41/2013	<	160	80	160	640	160	640	160

< = < 40; U virus propagati in uova embrionate di pollo.

^a A/Perth/16/2009 (ceppo vaccinale 2010-2011, 2011-2012)

^b A/Victoria/361/2011 (ceppo vaccinale 2012-2013)

^c A/Texas/50/2012 (ceppo vaccinale 2013-2014, 2014-2015)

I sottogruppi 3.C.2 e 3.C.3 sono caratterizzati dalle ulteriori sostituzioni aminoacidiche:

(3C) S45N, T48I, A198S

(3C.2) N145S in HA1, e D160N in HA2 (virus di riferimento: A Hong Kong/146/2013);

(3C.3) T128A (con conseguente perdita di un sito di glicosilazione potenziale), R142G e N145S in HA1 (virus di riferimento: A/Samara/73/2013).

Nessuno tra i ceppi isolati in Italia mostra, invece, possedere le mutazioni caratteristiche dei due sottogruppi genetici emergenti denominati 3.C.3.a (A138S, F159S, N225D e 326R) e 3.C.2.a (N144S, F159Y, K160T, N225D e Q311H).

Tabella 3. A/H3N2: caratterizzazione antigenica (test HI) di virus influenzali isolati in Italia

Virus	Antisieri prodotti in furetto								
	A/Per 16/09	A/Vic 361/11 C	A/Tex 50/12 U	A/Sam 73/13	A/Ser/NS- 210/13	A/HK 146/13	A/SthAfr 4655/13	A/Stoc 1/13	A/Stoc 6/14
Gruppo genetico		3C.1	3C.1	3C.3	3C.3	3C.2	3C.3	3C.2	3C.3
Data analisi 03/06/2014									
A/Perth/16/09 ^a U	640	160	160	160	160	160	40	80	40
A/Victoria/361/11 ^b	80	320	320	640	320	320	80	160	320
A/Texas/50/12 ^c U	320	1280	1280	1280	1280	640	80	160	320
A/Samara/73/13	80	320	320	640	640	640	80	160	640
A/Serbia/NS-210/13 U	320	1280	1280	1280	1280	1280	80	160	320
A/HK/146/13 U	320	640	640	1280	640	2560	80	160	160
A/SthAfrica/4655/13 U	80	80	160	320	160	320	320	160	80
A/Stockholm/1/13 U	40	80	160	320	160	320	320	320	160
A/Stockholm/6/14	<	40	40	320	160	160	40	80	640
A/Sassari/17/2014	<	160	160	320	160	160	40	80	320
A/Genova/09/2014	<	160	160	320	320	320	80	80	640
A/Milano/113/2014	<	160	160	320	160	320	80	80	320
A/Parma/40/2014	<	160	160	320	160	160	40	80	320
A/Milano/101/2014	40	320	320	640	320	320	80	160	640
A/Sassari/15/2014	<	160	160	320	320	320	80	80	320
A/Sassari/12/2014	40	160	160	320	160	320	80	80	320
A/Milano/72/2014	<	80	80	160	160	80	40	40	160
A/Firenze/9/2014	<	80	80	320	160	80	40	80	160
A/Roma/11/2014	40	320	160	640	320	320	80	160	640
A/Firenze/6/2014	40	160	160	640	320	320	80	160	320
A/Sassari/10/2014	<	160	160	320	160	160	80	80	320
A/Parma/28/2014	40	160	160	320	160	320	80	160	320
A/Parma/33/2014	40	320	320	1280	320	320	80	160	640
A/Milano/84/2014	<	320	160	640	320	320	80	160	640
A/Milano/58/2014	<	160	80	320	160	160	40	80	320
A/Roma/7/2014	<	160	160	640	320	160	80	160	320
A/Trieste/10/2014	<	160	160	320	160	160	40	80	320
A/Milano/31/2014	<	160	160	320	160	320	40	80	320
A/Roma/5/2014	40	320	160	640	320	320	80	160	640
A/Parma/8/2014	80	320	320	1280	640	640	160	160	640
A/Roma/3/2014	<	160	160	640	320	160	80	80	320
A/Sassari/1/2014	<	160	160	640	320	160	80	80	320
A/Roma/2/2014	<	160	160	640	320	320	80	160	640
A/Milano/13/2014	<	160	160	320	320	160	80	80	320
A/Trieste/01/2014	<	160	160	320	160	160	80	80	320

< = < 40; U virus propagati in uova embrionate di pollo; C virus propagati in cellule.

^a A/Perth/16/2009 (ceppo vaccinale 2010-2011, 2011-2012)

^b A/Victoria/361/2011 (ceppo vaccinale 2012-2013)

^c A/Texas/50/2012 (ceppo vaccinale 2013-2014, 2014-2015)

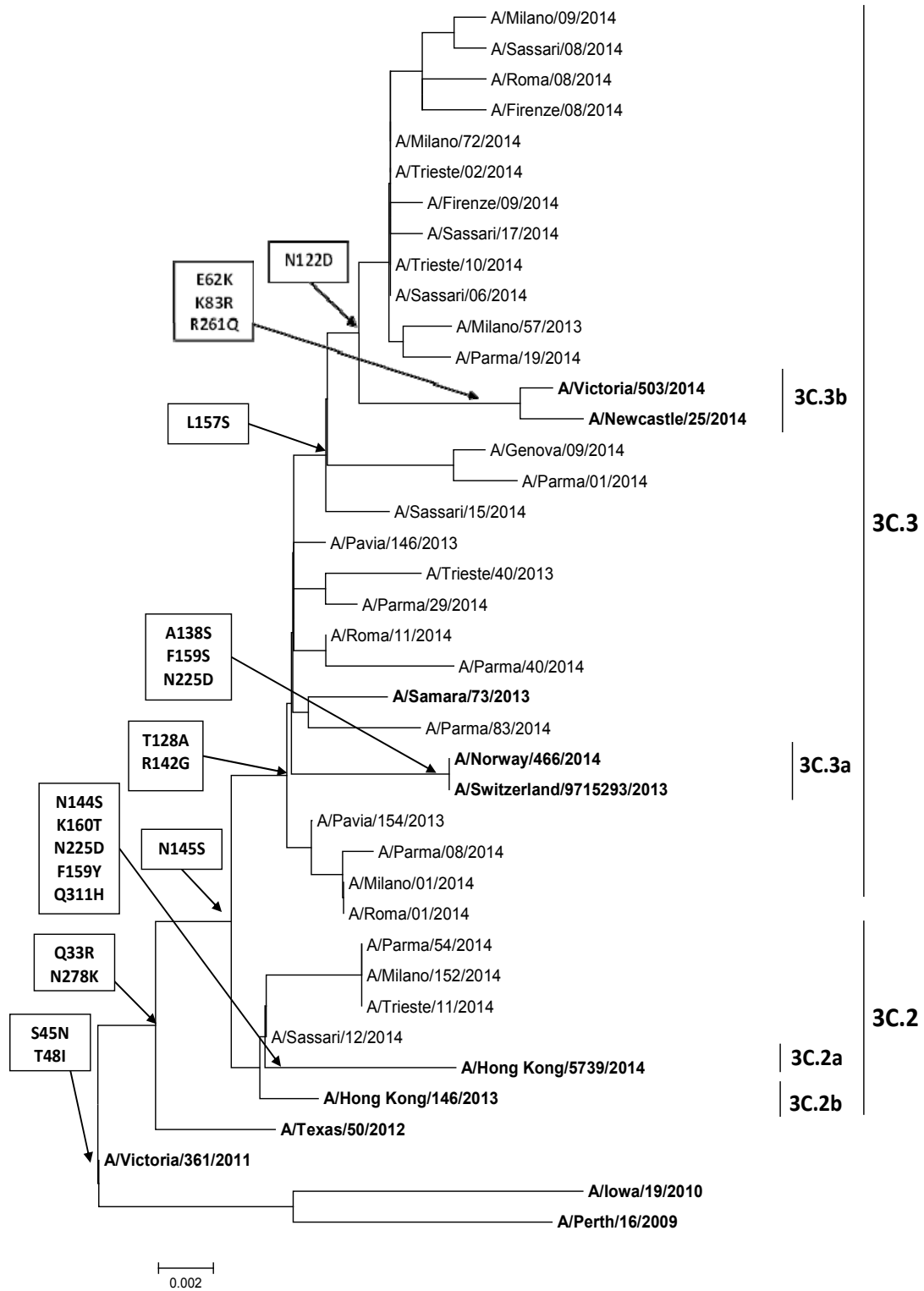


Figura 7. Relazioni filogenetiche relative al gene HA di recenti isolati umani A/H3N2 in Italia

Sottotipo A/H1N1pdm09

La maggior parte dei virus analizzati in ISS, ha mostrato una buona reattività antigenica verso l'antisiero prodotto contro la variante vaccinale A/California/7/2009.

Dalle analisi effettuate dal Centro OMS di riferimento di Londra i ceppi italiani hanno mostrato una buona reattività verso tutti gli antisieri prodotti contro le varianti A/California/7/2009-like (Tabelle 4-5).

Al fine di approfondire l'analisi delle caratteristiche dei virus A/H1N1pdm09 circolanti in Italia, è stato effettuato il sequenziamento del gene dell'emagglutinina.

Le analisi filogenetiche effettuate sul gene HA, evidenziano l'appartenenza dei ceppi italiani al sottogruppo genetico 6B, all'interno del quale si colloca anche la maggior parte dei virus europei della stagione 2013/2014 (Figura 8).

Il sottogruppo 6B è caratterizzato dalle seguenti sostituzioni aminoacidiche in HA1 e in HA2: D97N, K163Q, A256T, S185T, S203T, and K283E e in HA1 E47K, S124N e E172K in HA2 rispetto al virus A/California/7/2009 (virus di riferimento: A/South Africa/3626/2013).

Tabella 4. A/H1N1pdm09: caratterizzazione antigenica (test HI) di virus influenzali isolati in Italia

Virus	Antisieri prodotti in furetto								
	A/Cal 7/09	A/Bay 69/09	A/Lviv N6/09	A/Chch 16/10	A/HK 3934/11	A/Astr 1/11	A/St. P 27/11	A/St. P 100/11	A/HK 5659/12
Gruppi genetici				4	3	5	6	7	6A
Data analisi 28/01/2014									
A/California/7/09 ^a U	1280	640	1280	320	320	320	320	320	320
A/Bayern/69/09	320	320	160	80	40	80	80	80	80
A/Lviv/N6/09	640	1280	640	160	80	160	320	160	320
A/Christchurch/16/10 U	1280	2560	2560	5120	2560	2560	2560	5120	5120
A/H K/3934/11	640	160	640	320	1280	640	640	1280	1280
A/Astrakhan/1/11	1280	640	1280	1280	2560	1280	2560	2560	2560
A/St. Peters/27/11 U	1280	1280	1280	640	1280	1280	2560	5120	2560
A/St. Peters/100/11 U	640	320	640	640	1280	640	1280	2560	1280
A/H K/5659/12	320	160	320	160	640	640	640	1280	1280
A/Pavia/155/2013	1280	640	1280	1280	2560	2560	2560	5120	5120

^aA/California/7/2009 (ceppo vaccinale 2010-2011, 2011-2012, 2012-2013, 2013-2014, 2014-2015)

U virus propagati in uova embrionate di pollo

Tabella 5. A/H1N1pdm09: caratterizzazione antigenica (test HI) di virus influenzali isolati in Italia

Virus	Antisieri prodotti in furetto									
	A/Cal 7/09	A/Bay 69/09	A/Lviv N6/09	A/Chc h 16/10	A/HK 3934/1 1	A/Ast r 1/11	A/St. P 27/11	A/St. P 100/11	A/HK 5659/1 2	A/SA 3626/1 3
Gruppi genetici				4	3	5	6	7	6A	6B
Data analisi 21/05/2014										
A/California/7/09 ^a U	1280	1280	1280	320	160	320	320	320	320	320
A/Bayern/69/09	160	320	160	80	40	80	80	80	80	80
A/Lviv/N6/09	640	1280	640	160	80	160	160	160	320	160
A/Christchurch/16/10 U	1280	1280	2560	5120	640	2560	1280	5120	2560	1280
A/Hong Kong/3934/11	320	160	320	320	640	640	640	1280	1280	640
A/Astrakhan/1/11	640	320	640	320	640	1280	640	1280	2560	640
A/St. Petersburg/27/11 U	1280	1280	2560	1280	1280	2560	2560	5120	2560	1280
A/St. Petersburg/100/11 U	1280	640	1280	1280	2560	2560	1280	5120	5120	1280
A/Hong Kong/5659/12	320	160	640	320	640	1280	640	2560	2560	640
A/SouthAfrica/3626/1 3 U	640	640	640	320	640	640	640	1280	1280	1280
A/Parma/9/2014	1280	640	1280	640	1280	2560	2560	5120	5120	1280
A/Parma/7/2014	640	320	640	640	1280	1280	1280	2560	2560	1280
A/Milano/24/2014	1280	640	1280	1280	2560	2560	2560	5120	5120	2560
A/Parma/15/2014	1280	640	1280	640	5120	2560	2560	5120	5120	1280
A/Firenze/5/2014	640	320	640	320	1280	1280	1280	2560	2560	640
A/Parma/23/2014	1280	640	1280	1280	2560	2560	2560	5120	2560	2560
A/Milano/69/2014	1280	640	1280	1280	2560	2560	1280	5120	2560	1280
A/Roma/9/2014	640	320	640	640	1280	1280	1280	2560	2560	640
A/Genova/04/2014	640	320	1280	640	1280	1280	1280	2560	2560	1280
A/Genova/6/2014	640	320	320	320	640	1280	640	1280	1280	640
A/Roma/10/2014	640	320	640	640	1280	1280	1280	2560	2560	1280
A/Genova/01/2014	640	320	640	640	1280	1280	1280	2560	2560	1280
A/Parma/31/2014	1280	640	1280	1280	2560	2560	1280	5120	2560	2560
A/Perugia/28/2014	1280	640	1280	1280	2560	1280	2560	5120	2560	1280
A/Milano/117/2014	1280	640	2560	2560	2560	2560	2560	5120	5120	2560
A/Milano/112/2014	640	640	1280	640	1280	1280	2560	5120	2560	1280
A/Perugia/38/2014	1280	640	2560	1280	2560	2560	2560	5120	2560	2560
A/Perugia/44/2014	640	640	1280	1280	1280	2560	2560	2560	5120	1280
A/Perugia/45/2014	640	320	640	640	1280	1280	640	1280	2560	1280

^aA/California/7/2009 (ceppo vaccinale 2010-2011, 2011-2012, 2012-2013, 2013-2014, 2014-2015)
U virus propagati in uova embrionate di pollo

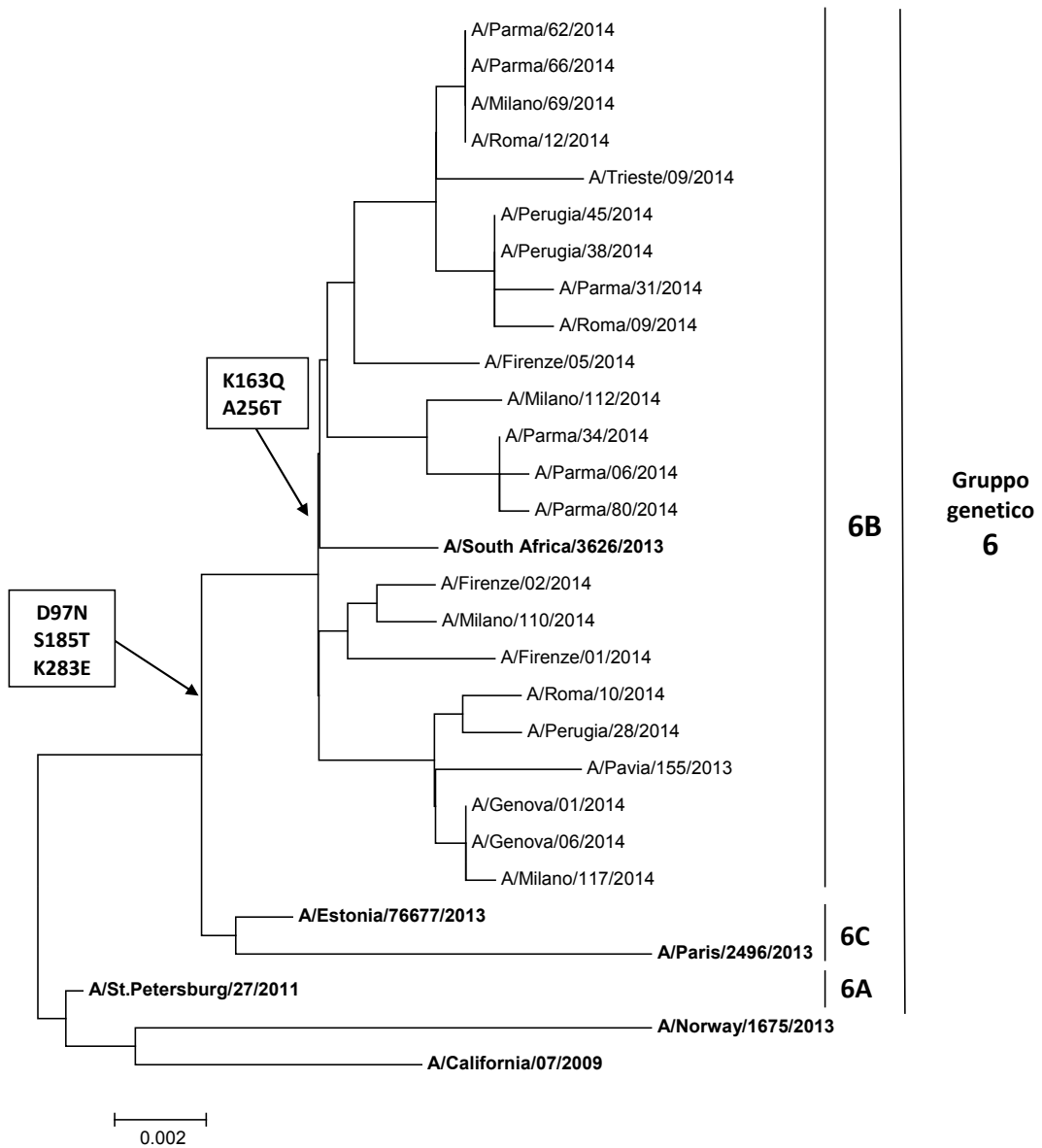


Figura 8. Relazioni filogenetiche relative al gene HA di recenti isolati umani A/H1N1pdm09 in Italia

Tipo B

La stagione 2013-2014 è stata caratterizzata da una limitata circolazione di virus di tipo B (3%). Tutti i virus identificati e/o isolati sono risultati appartenere al lineaggio B/Yamagata/16/88.

I ceppi caratterizzati antigenicamente hanno mostrato una maggiore reattività verso tutti gli antisieri prodotti contro virus di riferimento appartenenti al gruppo genetico 3 (B/Wisconsin/01/2010 e B/Novosibirsk/01/2012) rispetto a quella riscontrata nei confronti dei

virus appartenenti al gruppo genetico 2 (B/Massachusetts/02/2012, B/Estonia/55669/2011 e B/Hong Kong/3577/2012) (Tabella 6).

Tabella 6. Tipo B (lin.Yamagata): caratterizzazione antigenica (test HI) di virus influenzali isolati in Italia

Virus	Antisieri prodotti in furetto									
	B/Fl 4/06 ²	B/Fl 4/06	B/Bris 3/07	B/Wis 1/10	B/Stock 12/11	B/Estonia 55669/11 ¹	B/Novo 1/12	B/HK 3577/12	B/Mass 2/12	B/Mass 3/13
Gruppi genetici	1	1	2	3	3	2	3	2	2	2
Data analisi 29/01/2014										
B/Florida/4/06 ^a U	5120	1280	1280	320	640	160	80	320	1280	160
B/Brisbane/3/07 U	5120	640	640	320	640	160	80	320	640	160
B/Wisconsin/1/10 ^b U	640	160	160	160	320	<	40	40	320	40
B/Stockholm/12/11 U	2560	160	80	80	160	10	40	40	160	20
B/Estonia/55669/11	1280	160	80	80	80	640	80	640	160	640
B/Novosibirsk/1/12	2560	160	160	160	160	160	320	320	160	640
B/HongKong/3577/1 2	1280	80	80	80	80	640	80	640	160	320
B/Massach/02/12 ^c U	5120	640	1280	320	640	160	40	320	1280	160
B/Massach/02/12	2560	320	320	160	320	320	80	320	640	320
B/Firenze/1/2014	640	80	80	80	160	10	80	80	160	80
Data analisi 21/05/2014										
B/Florida/4/06 ^a U	5120	640	640	160	320	160	20	160	1280	320
B/Brisbane/3/07 U	5120	640	640	160	320	160	20	320	1280	320
B/Wisconsin/1/10 ^b U	640	160	160	80	160	<	20	40	160	40
B/Stockholm/12/11 U	1280	80	80	40	160	<	20	40	160	20
B/Estonia/55669/11	640	80	40	20	20	640	40	640	80	320
B/Novosibirsk/1/12	640	40	40	160	160	80	160	160	80	320
B/HongKong/3577/1 2	2560	80	80	80	160	320	80	640	160	320
B/Massach/02/12 ^c U	2560	640	640	80	320	80	20	160	640	160
B/Massach/02/12	5120	640	640	160	320	320	40	640	320	640
B/Firenze/2/2014	640	40	40	40	40	20	40	80	80	80
B/Sassari/9/2014	1280	80	80	160	160	80	160	160	80	320
B/Sassari/10/2014	2560	160	160	320	320	320	320	640	160	320

1. < = <10; 2. Antisiero prodotto in pecora; U virus propagati in uova embrionate di pollo

^a B/Florida/4/06 (ceppo vaccinale 2008-2009)

^b B/Wisconsin/1/10 (ceppo vaccinale 2012-2013)

^c B/Massachusetts/02/12 (ceppo vaccinale 2013-2014, 2014-2015)

L'albero filogenetico (Figura 9), relativo al gene HA, dimostra la correlazione della maggior parte dei virus italiani con i ceppi di riferimento B/Wisconsin/1/2010 e B/Stockholm/12/2011, appartenenti al gruppo genetico 3. Nell'albero sono riportate le sostituzioni aminoacidiche

riscontrate nei ceppi italiani analizzati. Il virus B/Firenze/02/2014, in particolare, presenta le mutazioni aggiuntive T37A, Q122K, T181K.

I virus di tipo B, identificati nel resto d'Europa, si distribuiscono in proporzioni simili sia nel gruppo genetico 2 (rappresentato dal ceppo vaccinale B/Massachusetts/02/2012) sia nel gruppo genetico 3.

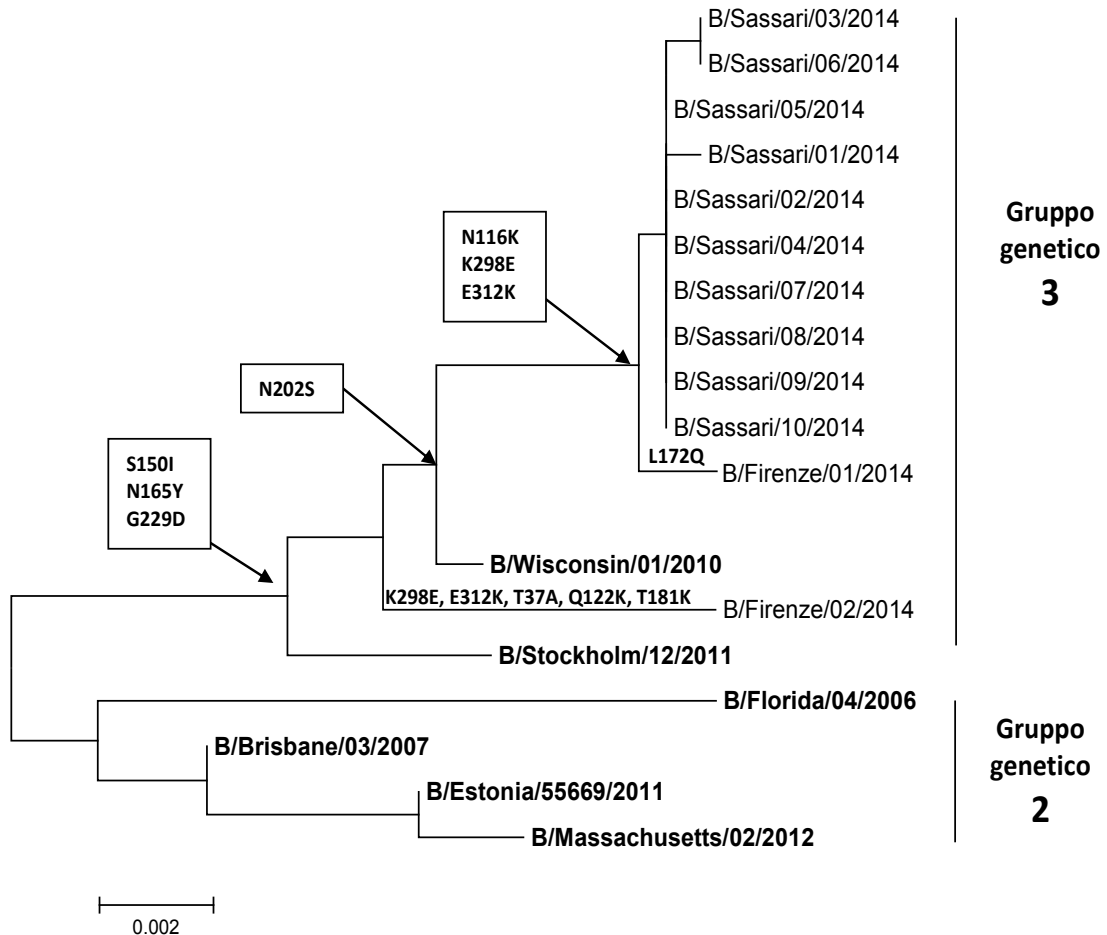


Figura 9. Relazioni filogenetiche relative al gene HA degli isolati umani B appartenenti al lineage B/Yamagata

Farmaco-resistenza dei virus influenzali

Come per le precedenti stagioni influenzali, anche durante quest'ultima stagione 2013-2014, il laboratorio del NIC ha effettuato il monitoraggio della suscettibilità virale ai farmaci anti-influenzali, con particolare riferimento agli inibitori della neuraminidasi (IN), oseltamivir/zanamivir.

In particolare, circa il 77% degli isolati virali pervenuti al NIC, nell'ambito delle attività di sorveglianza virologica, sono stati saggiati per valutarne la suscettibilità ad entrambi gli IN.

Le analisi sono state condotte su un totale di 130 ceppi virali isolati in Italia (78 A/H3N2, 41 A/H1N1pdm09 e 11 B) ed hanno rivelato una totale sensibilità dei virus testati sia allo zanamivir che all'oseltamivir.

I saggi fenotipici hanno, infatti, mostrato valori di IC₅₀ (concentrazione di farmaco inibente il 50% dell'attività della NA virale) tipici dei virus influenzali sensibili ad entrambi gli IN (Tabella 7). Le analisi genotipiche, inoltre, non hanno evidenziato nessuno dei marcatori molecolari noti per essere associati alla resistenza ai suddetti farmaci.

Tabella 7. Valori di IC50 osservati per i virus influenzali isolati in Italia – stagione 2013/2014.

Virus tipo/sottotipo	Saggio fenotipico - MUNANA			
	Oseltamivir		Zanamivir	
	media IC50 (nM)	% resistenza	media IC50 (nM)	% resistenza
B	30	0	4,4	0
A/H1N1pdm09	1,7	0	0,6	0
A/H3N2	0,5	0	0,4	0

Casi umani di influenza aviaria

In Europa, sono stati descritti anche in passato casi di sindromi respiratorie severe nell'uomo causate da ceppi influenzali aviari altamente patogeni del sottotipo H7 (39). In Italia, fin dall'anno 2000, si sono susseguite in diversi allevamenti avicoli, in particolare nelle regioni del Nord-Est, epidemie di influenza aviaria a bassa ed alta patogenicità dovute a questo sottotipo virale (40).

Più di recente, nel corso dell'anno 2013, un episodio epidemico di influenza aviaria da A/H7N7 ad alta patogenicità si è verificato in Emilia-Romagna. L'epidemia ha interessato diversi allevamenti avicoli localizzati in provincia di Ferrara ed ha portato all'abbattimento di circa un milione di capi di pollame. Tra i lavoratori professionalmente esposti all'infezione, sono stati identificati tre casi di malattia lieve (congiuntivite). I campioni clinici prelevati ai tre soggetti sono risultati positivi al virus H7 presso il laboratorio CRREM del Policlinico S. Orsola di Bologna, e confermati presso il laboratorio Nazionale di riferimento del NIC-ISS (12).

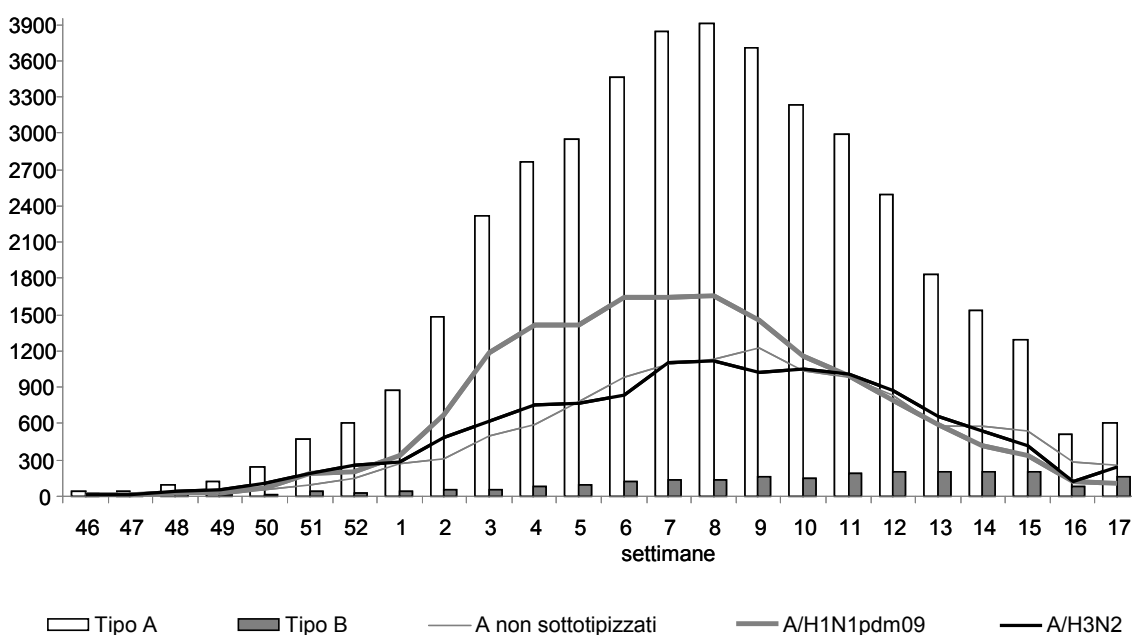
L'episodio epidemico di influenza aviaria da virus A/H7N7 ribadisce l'importanza di praticare la vaccinazione al personale che, per motivi di lavoro, è a contatto con animali che potrebbero costituire fonte di infezione da virus influenzali non umani.

CIRCOLAZIONE DEI VIRUS INFLUENZALI IN EUROPA E NEL MONDO

Isolamenti virali in Europa

I dati relativi all'attività di sorveglianza virologica condotta dai Centri Nazionali di tutta Europa, inclusi quelli raccolti dal NIC italiano, sono stati analizzati e discussi in un apposito *meeting* che si tiene annualmente, nel mese di febbraio, presso l'OMS di Ginevra e a cui partecipano tutti i Paesi inseriti nel Programma Mondiale dell'Influenza. Scopo di tale incontro è procedere, attraverso la valutazione delle caratteristiche dei virus isolati nelle diverse parti del mondo e l'identificazione delle varianti emergenti, all'aggiornamento del vaccino antinfluenzale utilizzabile nella stagione successiva.

In Europa nella stagione 2013-2014, è stata osservata una co-circolazione dei virus influenzali di tipo A e B. Tra i virus di tipo A, il sottotipo A/H1N1pdm09 è stato quello dominante in Europa. La distribuzione settimanale (dalla settimana 46^a alla 17^a) dei campioni positivi rilevati durante la stagione influenzale 2013-2014, per tipo, viene mostrata nella Figura 10.



**Figura 10. Numero dei campioni identificati e/o isolati in Europa
nella stagione 2013-2014**

Come mostrato nella Tabella 8, il 93,5% dei ceppi isolati e caratterizzati sono risultati di tipo A. In particolare, di questi, il 32,7% non è stato sottotipizzato, il 28,3% è risultato appartenere al sottotipo H3, il 39% al sottotipo H1N1pdm09. Il 6,5% dei ceppi isolati è risultato, invece, di tipo B.

Tabella 8. Virus influenzali isolati e/o identificati in Europa nella stagione 2013-2014 (dati aggiornati alla settimana 17/2014)

	Tipizzati		Non sottotipizzati		Sottotipizzati	
	n.	%	n.	%	n.	%
A	44.839	93,5	14.670	32,7	H3	12.686 28,3
					H1 pdm09	17.483 39
B			Non caratterizzati		Caratterizzati	
	n.	%	n.	%	n.	%
B	3.138	6,5	2.866	91,3	B/Victoria	20 7,4
					B/Yamagata	252 92,6

Fonte: Tessy (ECDC)

La Figura 11 mostra la distribuzione percentuale di tutti i virus isolati e/o identificati in Europa.

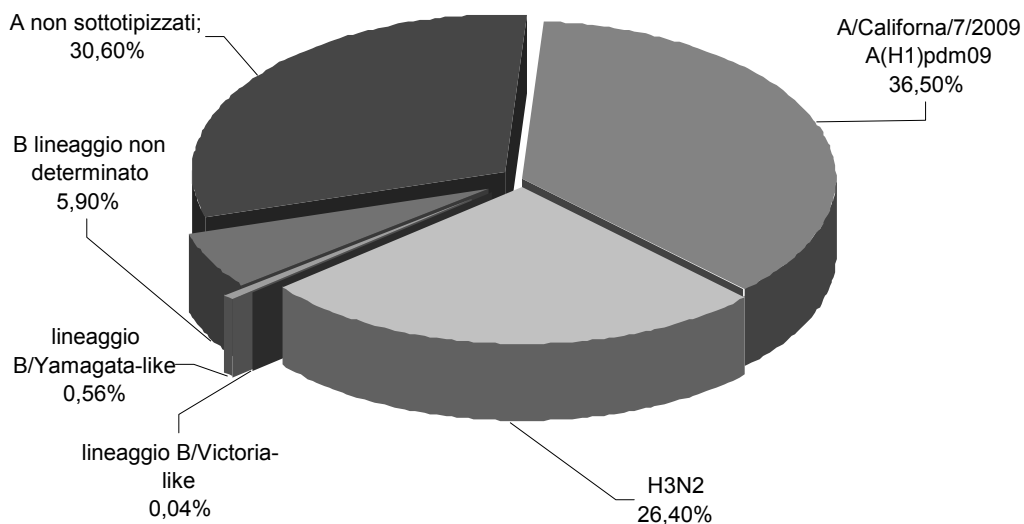


Figura 11. Distribuzione percentuale dei campioni identificati e/o isolati in Europa nella stagione 2013-2014

Isolamenti virali nel mondo

Durante la stagione 2013-2014, l'influenza ha circolato in tutti i continenti (Africa, America, Asia, Europa e Oceania). Nell'emisfero Nord, una discreta attività dei virus influenzali si è cominciata a registrare a partire dal mese di novembre 2013; in dicembre si è osservato un incremento in Nord America e in Asia.

La circolazione dei virus influenzali A/H1N1pdm09 è stata nettamente predominante in Asia settentrionale e Nord America, mentre in Europa tali virus hanno co-circolato con gli A/H3N2.

I virus di tipo B hanno co-circolato sin dal mese di novembre 2013, con minore frequenza rispetto ai virus di tipo A, ma la circolazione è aumentata alla fine della stagione in Asia, Nord America, Medio Oriente e Nord Africa (Figura 12).

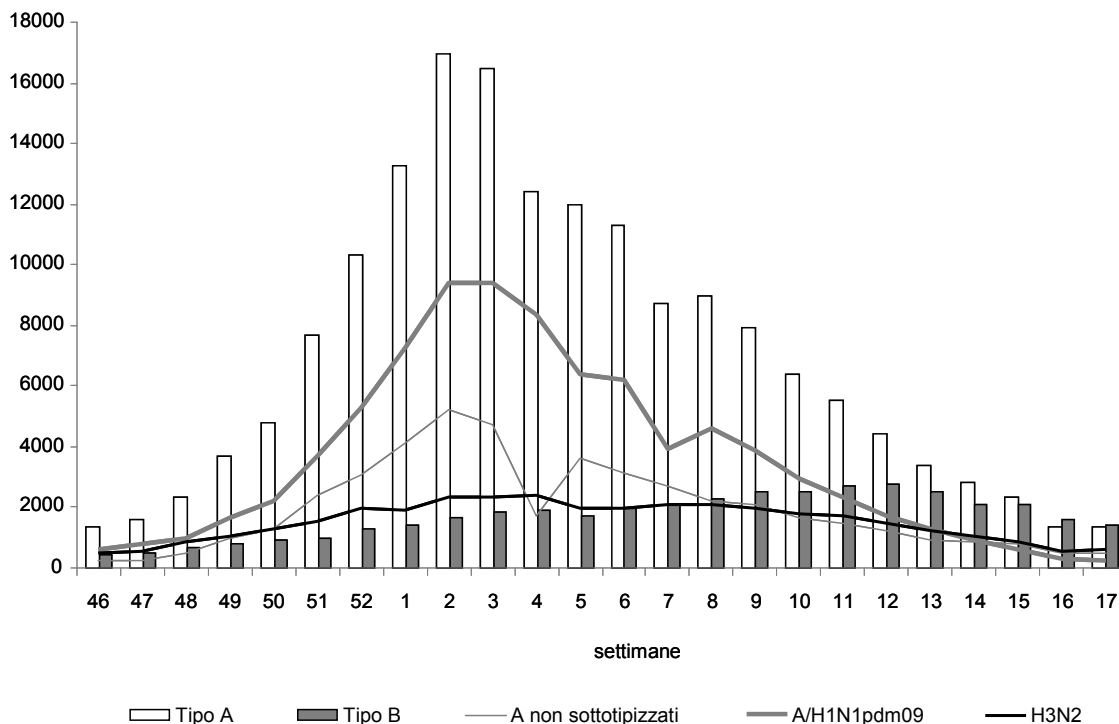


Figura 12. Numero dei campioni identificati e/o isolati nel mondo nella stagione 2013-2014

Sottotipo A/H3N2

Sulla base delle analisi antigeniche, effettuate con il test HI, molti dei ceppi influenzali circolanti appartenenti al sottotipo A/H3N2 hanno mostrato una minor reattività verso l'antisiero ottenuto con il ceppo vaccinale A/Texas/50/2012 propagato in uova (Tabella 9), ma hanno reagito bene con quello ottenuto dal ceppo A/Victoria/361/2011 (antigenicamente indistinguibile dall'A/Texas/50/2012) e dall'A/Texas/50/2012 propagato in cellula, mostrando pertanto che nei virus circolanti non si è verificato un sostanziale *drift* antigenico.

Tabella 9. Caratterizzazione antigenica mediante test HI di virus influenzali di sottotipo A/H3N2 isolati nel mondo

Virus	Antiseri prodotti in furetto									
	A/Perth 16/09	A/Stock 18/11	A/Iowa 19/10	A/Vic 361/11 T/C	A/Athens 112/12	A/Texas 50/12 U	A/Samara 73/13	A/Serbia NS- 210/13	A/HK 146/13	NIB- 85
Gruppi genetici	3A	6	3C.1	3B	3C.1	3C.3	3C.3	3C.2	3C.3	
A/Perth/16/09 U	640	160	160	160	320	160	160	80	160	160
A/Stockholm/18/11	80	640	160	320	640	160	1280	320	320	320
A/Iowa/19/10 U	320	1280	1280	1280	1280	640	1280	640	640	640
A/Victoria/361/11 U	160	320	320	640	1280	320	1280	320	320	640
A/Athens/112/12	80	320	160	640	1280	160	640	320	320	320
A/Texas/50/12 U	640	1280	1280	1280	2560	1280	1280	1280	1280	1280
A/Samara/73/13	80	320	160	640	640	320	1280	320	640	640
A/Serbia/NS-210/13 U	320	1280	1280	1280	2560	1280	2560	1280	1280	1280
A/HongKong/146/13 U	320	1280	1280	1280	1280	640	2560	640	2560	1280
NIB-85 U	640	2560	2560	2560	2560	2560	2560	2560	2560	2560
A/Tehran/63151/2013	<	80	40	160	320	80	320	160	160	160
A/Slovenia/2527/2013	<	160	80	320	640	160	640	320	160	160
A/Croatia/2561/2013	40	160	80	320	640	160	1280	320	320	320
A/Toulon/3038/2013	<	160	80	320	640	160	640	160	320	320
A/Norway/3290/2013	<	80	40	160	160	80	160	40	80	80
A/Kazakhstan/3370/2013	<	80	40	160	320	80	320	80	80	160
A/Belgium/13G1346/2013	<	160	80	320	640	80	640	160	160	160
A/Kazakhstan/3344/2013	<	80	40	160	320	80	320	80	160	160
A/Limoges/3105/2013	<	80	80	160	320	80	640	160	160	160
A/Mures/157328/2014	<	160	80	160	320	160	640	320	160	320
A/Maramures/157552/2014	<	80	40	160	320	80	320	80	80	80
A/Iasi/157785/2014	<	160	80	320	320	80	640	160	160	160
A/Moldova/7/2014	<	80	80	160	320	80	320	80	80	80

1.< = < 40; U virus propagati in uova embrionate di pollo

Sottotipo A/H1N1pdm09

Le analisi di caratterizzazione sierologica non hanno evidenziato l'emergenza di varianti antigeniche sufficientemente diverse dal ceppo vaccinale A/California/7/09 (Tabella 10).

Tabella 10. Caratterizzazione antigenica mediante test HI di virus influenzali di tipo A/H1N1pdm09 isolati nel mondo

Virus	Antiseri prodotti in furetto								
	A/Cal 7/09	A/Bayern 69/09	A/Lviv N6/09	A/Chch 16/10	A/HK 3934/11	A/Astrak 1/11	A/St. P 27/11	A/St. P 100/11	A/HK 5659/12
Gruppi genetici				4	3	5	6	7	6A
A/California/7/09 U	1280	640	1280	320	320	320	320	320	320
A/Bayern/69/09	320	320	160	80	40	80	80	80	80
A/Lviv/N6/09	640	1280	640	160	80	160	320	160	320
A/Christchurch/16/10 U	1280	2560	2560	5120	2560	2560	2560	5120	5120
A/HongKong/3934/11	640	160	640	320	1280	640	640	1280	1280
A/Astrakhan/1/11	1280	640	1280	1280	2560	1280	2560	2560	2560
A/St.Peters/27/11 U	1280	1280	1280	640	1280	1280	2560	5120	2560
A/St.Peters/100/11 U	640	320	640	640	1280	640	1280	2560	1280
A/HongKong/5659/12	320	160	320	160	640	640	640	1280	2560
A/Finland/380/2013	1280	640	1280	1280	2560	2560	2560	5120	2560
A/Toulouse/2730/13	1280	640	1280	1280	1280	1280	1280	2560	2560
A/Norway/3159/2013	640	640	640	1280	1280	1280	1280	2560	5120
A/Tehran/15381/2013	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	2560	2560
A/Paris/2444/2013	1280	320	1280	640	1280	1280	2560	2560	2560
A/Lyon/2954/13	1280	640	1280	1280	2560	1280	1280	2560	2560
A/Lisboa/148/2013	640	320	640	640	2560	1280	1280	2560	2560
A/England/666/2013	1280	320	640	1280	2560	1280	1280	2560	2560
A/Kazakhstan/3346/2013	640	320	640	640	1280	1280	1280	2560	1280
A/Desgenettes/3083/13	640	320	640	1280	1280	1280	1280	2560	2560
A/Ireland/14M02257/2014	640	320	640	640	1280	1280	1280	2560	2560
A/Iceland/4/2014	1280	640	1280	1280	5120	2560	2560	5120	2560

U virus propagati in uova embrionate di pollo

Tipo B

I virus influenzali di tipo B appartenenti ai due diversi lineaggi, Victoria- e Yamagata-like, hanno co-circolato durante la stagione influenzale 2013-2014, nei diversi Paesi. La maggior parte dei virus è risultata antigenicamente e geneticamente correlata al ceppo vaccinale B/Wisconsin/1/10, appartenente al lineaggio B/Yamagata (Tabella 11), mentre molti dei virus Victoria-like hanno mostrato una maggiore similarità con il virus di riferimento B/Brisbane/60/2008 (Tabella 12).

Tabella 11. Caratterizzazione antigenica mediante test HI di virus influenzali di tipo B (lineaggio Yamagata) isolati nel mondo

Virus	Antiseri prodotti in furetto									
	B/FI ³ 4/06	B/FI ¹ 4/06	B/Bris ² 3/07	B/Wis ² 1/10	B/Stock ² 12/11	B/Estonia ² 55669/11	B/Novo ² 1/12	B/HK ² 3577/12	B/Mass ² 2/12	B/Mass ² 3/13
Gruppi genetici	1	1	2	3	3	2	3	2	2	2
B/Florida/4/06 U	5120	1280	1280	320	640	160	80	320	1280	160
B/Brisbane/3/07 U	5120	640	640	320	640	160	80	320	640	160
B/Wisconsin/1/10 U	640	160	160	160	320	<	40	40	320	40
B/Stockholm/12/11 U	2560	160	80	80	160	10	40	40	160	20
B/Estonia/55669/11	1280	160	80	80	80	640	80	640	160	640
B/Novosibirsk/1/12	2560	160	160	160	160	160	320	320	160	640
B/Hong Kong/3577/12	1280	80	80	80	80	640	80	640	160	320
B/Massach/02/12 U	5120	640	1280	320	640	160	40	320	1280	160
B/Massach/02/12	2560	320	320	160	320	320	80	320	640	320
B/Tehran/63364/2013	2560	160	160	160	320	320	320	320	320	640
B/Diyarbakir/1200/2013	1280	80	40	20	160	40	160	160	160	160
B/Israel/2/2013	640	80	40	20	40	320	20	640	80	320
B/Norway/3200/2013	640	80	80	40	80	320	20	320	160	160
B/Stockholm/14/2013	1280	80	40	40	40	640	80	320	160	320
B/Lyon/3021/2013	640	80	40	80	80	20	80	40	160	40
B/Sarajevo/513/2013	640	160	80	80	160	40	80	80	160	80
B/Iceland/66/2013	1280	160	160	80	160	320	40	320	320	320
B/Isparta/4225/2013	1280	80	40	20	80	320	80	640	80	640
B/Trabzon/29/2014	1280	80	80	40	80	320	80	640	80	640

1.<=<40; 2.<=<10; 3. Antisero prodotto in pecora; U virus propagati in uova embrionate di pollo.

Tabella 12. Caratterizzazione antigenica mediante test HI di virus influenzali di tipo B (lineaggio Victoria) isolati nel mondo

Virus	Antiseri prodotti in furetto ¹									
	B/Bris 60/08 ²	B/Mal 2506/05	B/Bris 60/08	B/Paris 1762/08	B/HK 514/09	B/Odessa 3886/10	B/Malta 636714/11	B/J hb 396 4/12	B/For V2367 /12	B/Sth Aus 81/12
Gruppi genetici	1A		1A	1A	1B	1B	1A	1A	1A	1A
B/Malaysia/2506/04 U	2560	640	20	<	<	<	80	160	80	160
B/Brisbane/60/08 U	2560	80	320	40	80	80	320	320	320	1280
B/Paris/1762/08	2560	10	40	40	40	80	<	40	80	80
B/HongKong/514/09	2560	10	40	80	80	160	<	40	80	160
B/Odessa/3886/10	2560	40	80	40	80	160	80	160	160	640
B/Malta/636714/11 U	2560	80	320	40	80	80	320	320	320	640
B/Johannesburg/3964/12 U	5120	640	1280	80	160	160	640	1280	1280	1280
B/Formosa/V2367/12	1280	20	160	40	40	80	80	80	160	640
B/South Australia/81/12 U	5120	80	1280	40	80	80	320	320	320	1280
B/La Reunion/2500/2013	5120	20	160	80	80	160	40	<	80	160
B/Toulon/2950/2013	5120	10	160	40	80	80	40	40	80	160
B/Wisconsin/05/2013	1280	20	80	40	40	80	20	<	80	80
B/Florida/07/2013	2560	20	160	40	40	80	40	<	160	160
B/Ghana/FS-1118/2013	2560	10	80	40	40	80	40	<	40	40
B/Sachsen Anhalt/13/2013	2560	40	80	40	40	80	20	<	40	80
B/Norway/3235/2013	2560	10	80	40	40	80	40	20	40	80
B/Hong Kong/439/2013	2560	20	160	20	40	80	10	<	80	80

1. < = <10; 2. Antisero prodotto in pecora; U virus propagati in uova embrionate di pollo.

RACCOMANDAZIONI DELL'OMS PER LA COMPOSIZIONE DEL VACCINO ANTINFLUENZALE PER LA STAGIONE 2014/2015 (EMISFERO NORD)

Dal 17 al 19 febbraio 2014 si è svolto a Ginevra il meeting dell'OMS per l'aggiornamento della composizione del vaccino antinfluenzale per la stagione 2014/2015. Le raccomandazioni emanate sono il risultato dei dati di sorveglianza virologica forniti da tutti i Centri Nazionali di riferimento (NIC), afferenti alla rete internazionale dell'OMS, attualmente composta da 141 laboratori.

Composizione del vaccino per la stagione 2014-2015

L'insieme dei risultati ottenuti dall'analisi antigenica, molecolare e filogenetica ha suggerito un cambiamento nel vaccino antinfluenzale che, per l'emisfero settentrionale e per la stagione 2014-2015, avrà la seguente composizione:

FORMULAZIONE 2013-2014	Tipo/sottotipo	FORMULAZIONE 2014-2015
<i>Ceppo vaccinale</i>		<i>Ceppo vaccinale</i>
A/Texas/50/2012	A(H3N2)	A/Texas/50/2012
A/California/7/2009	A(H1N1)	A/California/7/2009
B/Massachusetts/2/2012 (lineaggio B/Yamagata)	B	B/Massachusetts/2/2012 (lineaggio B/Yamagata)

L'OMS raccomanda inoltre, nel caso dei vaccini quadrivalenti, l'inserimento del virus B/Brisbane/60/2008-like (lineaggio B/Victoria/2/87), in aggiunta ai tre sopramenzionati.

Il vaccino per la stagione antinfluenzale 2014/2015 rimane, pertanto, invariato rispetto alla stagione 2013/2014.

BIBLIOGRAFIA

1. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992;152-70.
2. Schmidt AC. Antiviral therapy for influenza: a clinical and economic comparative review. *Drugs* 2004;64(18):2031-46.
3. Ebell MH. Neuraminidase inhibitors for treatment of influenza. *Am Fam Physician* 2004;69(12):2824.
4. Oxford JS, Mann A, Lambkin R. A designer drug against influenza: the NA inhibitor oseltamivir (Tamiflu). *Expert Rev Anti Infect Ther* 2003;1(2):337-42.
5. O'Brien BJ, Goeree R, Blackhouse G, Smieja M, Loeb M. Oseltamivir for treatment of influenza in healthy adults: pooled trial evidence and cost-effectiveness model for Canada. *Value Health* 2003;6(2):116-25.
6. Noyola DE. Neuraminidase inhibitors in pediatric patients: potential place in influenza therapy. *Paediatr Drugs* 2003;5(2):125-31.
7. Stiver G. The treatment of influenza with antiviral drugs. *CMAJ* 2003;168(1):49-56.
8. Masuda T, Shibuya S, Arai M, Yoshida S, Tomozawa T, Ohno A, Yamashita M, Honda T. Synthesis and anti-influenza evaluation of orally active bicyclic ether derivatives related to zanamivir. *Bioorg Med Chem Lett* 2003;13(4):669-73.
9. Oxford JS, Novelli P, Sefton A, Lambkin R. New millennium antivirals against pandemic and epidemic influenza: the neuraminidase inhibitors. *Antivir Chem Chemother* 2002;13(4):205-17.
10. Langley JM, Faughnan ME. Prevention of influenza in the general population. *CMAJ* 2004;171(10):1213-22.
11. Kandel R, Hartshorn KL. Novel strategies for prevention and treatment of influenza. *Expert Opin Ther Targets* 2005;9(1):1-22.
12. Puzelli S, Rossini G, Facchini M, Vaccari G, Di Trani L, Di Martino A, Gaibani P, Vocale C, Cattoli G, Bennett M, McCauley JW, Rezza G, Moro ML, Rangoni R, Finarelli AC, Landini MP, Castrucci MR, Donatelli I; Influenza Task Force. Human infection with highly pathogenic A(H7N7) avian influenza virus, Italy, 2013. *Emerg Infect Dis* 2014;20(10):1745-9.
13. Bonfanti L, Monne I, Tamba M, Santucci U, Massi P, Patregnani T, et al. Highly pathogenic H7N7 avian influenza in Italy. *Vet Rec* 2014;174:382.
14. Hatakeyama S, Sakai-Tagawa, Kiso M, Goto H, Kawakami C, Mitamura K, Sugaya N, Suzuki Y, Kawaoka Y. Enhanced expression of an alpha 2,6-linked sialic acid on MDCK cells improves isolation of human influenza viruses and evaluation of their sensitivity to a neuraminidase inhibitor. *J Clin Microbiol* 2005;43(8):4139-46.
15. Reina J, Fernandez-Baca V, Blanco I, Munar M. Comparison Of Madin-darby canine kidney cells (MDCK) with a green monkey continuous cell line (VERO) and human lung embryonated cells (MRC-5) in the isolation of influenza A virus from nasopharyngeal aspirates by shell vial culture. *J Clin Microbiol* 1997;35(7):1900-1.
16. Meguro H, Bryant JD, Torrence AE, Wrigth PF. Canine Kidney Cell line for isolation of respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 1979;9:175-9.
17. Ziegler T, Hall H, Sanchez-Fauquier A, Gamble WC, Cox NJ. Type and subtype-specific detection of influenza viruses in clinical specimens by rapid culture assay. *J Clin Microbiol* 1995;33:318-21.
18. Murphy BR, Webster RG. Orthomyxoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al. (Ed.). *Fields virology*. Third edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996. p.1397-445.

19. Monto AS, Maasaab HF, Bryan ER. Relative efficacy of embryonated eggs and cell culture for isolation of contemporary influenza viruses. *J Clin Microbiol* 1981; 13(1):233-5.
20. de Jong JC, Palache AM, Beyer WE, Rimmelzwaan GF, Boon AC, Osterhaus AD. Haemagglutination-inhibiting antibody to influenza virus. *Dev Biol (Basel)* 2003;115:63-73.
21. WHO Global Influenza Surveillance Network. *Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza*. Geneva: World Health Organization; 2011. Disponibile all'indirizzo http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/manual_diagnosis_surveillance_influenza/en/index.html; ultima consultazione 6/12/12.
22. Kendal AP, Pereira MS (Ed.). *Concepts and procedures for laboratory-based influenza surveillance*. WHO Collaborating Centers for Reference and Research on Influenza, U.S. Department of Health and Human Services; 1982.
23. Daum LT, Canas LC, Schadler CA, Ujimori VA, Huff WB, Barnes WJ, Lohman KL. A rapid, single-step multiplex reverse transcription-PCR assay for the detection of human H1N1, H3N2, and B influenza viruses. *J Clin Virol* 2002;25(3):345-50.
24. Poddar SK, Espina R, Schnurr DP. Evaluation of a single-step multiplex RT-PCR for influenza virus type and subtype detection in respiratory samples. *J Clin Lab Anal* 2002;16(3):163-6.
25. Cisterna R, Meabe E. RT-PCR for the determination of the type of influenza virus circulating in the population. *Rev Esp Quimioter* 2000;13(3):286-90.
26. Magnard C, Valette M, Aymard M, Lina B. Comparisons of two nested PCR, cell culture and antigen detection for the diagnosis of upper respiratory tract infections due to influenza viruses. *J Med Virol* 1999;2:215-20.
27. Robert L, Baxter BD, Dominguez EA, Taber LH. Comparison of Reverse Transcription-PCR with tissue culture and other diagnostic assay for detection of type A influenza virus. *J Clin Microbiol* 1996;34:2604-6 (940 I).
28. Claas ECJ, Sprenger MJW, Kleter GEM, van Beek R, Quint WGV, Masurel N. Type specific identification of influenza viruses A, B and C by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 1992;39:1-13.
29. Yamada A, Imanishi J, Nakajima E, Nahkajima K, Nakajima S. Detection of influenza viruses in throat swab by using polymerase chain reaction. *Microbiol Immunol* 1991;35:259-65.
30. Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium* 1999;41:95-8.
31. Tippmann HF. Analysis for free: comparing programs for sequence analysis. *Brief Bioinform* 2004;5(1):82-7.
32. Takezaky N. Tie trees generated by distance methods of phylogenetic reconstruction. *Mol Biol Evol* 1998;15(6):727-37.
33. Tajima F. A simple graphic method for reconstructing phylogenetic trees from molecular data. *Mol Biol Evol* 1990;7(6):578-88.
34. Saitou M, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987;4:406-25.
35. Kilbourne ED. Molecular epidemiology-influenza as archetype. *Harvey Lect* 1979;73:225-58.
36. Puzelli S, Facchini M, Di Martino A, Fabiani C, Lackenby A, Zambon M, Donatelli I. Evaluation of the antiviral drug susceptibility of influenza viruses in Italy from 2004/05 to 2009/10 epidemics and from the recent 2009 pandemic. *Antiviral Res* 2011;90(3):205-12.
37. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Southern Hemisphere 2015; 22nd – 24th September 2014 (<http://www.nimr.mrc.ac.uk/documents/about/NIMR-VCM-report-Sep-14-web.pdf>)

38. Lin YP, Gregory V, Collins P, Kloess J, Wharton S, Cattle N, Lackenby A, Daniels R, Hay A. Neuraminidase receptor binding variants of human influenza A(H3N2) viruses resulting from substitution of aspartic acid 151 in the catalytic site: a role in virus attachment? *J Virol* 2010;84:6769-81
39. Koopmans M, Wilbrink B, Conyn M, Natrop G, van der Nat H, Vennema H, Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands. *Lancet* 2004;363:587-93.
40. Campitelli L, Mogavero E, De Marco MA, Delogu M, Puzelli S, Frezza F, et al. Interspecies transmission of an H7N3 influenza virus from wild birds to intensively reared domestic poultry in Italy. *Virol* 2004; 323: 24-36.

APPENDICE
Protocollo operativo (stagione 2013-2014)
del sistema di sorveglianza FLU-ISS:
estratto della parte virologica

Si riporta un estratto della parte virologica del Protocollo operativo del sistema di sorveglianza FLU-ISS per la stagione influenzale 2013-2014.

Per comodità si è mantenuta la numerazione dei paragrafi del documento originale e il numero relativo agli allegati.

2. SORVEGLIANZA VIROLOGICA

2.1 Razionale

L'epidemiologia dell'Influenza è fortemente condizionata dalla capacità dei virus influenzali di mutare rapidamente le caratteristiche antigeniche delle due proteine virali di superficie, l'emagglutinina (H) e la neuraminidasi (N).

Tali variazioni permettono al virus di superare le barriere anticorpali che si oppongono alla sua circolazione nella popolazione, vanificando l'immunità conseguente a pregressa infezione naturale e/o a vaccinazione.

Per questo motivo la composizione vaccinale va aggiornata periodicamente in relazione all'emergenza di nuove varianti virali. L'identificazione di queste varianti è resa possibile grazie all'attività di sorveglianza virologica che, attraverso le caratterizzazioni antigeniche e molecolari dei ceppi circolanti in periodo epidemico, permette la valutazione dell'omologia tra ceppi di campo e ceppi vaccinali.

Il sistema nazionale di sorveglianza virologica si inserisce nel Programma Mondiale di Sorveglianza dell'Influenza dell'OMS.

2.2 Obiettivi

Il sistema prevede di raggiungere le seguenti finalità:

1. Monitorare la circolazione dei diversi tipi e sottotipi di virus influenzali nelle diverse aree geografiche e nei diversi periodi della stagione epidemica;
2. Valutare l'omologia antigenica tra ceppi epidemici e ceppi vaccinali, attraverso analisi sierologiche e molecolari su campioni clinici prelevati dai pazienti con sintomatologia influenzale;
3. Fornire agli organismi di riferimento Internazionale (OMS, ECDC) dati relativi alle caratteristiche dei virus circolanti in Italia, contribuendo alla definizione della composizione vaccinale utilizzabile nella stagione successiva.

2.3 Metodi

2.3.1 Periodo di osservazione e raccolta dei campioni clinici

Il monitoraggio della circolazione dei virus influenzali sarà effettuato, nelle regioni provviste di laboratorio INFLUNET di riferimento (**Allegato 8**), a partire dalla **46^a settimana 2013** e si protrarrà per l'intero periodo di sorveglianza (**Allegato 5**).

Il medico effettuerà il prelievo da pazienti con sintomatologia influenzale (**Allegato 4**). Il prelievo deve essere eseguito durante la fase acuta della malattia (rialzo febbrile).

Per la raccolta, potrà essere utilizzato il Kit diagnostico "Virocult", seguendo semplici istruzioni (**Allegato 6**) e compilando, per ciascun campione prelevato, la "Scheda raccolta dati" (**Allegato 7**).

2.3.2 Analisi dei campioni e strutture laboratoristiche coinvolte

I campioni clinici raccolti saranno inviati ai laboratori regionali della Rete INFLUNET, che provvederanno all'identificazione e/o isolamento virale, utilizzando modalità e metodologie concordate con il NIC. Tutti i dati relativi ai campioni ricevuti saranno comunicati al NIC, secondo la modulistica già in vigore nella passata stagione, utilizzando il modulo on-line disponibile nel sito INFLUNET dell'ISS (<https://www.iss.it/site/fluvir/login.aspx>), ovvero compilando la scheda dati in formato Excel.

Il NIC provvederà ad eseguire ulteriori studi su un numero selezionato di ceppi isolati dai laboratori periferici, secondo modalità che verranno concordate direttamente con i singoli laboratori. In base ai risultati di queste indagini, parte degli isolati virali sarà inviato dal NIC al Centro di riferimento internazionale dell'OMS (*Medical Research Council*- MRC di Londra).

2.4 Flusso dei dati a livello nazionale ed internazionale

I risultati virologici nazionali saranno resi pubblici, unitamente a quelli epidemiologici, attraverso l'aggiornamento settimanale dei siti Internet del Ministero della Salute (<http://www.salute.gov.it/influenza/influenza.jsp>), dell'OMS (www.who.int/en/) e dell'ECDC (www.ecdc.europa.eu/en/).

I dati relativi alle caratteristiche antigeniche dei ceppi virali italiani saranno discussi a Ginevra (OMS), ai fini dell'aggiornamento della composizione del vaccino utilizzabile nella stagione 2014-2015.

Allegato 4

Definizione di caso di sindrome influenzale

Per garantire la massima confrontabilità dei risultati con quelli ottenuti da altri studi, si chiede ai medici partecipanti di segnalare i pazienti tra i loro assistiti che rispondono alla seguente definizione di caso:

"Sindrome influenzale"

affezione respiratoria acuta ad esordio brusco ed improvviso con febbre maggiore o uguale di 38°C accompagnata da almeno un sintomo tra i seguenti:

- cefalea, malessere generalizzato, sensazione di febbre (sudorazione, brividi), astenia; e da almeno uno dei seguenti sintomi respiratori:
- tosse, faringodinia, congestione nasale.

N.B.

Per la diagnosi clinica di influenza nel bambino è importante considerare quanto indicato per gli adulti tenendo conto che:

- 1) i bambini più piccoli non sono in grado di descrivere la sintomatologia sistemica che si evidenzia semplicemente con:
 - irritabilità
 - pianto
 - inappetenza
- 2) vomito e diarrea sono frequenti nel lattante che solo eccezionalmente presenta febbre;
- 3) occhi arrossati e congiuntivite sono caratteristici dei bambini in età prescolare, in caso di febbre elevata;
- 4) nel bambino di 1-5 anni è necessario considerare la grande frequenza di laringotracheite e bronchite associate a febbre elevata.

Allegato 5

Elenco delle settimane di sorveglianza

SETTIMANA	dal	al
2013-42	14/10/2013	20/10/2013
2013-43	21/10/2013	27/10/2013
2013-44	28/10/2013	03/11/2013
2013-45	04/11/2013	10/11/2013
2013-46	11/11/2013	17/11/2013
2013-47	18/11/2013	24/11/2013
2013-48	25/11/2013	01/12/2013
2013-49	02/12/2013	08/12/2013
2013-50	09/12/2013	15/12/2013
2013-51	16/12/2013	22/12/2013
2013-52	23/12/2013	29/12/2013
2014-01	30/12/2013	05/01/2014
2014-02	06/01/2014	12/01/2014
2014-03	13/01/2014	19/01/2014
2014-04	20/01/2014	26/01/2014
2014-05	27/01/2014	02/02/2014
2014-06	03/02/2014	09/02/2014
2014-07	10/02/2014	16/02/2014
2014-08	17/02/2014	23/02/2014
2014-09	24/02/2014	02/03/2014
2014-10	03/03/2014	09/03/2014
2014-11	10/03/2014	16/03/2014
2014-12	17/03/2014	23/03/2014
2014-13	24/03/2014	30/03/2014
2014-14	31/03/2014	06/04/2014
2014-15	07/04/2014	13/04/2014
2014-16	14/04/2014	20/04/2014
2014-17	21/04/2014	27/04/2014

Allegato 6

Protocollo operativo per la raccolta dei campioni clinici

Lo scopo delle indagini virologiche è quello di identificare e caratterizzare i virus influenzali circolanti nella popolazione. Le attività partiranno dalla 46^a settimana e si protrarranno per l'intero periodo dello studio (17^a settimana).

Il campione clinico (tampono naso-faringeo) dovrà essere prelevato durante la fase acuta dell'infezione (presenza di febbre elevata).

Se la raccolta del materiale clinico avverrà utilizzando i tamponi Virocult, il prelievo dovrà avvenire secondo le modalità di seguito riportate:

Prelievo del tampono faringeo

1. Rimuovere l'involucro del Virocult contenente il tampono e la provetta di trasporto.
2. Portare il tampono a contatto con la parte posteriore della gola e cercare di far aderire al tampono frammenti di essudato, esercitando un'adeguata pressione ed un lieve movimento di raschiamento.
3. Rimuovere il tappo della provetta ed inserirvi il tampono.
4. Richiudere la provetta e scrivere sull'etichetta posta su di essa i dati relativi al paziente.
5. Spremere delicatamente la base della provetta, affinché il tampono venga bagnato dal terreno.
6. Conservare a +4°C, fino al momento della consegna al corriere.

Importante:

La diagnosi virologica è fortemente condizionata dalla rapidità di invio del campione raccolto al Laboratorio. E' importante, dunque, che il medico dia tempestiva comunicazione (entro 24-48 ore) dell'avvenuto prelievo al Laboratorio di Riferimento Regionale.

Registrazione dati

Riportare nell'**Allegato 7** i dati relativi al paziente sottoposto a prelievo.

Spedizione

Per le modalità di spedizione, prendere accordi con il Laboratorio di Riferimento Regionale.

Allegato 7

Scheda raccolta dati sul paziente sottoposto a tampone per la conferma di laboratorio

COGNOME e NOME MEDICO (per esteso): INDIRIZZO:

CODICE REGIONALE: LABORATORIO DI RIFERIMENTO:

DATI PAZIENTI

Iniziali paziente	Sesso	Età (anni*)	Eventuali Patologie concomitanti che favoriscono le complicanze	Data inizio sintomi	Data prelievo	Vaccinato	Eventuale Terapia Antivirale
			<input type="checkbox"/> malattie croniche apparato respiratorio ¹ <input type="checkbox"/> malattie apparato cardio-circolatorio ² <input type="checkbox"/> immunosoppresso ³ <input type="checkbox"/> malattie metaboliche ⁴			<input type="checkbox"/> Sì <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir
			<input type="checkbox"/> malattie croniche apparato respiratorio ¹ <input type="checkbox"/> malattie apparato cardio-circolatorio ² <input type="checkbox"/> immunosoppresso ³ <input type="checkbox"/> malattie metaboliche ⁴			<input type="checkbox"/> Sì <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir
			<input type="checkbox"/> malattie croniche apparato respiratorio ¹ <input type="checkbox"/> malattie apparato cardio-circolatorio ² <input type="checkbox"/> immunosoppresso ³ <input type="checkbox"/> malattie metaboliche ⁴			<input type="checkbox"/> Sì <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir
			<input type="checkbox"/> malattie croniche apparato respiratorio ¹ <input type="checkbox"/> malattie apparato cardio-circolatorio ² <input type="checkbox"/> immunosoppresso ³ <input type="checkbox"/> malattie metaboliche ⁴			<input type="checkbox"/> Sì <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir
			<input type="checkbox"/> malattie croniche apparato respiratorio ¹ <input type="checkbox"/> malattie apparato cardio-circolatorio ² <input type="checkbox"/> immunosoppresso ³ <input type="checkbox"/> malattie metaboliche ⁴			<input type="checkbox"/> Sì <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir

* Se si tratta di bambini al di sotto dell'anno di età indicare il numero di mesi seguito dalla lettera M;

1: inclusa l'asma grave, la displasia broncopulmonare, la fibrosi cistica e la broncopatia cronico ostruttiva- BPCO;

2: comprese le cardiopatie congenite e acquisite;

3: malattie congenite o acquisite che comportino carente produzione di anticorpi, immunosoppressione indotta da farmaci o da HIV;

4: diabete mellito, obesi con BMI >30 e gravi patologie concomitanti

Allegato 8

Laboratori periferici afferenti alla rete Influnet e accreditati dall'ISS per la sorveglianza sentinella in periodo interpandemico*

REGIONE	LABORATORI ACCREDITATI
ALTO ADIGE	• AS Alto Adige, Laboratorio Aziendale di Microbiologia e Virologia/Comprensorio sanitario di Bolzano, Via Amba Alagi, 5 – 39100 Bolzano (<i>E. Pagani</i>)
PIEMONTE	• Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedale Amedeo di Savoia, Corso Svizzera, 164 – 10149 Torino (<i>V. Ghisetti</i>)
LOMBARDIA	• Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Università degli Studi di Milano, Via Pascal, 36 - 20133 Milano (<i>A. Zanetti</i>) • Virologia molecolare, Struttura complessa virologia/ microbiologia, Fondazione IRCCS Policlinico "San Matteo", Via Taramelli, 5 - 27100 Pavia (<i>F. Baldanti</i>)
VENETO	• Laboratorio di Virologia, Dipartimento di istologia, microbiologia e di biotecnologie mediche, Università degli Studi di Padova, Via Gabelli, 63 - 35121 Padova (<i>G. Palù</i>)
FRIULI VENEZIA GIULIA	• U.C.O. Igiene e Medicina Preventiva, Dipartimento Universitario Clinico di Scienze mediche , chirurgiche e della salute, Università degli Studi di Trieste, Via dell' Istria, 65/1 – 34137 Trieste (<i>P. D'Agaro</i>)
LIGURIA	• Laboratorio UO Igiene, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Genova, Via Pastore, 1 – 16126 Genova (<i>F. Ansaldi</i>)
EMILIA ROMAGNA	• Dipartimento di Sanità Pubblica, Istituto di igiene, Università degli Studi di Parma, Via Volturmo, 39 - 43125 Parma (<i>M.L. Tanzi</i>)
TOSCANA	• Dipartimento di Sanità Pubblica, Laboratorio di Virologia, Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni, 48 – 50134 Firenze (<i>A. Azzi</i>)
UMBRIA	• Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione Microbiologia, Piazzale Gambuli S. Andrea delle Fratte - 06132 Perugia (<i>B. Camilloni</i>)
LAZIO	• Servizio di Analisi II, Istituto di Microbiologia, Università Cattolica S. Cuore, Facoltà di Medicina e Chirurgia "A. Gemelli", Largo Agostino Gemelli, 8 – 00168 Roma (<i>M. Sanguinetti</i>)
PUGLIA	• UOC Policlinico di Bari DIMO - Dipartimento di Scienze Biomediche ed Oncologia Umana, Sezione di igiene e medicina preventiva, Policlinico - P.zza G. Cesare, 11- 70124 Bari (<i>M. Chironna</i>)
SARDEGNA	• Dipartimento Scienze Biomediche, Sez. Microbiologia Sperimentale e Clinica, Università degli Studi di Sassari, Viale S. Pietro, 43/B - 07100 Sassari (<i>C. Serra</i>)
SICILIA	• Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute, sez. Igiene "G. D'Alessandro", Università di Palermo, Via del Vespro, 133 - 90127 Palermo (<i>F. Vitale</i>)

* Nell'elenco non sono riportati i laboratori della rete Influnet che non partecipano al monitoraggio virologico in periodo interpandemico

Centro di Riferimento Nazionale (NIC) per l'OMS

Il NIC (presso il Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate dell'Istituto Superiore di Sanità) fa parte, su designazione del Ministero della Salute, della Rete mondiale dei laboratori coordinati dall'OMS, per lo svolgimento delle attività di sorveglianza del *Global Influenza Programme* (GIP).

Tutti i laboratori del Network OMS vengono regolarmente validati, attraverso lo svolgimento di *External Quality Assessment Projects* (WHO-EQAP). Essi sono notificati e registrati presso il Centro Europeo di Controllo delle Malattie (ECDC) di Stoccolma.

Responsabile: I. Donatelli

Gruppo di lavoro: S. Puzelli, M.R. Castrucci, A. Di Martino, M. Facchini, A. Palmieri, L. Calzoletti, C. Fabiani, M. Meola, T. Grisetti.

*Serie Rapporti ISTISAN
numero di luglio 2015, 3° Suppl.*

*Stampato in proprio
Settore Attività Editoriali – Istituto Superiore di Sanità*

Roma, agosto 2015