

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

CENTRO NAZIONALE OMS PER L'INFLUENZA
Sorveglianza virologica dell'influenza
in Italia (stagione 2007-2008)

A cura di
Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Angela Di Martino,
Maria Interisano, Concetta Fabiani, Marzia Facchini,
Maria Laura Pasqua e Tiziana Grisetti

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

08/22

Istituto Superiore di Sanità

Centro Nazionale OMS per l'Influenza. Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia (stagione 2007-2008).

A cura di Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Angela Di Martino, Maria Interisano, Concetta Fabiani, Marzia Facchini, Maria Laura Pasqua e Tiziana Grisetti
2008, v. 33 p. Rapporti ISTISAN 08/22

L'influenza è una malattia respiratoria acuta, diffusa su scala mondiale, che costituisce un serio problema sia in termini di mortalità che di morbilità. La vaccinazione rimane l'arma più efficace per prevenire e combattere l'influenza. Il sistema di sorveglianza dell'influenza si avvale di una rete costituita da 110 Centri Nazionali, che collaborano con i 4 Centri di Riferimento OMS (Atlanta, Londra, Melbourne, Tokyo). Il continuo monitoraggio della circolazione dei virus influenzali in tutte le Regioni del mondo permette di identificare le varianti virali emergenti e di valutare, dal punto di vista sia antigenico che molecolare, il grado di variazione acquisita dai virus influenzali circolanti nella popolazione, con l'obiettivo principale di aggiornare l'annuale composizione vaccinale. Nel seguente rapporto sono riassunti i dati della sorveglianza virologica per la stagione influenzale 2007-2008.

Parole chiave: Virus influenzale, Vaccinazione, Italia, OMS

Istituto Superiore di Sanità

National Influenza WHO Centre. Virological influenza surveillance in Italy (2007-2008 season).

Edited by Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Angela Di Martino, Maria Interisano, Concetta Fabiani, Marzia Facchini, Maria Laura Pasqua and Tiziana Grisetti
2008, v. 33 p. Rapporti ISTISAN 08/22 (in Italian)

Influenza is an acute respiratory illness. It occurs all over the world and causes considerable morbidity and mortality every year. Vaccination is one of the main influenza prevention methods. The influenza network surveillance consists of 110 National Influenza Centres collaborating with the WHO Reference Centres for Influenza of Atlanta, London, Melbourne and Tokyo. This network helps to monitor influenza activity all over the world, it allows the timely identification of variant emerging in the interpandemic period 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 influenza 2007-2008 season data.

Key words: Influenza virus, Vaccination, Italy, WHO

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

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Donatelli I, Puzelli S, Di Martino A, Interisano M, Fabiani C, Facchini M, Pasqua ML, Grisetti T (Ed.). *Centro Nazionale OMS per l'Influenza. Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia (stagione 2007-2008)*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2008. (Rapporti ISTISAN 08/22).

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2008

La sorveglianza virologica dell'influenza si è avvalsa della collaborazione di:

a) Laboratori periferici (Rete Influnet)

Università di Genova

Dipartimento di Scienze della Salute: *Pietro Crovari, Filippo Ansaldo*

Università di Milano

Dipartimento di Sanità Pubblica Microbiologia Virologia, Sezione di Virologia applicata alla Sanità Pubblica: *Fabrizio Pregliasco*

Università di Trieste

UCO Igiene e Medicina Preventiva, Dipartimento Scienze di Medicina Pubblica: *Cesare Campello, Pierlanfranco D'Agaro*

Università di Padova

Dipartimento Microbiologia, Virologia e Biotecnologie Mediche: *Giorgio Palù*

Università di Parma

Dipartimento di Sanità Pubblica - Sezione di Igiene: *Marialuisa Tanzi*

Università di Firenze

Dipartimento di Sanità Pubblica: *Alberta Azzi*

Università di Siena

Dipartimento di Fisiopatologia, Medicina Sperimentale e Sanità Pubblica: *Emanuele Montomoli*

Università di Perugia

Dipartimento Specialità Medico Chirurgiche e Sanità Pubblica, Laboratorio di Virologia: *A. Maria Iorio*

Università Cattolica "S. Cuore" di Roma

Istituto di Microbiologia: *Paola Cattani*

Università di Napoli

Dipartimento di Scienze Mediche Preventive, Sezione di Igiene: *Maria Triassi, Gabriella Ribera*

Università di Lecce

Dipartimento di Scienze e Tecnologia Biologiche ed Ambientali (DiSTeBA): *Antonella De Donno, Manuela Quattrocchi*

Università di Sassari

Dipartimento di Scienze Biomediche, Sezione di Microbiologia Sperimentale e Clinica: *Antonina Dolei*

Università di Palermo

Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Sezione di Igiene: *Francesco Vitale*

Azienda Sanitaria ASL Centro Sud Bolzano, Laboratorio Interaziendale di Microbiologia e Virologia: *Clara Larcher*

Ospedale Amedeo di Savoia, Torino: *Pietro Giorgio Pistono*

Oltre ai sopraelencati 15 laboratori della Rete Influnet hanno anche collaborato i seguenti laboratori:

Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Servizio di Virologia, Pavia

Giuseppe Gerna, Fausto Baldanti

AOU Policlinico, Laboratorio di Biologia Molecolare, UOC Igiene, Bari

Michele Quarto, Cinzia Germinario, Maria Chironna

INMI "L. Spallanzani" IRCCS, UOC Laboratorio di Virologia, Roma

Maria Capobianchi

La regione Lazio è stata monitorata oltre che dai Laboratori periferici regionali, anche presso l'Istituto Superiore di Sanità (Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, MIPI) da:

Centro Nazionale Influenza (*National Influenza Centre, NIC*)
Reparto di Epidemiologia
Giovanni Rezza, Catia Valdarchi, Francesca Farchi

L'attività dei Laboratori sopraelencati rientra nell'ambito del seguente programma:

- Accordo di collaborazione tra Ministero della Salute e Istituto Superiore di Sanità: "Potenziamento della rete di sorveglianza virologica dell'influenza umana e di alcuni laboratori del network per l'implementazione della diagnostica delle polmoniti virali".

Il coordinamento e il ritorno delle informazioni sull'andamento nazionale dell'influenza sono stati curati da:

Ministero della Salute, Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria
Ufficio V Malattie Infettive e Profilassi Internazionale
Maria Grazia Pompa

Hanno collaborato inoltre Marina Sbattella del Servizio Cucina e Armando Cesolini del Servizio Stabulario del Dipartimento MIPI.

b) Medici sentinella

Medici di medicina generale e pediatri di libera scelta che hanno partecipato alla sorveglianza virologica dell'influenza, suddivisi per regione di appartenenza.

Campania

Alaia Maria, Amoroso Riccardo, Arigliani Raffaele, Aruta Maria Grazia, Auricchio Giuseppe, Boncompagni Salvatore, Bove Filippo, Bovenzi Arcangelo, Bufano Carmine, Buono Giuseppe, Buonuomo Giuseppe, Califano Gian Carlo, Carpentieri Rodolfo, Carpino Antonio, Carrannante Maria, Carrano Paolo, Caruso Vincenzo, Casani Antonella, Caso Corrado, Castaldo Gennaro, Castaldo Luigi, Causa Pasquale, Cerracchio Alessandro, Ciampa Paola M. Cinzia, Ciccarelli Mario, Cioffi Luigi, Citro Amodio, Citro Amodio, Coppola Giuseppe, Crocamo Arnaldo, D'alvano Luigi, De Fazio Edoardo, De Fazio Edoardo, De Giovanni Maria, De Pascale Augusto, De Pascale Augusto, De Prosperis Antonio, Di Feo Antonio, Di Girolamo Pietro, Di Lorenzo Raffaele, Di Tota Gennaro, Ercolino Luigi, Esposito Tommaso, Fariello Ciro, Fasano Antonietta, Fasolino Antonio, Fatigati Domenico, Ferraro Saverio, Fischetti Antonio, Fusco Antonio, Gallo Patrizia, Gargiulo Antonio, Genovese Lucio, Gianpaolo Carlo, Graziano Liberatore, Graziano Liberatore, Grimaldi Vincenzo, Iannone Agnese, Imperatore Antonio, Izzo Nicola Antonio, Landi Vincenzo, Lardo Gerardo, Lavorgna Filomeno, Losco Raffaele, Luciani Vincenzo, Maione Biancamaria, Marignano Assunta Edna, Martini Domenico Antonio, Mastrolia Giulio, Meffettone Gennaro, Meola Pietro, Montefusco Alfredo, Morcaldi Luigi, Morcaldi Luigi, Mosca Luigi, Napoletano Antonio, Napolitano Antonio, Nardi Andrea, Nardi Andrea, Niola Dario, Occhi Negro Aurelio, Occhinegro Aurelio, Opallo Antonio, Paludi Giuseppe, Panarese Francesco Saverio, Pascarella Giuseppe, Peluso Angelo, Pergamo Basilio, Pergamo Basilio, Petroccia Mariolina, Pezzullo Vincenzo, Pulcino Lupo Giacomo, Rea Luciana, Renna Alessandro, Renzi Ada, Rizzo Maria, Romano Giulio, Romano Salvatore, Rosa Federico, Rubano Carmelo, Rubano Carmelo, Ruggiero Giuseppe, Ruggiero Giuseppe, Santoro Luigi, Santoro Luigi, Sassi Roberto, Sasso Sara, Savignano Lucia Carla, Scilla Alfonso, Scimia Giuseppe, Scotto D'antuono Antonio, Scovotto Maria Antonietta, Sellitto Francesco, Sellitto Raffaele, Servodidio Carmela, Simeone Domenico, Simoniello Rosangela, Sorice Nunziatina, Soverina Patrizio, Stellato Rita, Tommasielli Giuseppina, Turrà Fulvio, Valle Fuoco Gianna Maria, Vecchio Enrico, Vecchio Enrico, Vicinanza Pio, Viscusi Bruno, Vitello Giuseppe, Vitiello Giuseppe, Volpe Augusto, Volpe Giuseppina.

Emilia Romagna

Acerbi Maria Angela, Azzolini Luigi, Balducci Alessandra, Bassi Beatrice, Bettuzzi Davide, Boschini Cesare, Cadoni Fulvio, Caroli Eugenio, Castaldini Enzo, Centenaro Giovanni Maria, Contini Maurizio, Dall'Agata Liviana, Frisoni Ilaria, Galloni Claudio, Gregori Giuseppe, Guerra Andrea, Masini Milena, Mazza Tullio Valerio, Mazzetti Gaito Piero, Miserotti Giuseppe, Monari Gian Luigi, Montanari Giuseppe, Montori Claudio, Mussati Pier Paolo, Paltrinieri Amelia, Patierno Marco, Reboli Pietro, Sacchetti Roberto, Salera Marcello, Scagliarini Alessandra, Simoni Marco, Tancredi Massimo, Treve Maddalena, Turchetti Maria Elisabetta, Valpiani Armando, Venturi Valentina, Vescovi Maurizio, Viaroli Mario, Vicini Maurizio, Zingoni Stefano.

Lazio

Amatucci Stanislao, Azzolini Micheline, Bernardini Betti Luca, Bevilacqua Stefano, Borelli Massimo, Bosco Roberto, Candiloro Enrico, Carnevale Flora Rita, Caroselli, Antonio, Ciracò Maria del Carmen, Cirelli A. Vittoria, Colistra Claudio, Costantini Anna Maria, D'Annibale Francesco, Donato Giuseppe, D'Uva Mario, Finzi Massimo, Galieti Luigi, Mangullo Angelo, Marchionne Maurizio, Mareto Giancarlo, Milani Luigi, Morano Donatella, Moricone Antonio Luigi, Nobile Antonio, Nuccetelli Danilo, Pace Marina, Palma Fabrizio, Parrotta Rosa Maria, Piazzai Loredana, Pietricola Elio, Procopio Caterina, Ranucci Alessandro Alberto, Reali Laura, Scholl Maurizio, Scolamiero Liliana, Scorletti Antonio, Sisti Tiziana, Valente Michele, Verginelli Antonio, Vignolini Sandro.

Provincia autonoma di Bolzano

Clementi Walther, Hopfgartner Albert, Iseppi Rosanna, Mair Ewald, Niederstätter Walter, Piccoliori Giuliano, Riva Roberto.

Sardegna

Argiolas Lino, Atzeni Luigi, Boccone Nicolfranco, Caliendo Rosa Maria, Cera Melania, Cuccu Angelo, Lisci Luigi, Lixia Giuseppe, Mannironi D. Alberto, Masala Paola, Monni Piero Domenico, Pais Antonio, Petti Stefano, Pinna Antonio, Senes Antonio, Serra Anna Rita, Vardeu M. Francesca, Zara Pierangelo.

Toscana

Bellotti Anna, Bussotti Alessandro, Ermini Anna Maria, Guarducci Massimo, Miniati Stefano, Pattarino Eugenio, Pescitelli Alessandro, Rafanelli Paola, Vitali Rosati Giovanni.

INDICE

Introduzione	1
Dati del Centro Nazionale Influenza in Italia	3
Sorveglianza virologica.....	3
Organizzazione e strutture coinvolte	3
Metodi impiegati nella diagnosi virologica.....	4
Analisi di sequenziamento nucleotidico e filogenesi.....	4
Metodo impiegato per lo studio della sensibilità degli isolati virali agli inibitori della neuraminidasi	4
Risultati delle indagini virologiche in Italia	5
Gruppi di età	8
Caratterizzazione sierologica e molecolare degli isolati virali.....	9
Sottotipo A/H1N1	9
Sottotipo A/H3N2	11
Tipo B.....	12
Isolamento di virus influenzali A/H1N1 resistenti all'oseltamivir.....	13
Circolazione dei virus influenzali in Europa e nel mondo	15
Isolamenti virali in Europa.....	15
Isolamenti virali nel mondo	17
Sottotipo A/H3N2	17
Sottotipo A/H1N1	18
Tipo B.....	19
Raccomandazioni dell'OMS per la vaccinazione antinfluenzale 2008-2009	20
Composizione del vaccino per la stagione 2008-2009.....	20
Bibliografia	21
Appendice	
Protocollo operativo (stagione 2007-2008) del sistema di sorveglianza FLU-ISS: estratto della parte virologica.....	25

INTRODUZIONE

L'influenza è una malattia infettiva causata da virus ad RNA appartenenti alla famiglia degli Orthomyxoviridae. È caratterizzata da sintomi sistemici quali febbre elevata, malessere generale, cefalea e dolori osteomuscolari e respiratori, comuni a molte altre malattie virali. L'esordio è generalmente brusco e improvviso e la febbre dura 3-4 giorni.

L'influenza rappresenta una delle malattie infettive più diffuse su scala mondiale costituendo un serio problema sia in termini di mortalità che di morbilità.

La trasmissione avviene per via aerea, il virus si riproduce in 4-6 ore in alcune cellule del tratto respiratorio (faringe, laringe, trachea, bronchi), dopo questo breve periodo, l'infezione si diffonde più ampiamente durante il successivo periodo di "incubazione", che può essere compreso tra 18 e 72 ore in relazione alla quantità di virus infettante e alla capacità di difesa dell'organismo (reazioni anticorpali del sistema immunitario).

L'influenza si distingue dalle altre infezioni respiratorie acute per il suo andamento tipicamente stagionale. I virus influenzali A e B, responsabili di malattia nell'uomo, vanno incontro a frequenti e permanenti cambiamenti del loro assetto genetico, determinando la comparsa di nuove varianti virali dal punto di vista antigenico verso le quali la maggior parte della popolazione risulta immunologicamente non protetta. I cambiamenti antigenici cui vanno incontro i virus influenzali possono essere di maggiore entità (*shift* antigenico) o di minore entità (*drift* antigenico), quest'ultimo molto frequente, porta costantemente alla comparsa di ceppi responsabili delle epidemie influenzali che si susseguono di anno in anno.

Essendo l'influenza una malattia di origine virale, l'uso degli antibiotici risulta inefficace nel combatterla (1-18); ma tali farmaci sono tuttavia necessari se si presentano 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.

Vaccinarsi resta in ogni caso il modo migliore, in termini di costo-efficacia e costo-beneficio, per prevenire e combattere l'influenza. La vaccinazione è particolarmente raccomandata nei soggetti di ogni età con malattie respiratorie, cardiache o metaboliche e negli anziani con più di 65 anni (19).

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 4 Centri Internazionali di riferimento (Atlanta, Londra, Melbourne, Tokyo) che collaborano con 110 Centri Nazionali che costituiscono la rete del sistema di sorveglianza dell'influenza. L'OMS ha predisposto, fin dal 1948, questa rete di Centri di osservazione e di rilevamento per l'influenza, il cui obiettivo principale è 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 per la stagione 2007-2008 è stata costituita dal Ministero della Salute, dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) con il Centro Nazionale Influenza (*National Influenza Centre*, NIC), dal Centro Interuniversitario di Ricerca sull'Influenza (CIRI), 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 ed a verificare l'efficacia della campagna vaccinale. Anche quest'anno il NIC si è

avvalso della collaborazione di 15 Laboratori periferici sia universitari che ospedalieri (Rete Influnet). Nel 2007 è stato avviato un Progetto congiunto Ministero Salute – CCM / ISS – NIC dal titolo “Costruzione ed implementazione di una rete di laboratori per la sorveglianza virologica dell’influenza, con particolare riferimento alla diagnostica dei virus influenzali con potenziale pandemico”. Tale Progetto rientra in quanto previsto nel Piano Nazionale di Preparazione e Risposta ad una Pandemia Influenzale (PNP) ed ha tra gli obiettivi principali quello di ampliare la copertura geografica della rete di sorveglianza già esistente, mediante l’individuazione e l’arruolamento di nuovi laboratori.

Sono di seguito riportati i principali risultati della attività di sorveglianza virologica della stagione 2007-2008 e le conseguenti raccomandazioni relative alla nuova composizione vaccinale per la stagione 2008-2009 nell’emisfero settentrionale.

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 2007 (12-18 novembre) e la 17^a settimana del 2008 (21-27 aprile). Questa attività viene svolta nell'ambito del sistema integrato di sorveglianza virologica e clinico-epidemiologica, attivo in Italia dal 1997. Le modalità di svolgimento della sorveglianza sancite dalla Conferenza Stato-Regioni (seduta del 28 settembre 2000) vengono aggiornate annualmente. 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 e coordinato dall'ISS (FLU-ISS).

Sorveglianza virologica

Organizzazione e strutture coinvolte

Anche quest'anno 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 Influnet che collabora con l'ISS e partecipa alla sorveglianza virologica dell'influenza è così composta:

1. Università di Genova: Dipartimento di Scienze della Salute;
2. Università di Milano: Istituto di Virologia;
3. Università di Trieste: Istituto di Igiene e Medicina Preventiva;
4. Università di Parma: Dipartimento di Sanità Pubblica, Sezione di Igiene;
5. Università di Firenze: Dipartimento di Sanità Pubblica;
6. Università di Siena: Istituto di Igiene, Laboratorio di Epidemiologia molecolare e Virologia;
7. Università di Perugia: Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica, Laboratorio Virologia;
8. Università Cattolica "S. Cuore", Roma: Istituto di Microbiologia;
9. Università di Napoli "Federico II": Dipartimento di Scienze Mediche Preventive, Sezione di Igiene;
10. Università di Lecce: Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali;
11. Università di Sassari: Dipartimento di Scienze Biomediche, Sezione di Microbiologia Sperimentale e Clinica;
12. Università di Padova: Dipartimento di Microbiologia, Virologia e Biotecnologie Mediche;
13. Università degli Studi di Palermo: Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Sezione di Igiene.
14. Azienda Sanitaria ASL Centro Sud, Bolzano: Laboratorio di Microbiologia e Virologia;
15. Ospedale Amedeo di Savoia di Torino: Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio, Laboratorio Virologia;
16. NIC-ISS in collaborazione con il Reparto di Epidemiologia (entrambi del Dipartimento MIPI) (per l'ulteriore monitoraggio delle regioni Lazio e Campania).

Rilevante è stato anche il contributo di alcuni laboratori non ancora afferenti al sistema di sorveglianza virologica, quali:

- Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia: Servizio di Virologia;
- AOU Policlinico di Bari: Laboratorio di Biologia Molecolare, UOC Igiene;
- INMI (Istituto Nazionale per le Malattie Infettive) "L. Spallanzani" IRCCS, UOC Laboratorio di Virologia, Roma.

Metodi impiegati nella diagnosi virologica

Per la ricerca del virus influenzale si utilizzano campioni clinici derivanti 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 fornito dall'ISS. 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 modificate (*Madin-Darby Canine Kidney Cells*, MDCK-SIAT1) (20-22), particolarmente sensibili alla crescita del virus influenzale umano, e uova embrionate di pollo (23-24), 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 è stato utilizzato il test di inibizione dell'emagglutinazione (*Haemagglutination Inhibition*, HI) (25-27), utilizzando antisieri policlonali prodotti in pollo e/o furetto presso l'ISS, qui di seguito elencati:

- antisiero A/Brisbane/10/07 e A/Wisconsin/67/05;
- antisiero A/Brisbane/59/07 e A/Solomon Islands/3/06;
- antisiero B/Florida/4/06 e B/Malaysia/2506/04.

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

- *RT-PCR* (reazioni polimerasiche a catena di tipo "multiplex", precedute da trascrizione inversa) (28-36). I primer utilizzati erano diretti verso regioni altamente conservate delle proteine virali interne tipo-specifiche (es. la 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.
- *Directigen FLU A+B* (saggio immunoenzimatico su membrana per la ricerca qualitativa e rapida dell'antigene virale NP dell'influenza A e B direttamente nei campioni clinici) (37-39).

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 Cycle Sequencing* (Applied Biosystems).

L'allineamento delle sequenze è stato eseguito mediante il programma BIOEDIT 7.0.3. (40-41) e le analisi filogenetiche, relative al dominio HA1 della HA, sono state effettuate utilizzando il pacchetto software MEGA4, versione 4.1 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 (42-46).

Metodo impiegato per lo studio della sensibilità degli isolati virali agli inibitori della neuraminidasi

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;
- analisi di sequenza della neuraminidasi, per evidenziare l'eventuale presenza di cambiamenti aminoacidici associati al carattere resistenza.

Risultati delle indagini virologiche in Italia

Il monitoraggio virologico è stato eseguito nel periodo compreso tra la 46^a settimana del 2007 e la 17^a settimana del 2008. Complessivamente sono stati analizzati 1870 campioni, di cui 548 sono risultati positivi (Tabella 1).

Tabella 1. Virus influenzali isolati e/o identificati in Italia nella stagione 2007-2008, su un totale di 1870 campioni clinici raccolti (dati aggiornati al 20 giugno 2008)

Tipizzati	Non sottotipizzati	Sottotipizzati	Varianti antigeniche prevalenti
A 286 (52%)	44 (15%)	H3N2 33 (12%) H1N1 209 (73%)	A/Wisconsin/67/05 A/Brisbane/10/07 A/Solomon Islands/3/06 A/Brisbane/59/07
B 262 (48%)			B/Florida/4/06 (B/Yamagata/16/88-like) B/Malaysia/2506/04 (B/Victoria/2/87-like)

Il 29% dei campioni clinici raccolti e analizzati dall'ISS e dal CIRI, sono risultati positivi per influenza. Il periodo di massima raccolta dei campioni è stato registrato tra la 4^a e la 5^a settimana 2008. Durante la presente stagione, è stata osservata una contemporanea circolazione di ceppi A e B, sebbene i virus di tipo A (52%) siano risultati leggermente predominanti, rispetto ai virus di tipo B (48%), che hanno cominciato a circolare in modo più significativo a partire dalla 5^a settimana di sorveglianza, raggiungendo in proporzione i virus di tipo A e risultando prevalenti nelle settimane successive. Nell'ambito del tipo A, sono stati prevalentemente isolati e/o identificati virus appartenenti al sottotipo A/H1 (73%), rispetto ai ceppi A/H3 (12%). Per il restante 15% dei ceppi di tipo A non è disponibile il dato di sottotipizzazione. Nelle Figure 1 e 2 sono riportati il numero di campioni analizzati e i virus risultati positivi alle indagini di laboratorio.

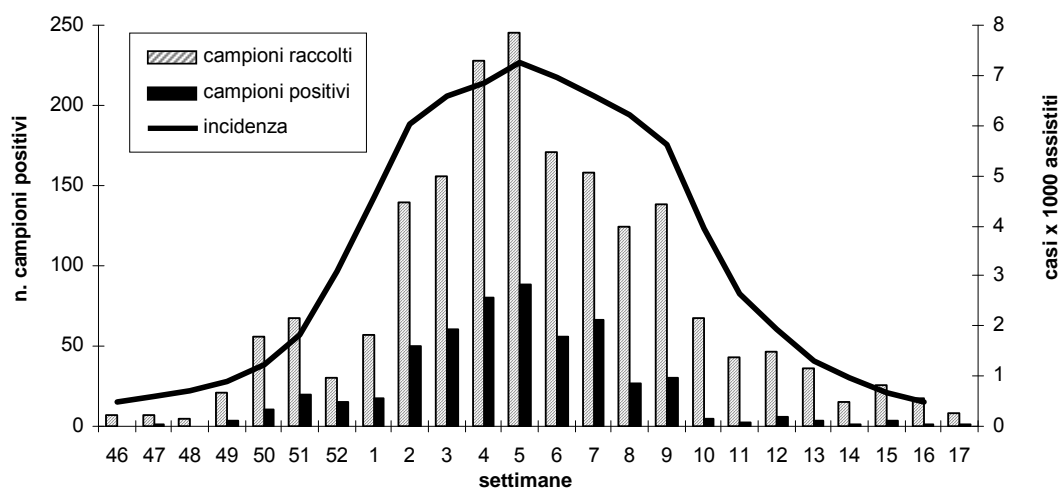


Figura 1. Andamento settimanale dei campioni clinici raccolti, dei campioni positivi e dell'incidenza della sindrome influenzale nella stagione 2007-2008

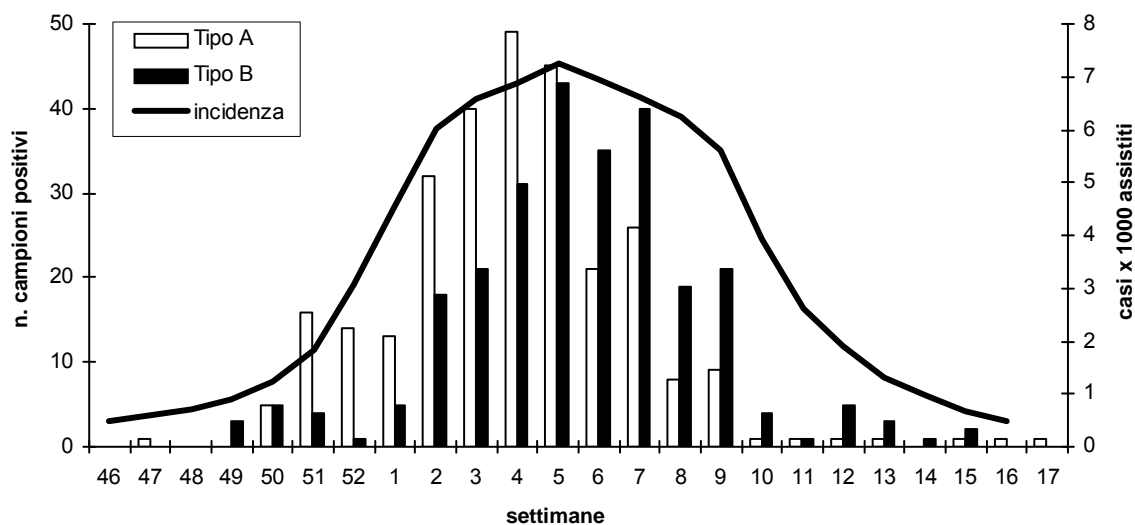


Figura 2. Andamento settimanale dei campioni positivi nella stagione 2007-2008

La distribuzione settimanale dei campioni positivi durante la stagione influenzale 2007-2008 e la distribuzione geografica della totalità dei virus identificati vengono mostrate, rispettivamente, nelle Figure 3 e 4.

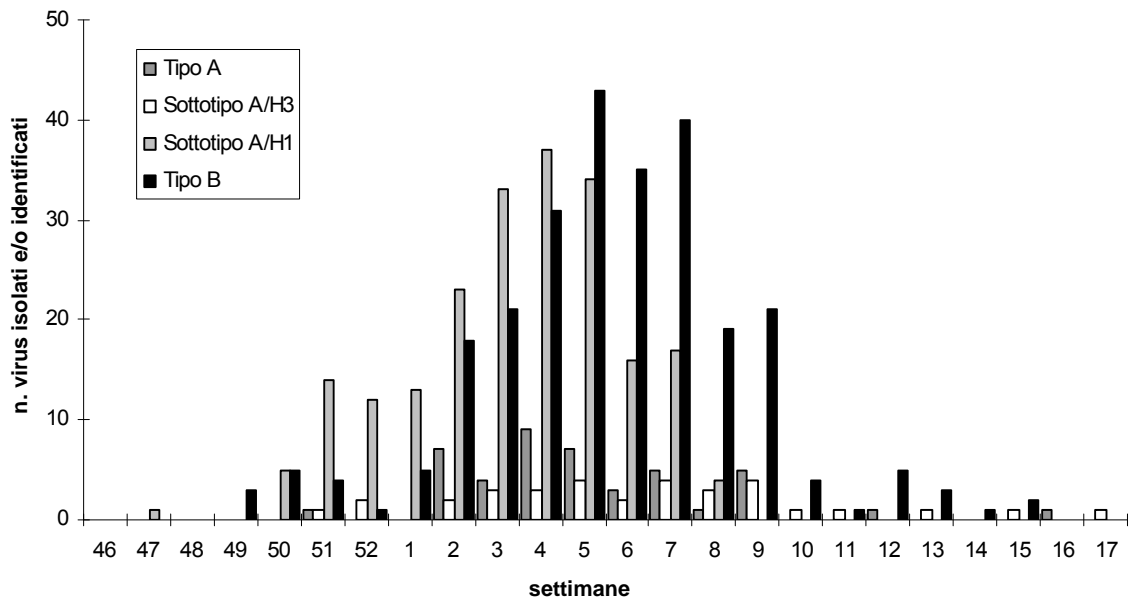


Figura 3. Distribuzione settimanale dei campioni positivi durante la stagione influenzale 2007-2008 (dati aggiornati alla 17ª settimana di sorveglianza)

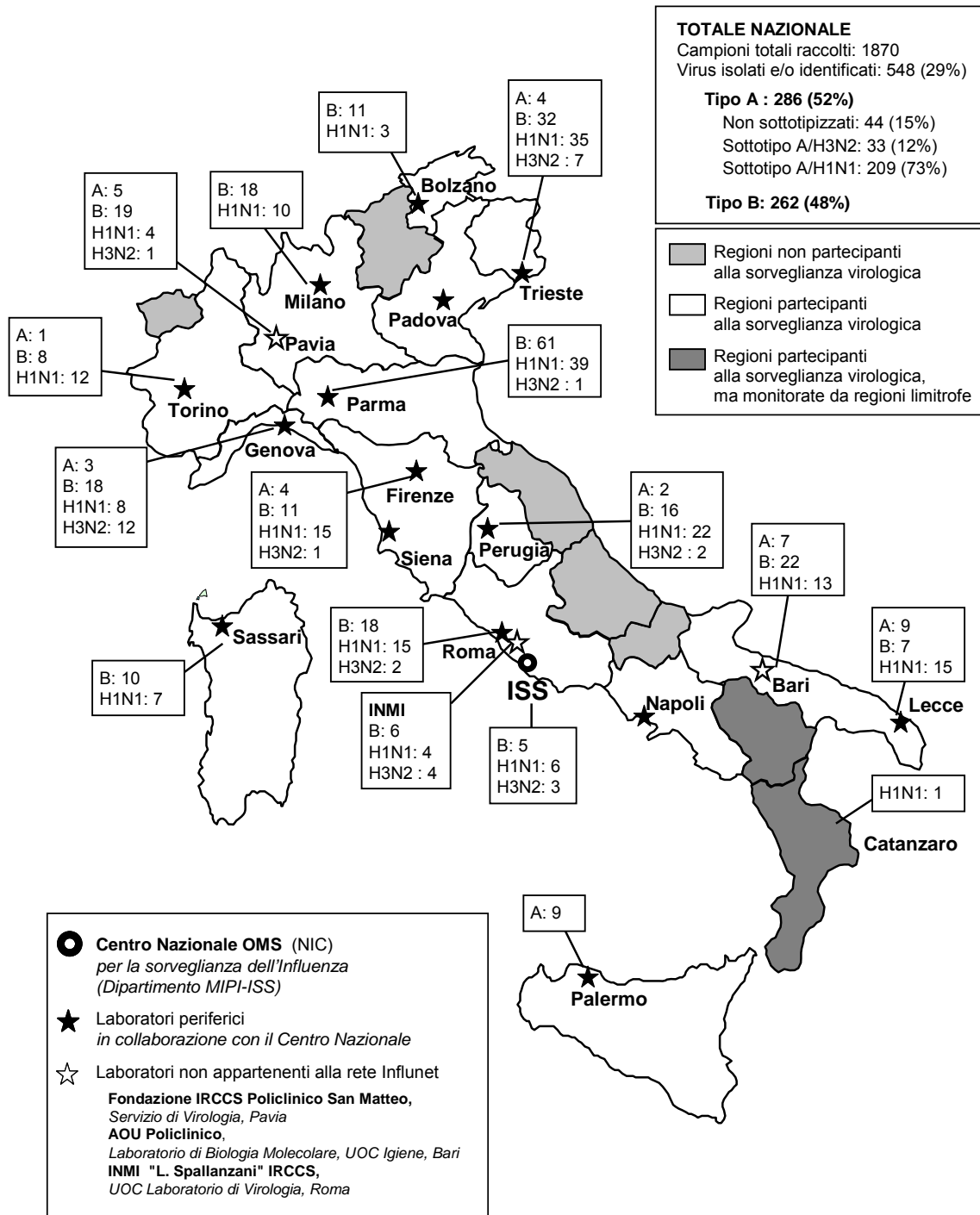


Figura 4. Distribuzione geografica dei ceppi virali identificati sull'intero territorio nazionale (dati aggiornati alla 17^a settimana di sorveglianza)

Gruppi di età

In Figura 5 è mostrata la distribuzione per classi di età dei pazienti risultati positivi alla diagnosi di laboratorio.

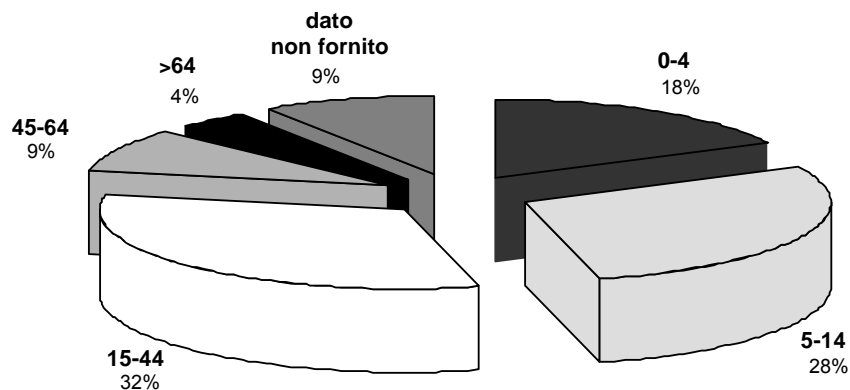


Figura 5. Distribuzione per classi di età dei soggetti positivi alla diagnosi di laboratorio

Prevalentemente colpiti sono risultati i soggetti di età compresa tra 15 e 44 anni (percentuale totale pari al 32%) e tra i 5 e i 14 (28%), mentre nei campioni provenienti da pazienti appartenenti alla classe di età 0-4 è stata registrata una positività del 18%. Solo il 9% e il 4% di positività ha invece interessato, rispettivamente, la classe di età 45-64 e i pazienti con più di 64 anni. Nel 9% dei casi il dato relativo all'età non è stato fornito.

La Figura 6 riporta la distribuzione per classi di età dei campioni positivi.

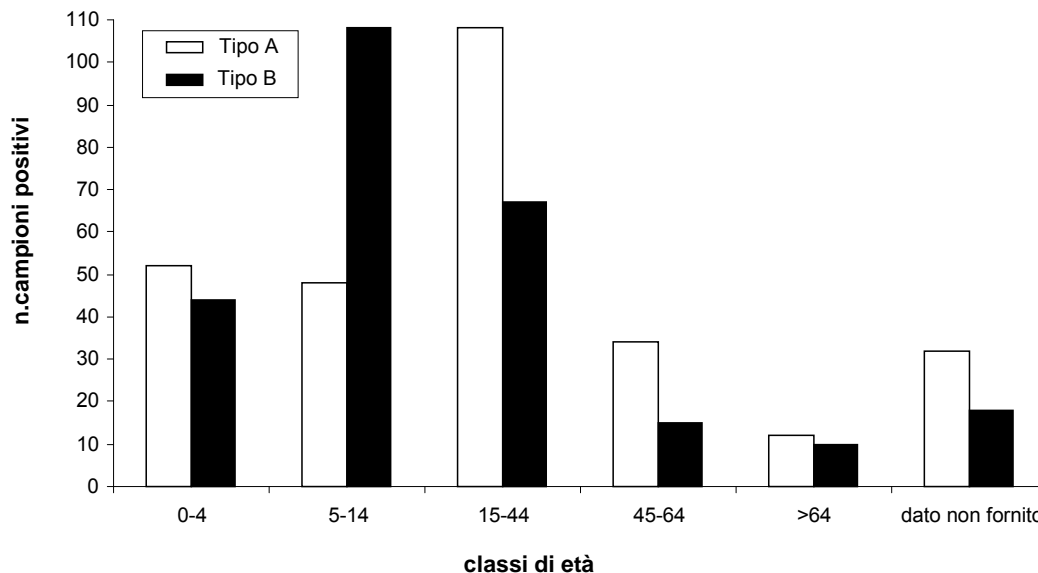


Figura 6. Distribuzione per classi di età dei campioni positivi

Caratterizzazione sierologica e molecolare degli isolati virali

Le Tabelle 2-5 riportano i risultati dell'analisi sierologica eseguita, mediante il test classico HI, su alcuni ceppi virali isolati durante la stagione 2007-2008.

Gli isolati che riportano la sigla "ISS" sono stati ottenuti da campioni clinici raccolti da medici non sentinella e sono stati direttamente isolati e analizzati nei laboratori del NIC-ISS.

Sottotipo A/H1N1

L'analisi antigenica condotta su alcuni ceppi A/H1N1 (Tabella 2), circolanti in Italia, ha evidenziato una sostanziale omologia con la nuova variante A/Brisbane/59/07, inclusa nella composizione del vaccino per la prossima stagione influenzale 2008/09, che sostituirà il ceppo A/Solomon Islands/3/06, contenuto nel vaccino della presente stagione.

Tabella 2. A/H1N1: caratterizzazione antigenica di virus influenzali isolati in Italia mediante test HI

Virus	Antisieri prodotti in furetto							Data prelievo	Età (anni)
	A/NC 20/99	A/The 24/05	A/HK 2652/06	A/SI 3/06	A/Neth 345/07	A/Bris 59/07	A/Egy 10/07		
Data analisi: 17/03/08									
A/NewCaledonia/20/99 ^a	320	640	40	40	80	80	80		
A/Thessaloniki/24/05	320	1280	80	80	160	160	80		
A/Hong Kong/2652/06	40	40	640	320	160	640	640		
A/Solomon Islands/3/06 ^b	80	160	320	1280	1280	1280	320		
A/Netherlands/345/07	80	320	320	640	1280	640	320		
A/Brisbane/59/07 ^c	40	40	160	320	160	1280	640		
A/Egypt/10/07	40	40	160	320	160	1280	640		
A/Parma/1/08	40	40	160	320	160	640	320	gen-08	28
A/Parma/2/08	40	80	160	160	320	320	320	gen-08	13
A/Parma/3/08	40	<	80	80	640	160	320	gen-08	3
A/Parma/4/08	<	<	<	<	320	80	160	gen-08	6
A/Parma/6/08	<	<	80	40	80	80	40	gen-08	12
A/Parma/8/08	<	<	160	80	160	160	320	gen-08	7
A/Parma/10/08	<	<	160	320	80	160	160	gen-08	38
A/Parma/11/08	40	<	80	160	160	160	320	gen-08	12
A/Parma/12/08	<	<	80	160	160	320	640	gen-08	12
A/Parma/13/08	<	<	80	80	320	80	160	gen-08	7
A/Milano/2/08	40	160	160	160	640	160	160	gen-08	43
A/Roma-ISS/1/08	40	160	160	320	640	320	320	gen-08	6
A/Roma-ISS/2/08	<	80	160	160	640	160	160	gen-08	39
A/Roma-ISS/3/08	80	160	160	160	640	320	160	gen-08	45
A/Roma-ISS/4/08	80	160	320	320	1280	320	320	gen-08	36
A/Roma-ISS/5/08	80	80	160	160	640	320	160	gen-08	32
A/Perugia/7/08	40	160	160	160	640	320	160	gen-08	5
A/Perugia/8/08	40	80	1280	2560	320	1280	640	gen-08	4
A/Perugia/10/08	40	80	80	80	640	160	160	gen-08	18
A/Perugia/11/08	40	80	160	160	640	320	160	gen-08	30
A/Perugia/6/08	40	160	160	160	1280	640	320	gen-08	45
A/Perugia/9/08	40	80	1280	2560	320	2560	640	gen-08	4
A/Perugia/15/08	40	160	160	320	1280	640	320	gen-08	18
A/Perugia/16/08	40	160	160	160	1280	320	320	gen-08	36
A/Perugia/14/08	40	160	320	320	1280	320	320	gen-08	43

segue

continua

Virus	Antisieri prodotti in furetto							Data prelievo	Età (anni)
	A/NC 20/99	A/The 24/05	A/HK 2652/06	A/SI 3/06	A/Neth 345/07	A/Bris 59/07	A/Egy 10/07		
Data analisi: 3/04/08									
A/NewCaledonia/20/99 ^a	320	1280	80	80	160	160	80		
A/Thessaloniki/24/05	320	2560	80	80	320	160	160		
A/Hong Kong/2652/06	<	40	640	640	160	640	640		
A/Solomon Islands/3/06 ^b	80	320	640	1280	1280	1280	320		
A/Netherlands/345/07	40	160	160	320	1280	320	320		
A/Brisbane/59/07 ^c	40	80	320	640	320	1280	1280		
A/Egypt/10/07	40	80	160	320	160	1280	1280		
A/Parma/14/08	40	40	80	160	160	320	320	gen-08	4
A/Parma/15/08	40	80	80	80	320	160	160	gen-08	45
A/Parma/17/08	40	80	160	160	320	640	320	gen-08	2
A/Parma/18/08	40	80	80	160	640	320	160	gen-08	9
A/Parma/20/08	40	40	80	160	160	320	320	gen-08	25
A/Parma/22/08	40	80	160	160	320	640	640	gen-08	37
A/Parma/24/08	<	40	320	320	160	320	160	gen-08	3
A/Parma/25/08	<	40	160	160	640	640	320	gen-08	60
A/Parma/26/08	160	640	<	<	80	80	80	gen-08	37
A/Parma/27/08	<	40	80	80	640	320	160	dic-07	52
A/Parma/29/08	<	40	40	40	640	320	160	gen-08	42
A/Parma/31/08	40	80	320	320	320	640	320	gen-08	43
A/Parma/33/08	40	80	80	160	320	320	160	gen-08	21
A/Parma/34/08	40	80	80	160	640	160	160	feb-08	13
A/Torino/4/08	40	160	160	320	1280	320	320	gen-08	26
A/Torino/6/08	40	160	160	320	1280	640	320	gen-08	1
A/Torino/7/08	40	160	160	160	640	320	160	gen-08	14
A/Firenze/4/08	40	80	80	80	640	320	320	gen-08	12
A/Firenze/9/08	40	40	80	160	80	640	320	feb-08	55
A/Roma-ISS/6/08	40	80	160	160	320	640	320	feb-08	1
A/Roma/15/07	40	160	160	160	640	320	160	dic-07	39
A/Roma/1/08	80	160	160	320	1280	320	160	gen-08	45
A/Roma/3/08	80	160	320	320	1280	640	320	gen-08	10
A/Roma/5/08	40	80	160	160	320	320	160	gen-08	68
A/Roma/6/08	80	160	160	160	640	320	160	gen-08	14
A/Perugia/18/08	80	160	160	320	640	320	320	feb-08	6
A/Perugia/20/08	40	160	160	160	1280	320	160	feb-08	5
A/Perugia/21/08	40	160	160	160	640	320	160	feb-08	20

^a A/New Caledonia/20/99 (ceppo vaccinale 2006-2007)

^b A/Solomon Islands/3/06 (ceppo vaccinale 2007-2008)

^c A/Brisbane/59/07 (ceppo vaccinale 2008-2009)

<: <40

Al fine di approfondire ulteriormente l'analisi delle caratteristiche dei virus A/H1N1 circolanti in Italia, è stato effettuato, presso il NIC, il sequenziamento del dominio HA1 di HA. Il relativo albero filogenetico è riportato in Figura 7, da cui si rileva come i recenti isolati A/H1N1 italiani, sebbene mostrino ancora una stretta omologia con il ceppo vaccinale A/Solomon Island/3/2006, siano maggiormente correlati alla nuova variante A/Brisbane/59/2007, proposta per la composizione vaccinale della stagione 2008-2009.

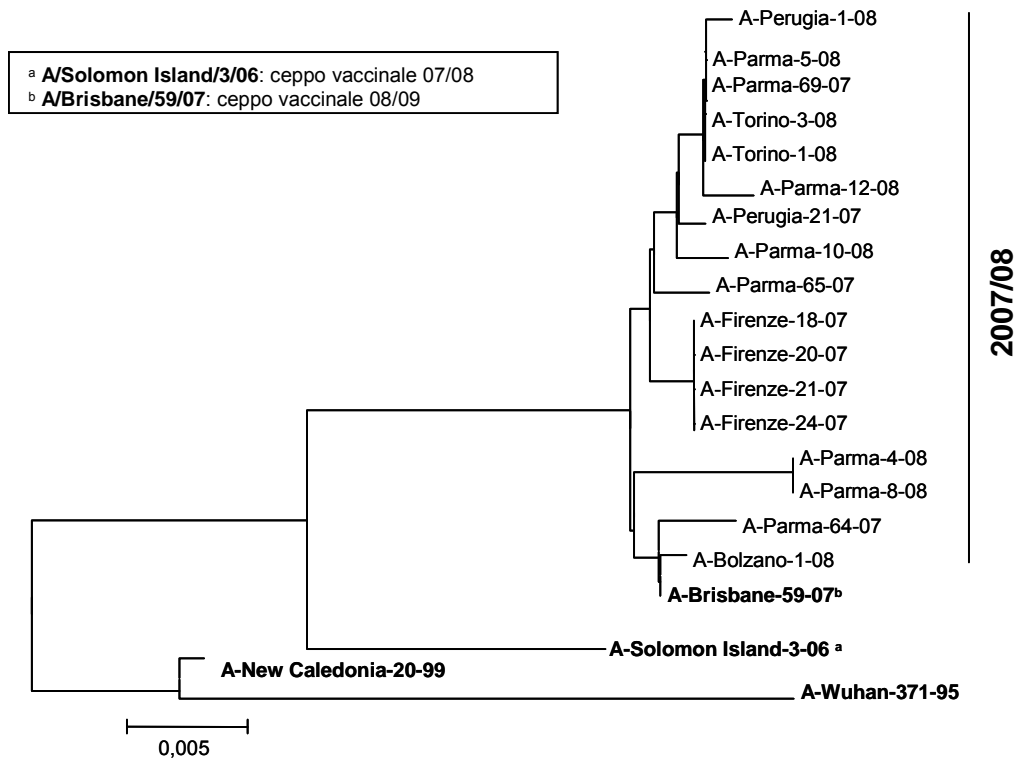


Figura 7. Relazioni filogenetiche relative al dominio HA1 della HA di recenti isolati umani A/H1N1 in Italia

Sottotipo A/H3N2

Per quanto riguarda i virus appartenenti al sottotipo A/H3N2, è stato possibile effettuare le analisi di caratterizzazione solo sui pochi isolati disponibili ed i risultati hanno evidenziato una loro maggiore omologia antigenica con la nuova variante A/Brisbane/10/2007, già inserita nella composizione del vaccino antinfluenzale per l'Emisfero Sud.

Tabella 3. A/H3N2: caratterizzazione antigenica di virus influenzali isolati in Italia mediante test HI (data analisi: 03/04/08)

Virus	Antiseri prodotti in furetto							Data prelievo	Età (anni)
	A/Wis 67/05	A/Nep 921/06	A/Pra 3/07	A/Tri 25E/07	A/Wis 3/07	A/Bris 10/07	A/Uru7 16/07		
A/Wisconsin/67/05 ^a	5120	2560	1280	2560	1280	5120	5120		
A/Nepal/921/06	5120	5120	2560	5120	2560	5120	5120		
A/Prague/3/07	5120	5120	2560	2560	640	2560	5120		
A/Trieste/25E/07	2560	2560	640	2560	640	1280	5120		
A/Wisconsin/3/07	5120	5120	1280	5120	2560	5120	5120		
A/Brisbane/10/07 ^b	5120	5120	1280	2560	1280	2560	5120		
A/Uruguay/716/2007	2560	2560	640	2560	640	1280	2560		
A/Parma/32/08	80	80	<	80	80	160	80	gen-08	29

^a A/Wisconsin/67/05 (ceppo vaccinale 2007-2008); ^b A/Brisbane/10/07 (ceppo vaccinale 2008-2009); <: <40

Tipo B

Virus influenzali di tipo B appartenenti ai due diversi lineaggi, B/Victoria/2/87 e B/Yamagata/16/88, hanno continuato a co-circolare anche durante la presente stagione influenzale anche se la maggior parte dei virus analizzati è risultata appartenere al lineaggio dei virus B/Yamagata-like. I dati di caratterizzazione antigenica hanno evidenziato una stretta omologia con la nuova variante vaccinale B/Florida/4/2006, che sostituirà il ceppo B/Malaysia/2506/04, contenuto nel vaccino della presente stagione (Tabelle 4 e 5).

Tabella 4. Tipo B: caratterizzazione antigenica di virus influenzali (lineaggio B/Victoria/2/87) isolati in Italia mediante test HI (data analisi: 03/04/08)

Virus	Antiseri prodotti in furetto						Data prelievo	Età (anni)
	B/Shan 7/97 ^a	B/Shan 7/97	B/Bris 32/02	B/HK 45/05	B/Mal 2506/04	B/Vic 304/06		
B/Shandong/7/97	1280	160	80	80	160	80		
B/Brisbane/32/02	1280	160	160	80	160	80		
B/HK/45/05	1280	160	160	80	320	80		
B/Malaysia/2506/04^b	1280	160	320	80	320	160		
B/Victoria/304/06	640	80	80	40	160	160		
B/Parma/25/08	1280	80	<	320	40	40	gen-08	9
B/Parma/36/08	2560	40	<	320	40	<	feb-08	13
B/Parma/45/08	1280	160	<	320	40	40	feb-08	1

^a B/Shandong/7/97 (hyperimmune sheep serum); ^b B/Malaysia/2506/04 (ceppo vaccinale 2007-2008); <: <40

Tabella 5. Tipo B: caratterizzazione antigenica di virus influenzali (lineaggio B/Yamagata/16/88) isolati in Italia mediante test HI

Virus	Antiseri prodotti in furetto							Data prelievo	Età (anni)
	B/Sich 379/99	B/Jiang 10/03	B/Eg 144/05	B/Fl 7/05	B/Fl 5/06	B/Bris3/07	B/Sen114/07		
Data analisi: 17/03/08									
B/Sichuan/379/99	160	40	640	320	640	640	640		
B/Jiangsu/10/03	<	640	80	40	40	40	40		
B/Egypt/144/05	160	40	640	320	320	640	640		
B/Florida/7/04	160	40	320	320	640	640	640		
B/Florida/4/06^a	160	40	320	320	640	640	640		
B/Brisbane/3/07	160	40	640	320	640	640	640		
B/SendaiH/114/07	160	40	160	160	320	1280	1280		
B/Parma/2/08	<	40	320	40	80	40	80	gen-08	42
B/Parma/3/08	<	20	160	40	80	40	40	gen-08	7
B/Parma/4/08	160	320	640	320	320	320	320	gen-08	8
B/Parma/7/08	<	40	160	80	80	80	160	gen-08	11
B/Parma/8/08	<	80	160	40	80	40	80	gen-08	7
B/Parma/9/08	40	640	320	160	160	80	160	gen-08	6
B/Parma/12/08	<	160	320	80	160	40	80	gen-08	9
B/Milano/1/08	40	80	320	160	160	160	160	gen-08	30
B/Roma-ISS/1/08	80	160	320	320	160	320	320	gen-08	8
B/Roma-ISS/2/08	80	160	640	640	320	320	640	gen-08	48
B/Roma-ISS/3/08	80	640	320	320	320	160	320	gen-08	44
B/Perugia/2/08	160	640	640	640	320	320	640	gen-08	6
B/Perugia/4/08	40	160	320	160	160	160	160	gen-08	5
B/Perugia/3/08	<	80	320	<	160	80	160	gen-08	30
B/Perugia/7/08	80	320	640	640	320	320	320	gen-08	41
B/Perugia/9/08	<	40	320	80	160	160	160	gen-08	nf

segue

continua

Virus	Antisieri prodotti in furetto						Data prelievo	Età (anni)
	B/Sich 379/99	B/Jiang 10/03	B/Eg 144/05	B/FI 7/05	B/FI 5/06	B/Bris3/07		
Data analisi: 03/04/08								
B/Sichuan/379/99	160	40	320	320	640	1280	640	
B/Jiangsu/10/03	<	640	80	<	80	40	80	
B/Egypt/144/05	160	20	640	320	640	640	640	
B/Florida/7/04	160	40	320	320	640	1280	640	
B/Florida/4/06 ^a	160	40	640	320	640	1280	640	
B/Brisbane/3/07	160	40	640	320	640	1280	640	
B/SendaiH/114/07	160	40	320	320	320	1280	1280	
B/Parma/20/08	80	160	160	160	160	160	320	gen-08 4
B/Parma/26/08	<	40	320	80	160	80	80	gen-08 9
B/Parma/30/08	40	80	160	160	160	320	320	feb-08 3
B/Parma/38/08	40	160	160	160	160	160	320	feb-08 42
B/Parma/40/08	160	320	320	320	320	640	640	feb-08 8
B/Parma/47/08	<	80	160	80	160	80	80	feb-08 56
B/Torino/2/08	160	320	640	640	320	640	640	gen-08 11
B/Torino/3/08	160	320	320	320	320	320	640	gen-08 9
B/Firenze/4/08	160	160	640	640	640	640	640	gen-08 1
B/Firenze/5/08	160	40	320	320	320	640	640	gen-08 36
B/Roma/1/08	<	80	160	80	80	80	80	gen-08 5
B/Roma/7/08	160	320	320	640	320	640	320	gen-08 9
B/Perugia/6/08	80	320	160	320	160	320	160	gen-08 4
B/Perugia/11/08	80	160	320	320	160	320	160	feb-08 45

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

<: <10

nf: non fornito

Isolamento di virus influenzali A/H1N1 resistenti all'oseltamivir

Durante la stagione 2007-2008, a partire dal mese di gennaio, le attività di monitoraggio condotte nell'ambito dello studio della resistenza ai farmaci antinfluenzali ed, in particolare, agli IN, hanno evidenziato che alcuni ceppi di virus influenzale di tipo A- sottotipo H1N1 - circolanti in Europa, sono resistenti all'oseltamivir (presente nel medicinale Tamiflu).

Fino ad ora, su 2961 ceppi virali A/H1N1 analizzati, 715 (24%) hanno mostrato caratteristiche di resistenza al suddetto farmaco (<http://ecdc.europa.eu>).

A tale proposito, il NIC-ISS, oltre a svolgere le normali attività di caratterizzazione antigenica e molecolare dei virus influenzali, conduce attività di monitoraggio per la valutazione del profilo di suscettibilità dei ceppi virali agli IN (oseltamivir nel Tamiflu e zanamivir nel medicinale Relenza), in collaborazione con la rete di sorveglianza europea "Virgil".

Nella stagione 2007-2008, su un totale di 67 virus H1N1 isolati in Italia, analizzati presso il laboratorio del NIC-ISS, soltanto un ceppo è risultato resistente all'oseltamivir.

Il campione clinico era stato prelevato a Parma, nella settimana 07/2008, da un bambino di 13 anni.

L'isolato virale in questione ha mostrato di possedere un valore di IC₅₀ (concentrazione di farmaco in grado di inibire l'attività della neuraminidasi del 50%) particolarmente elevato nei confronti dell'oseltamivir, mentre è risultato sensibile allo zanamivir.

La resistenza di tale isolato è stata confermata dall'analisi di sequenza del gene della neuraminidasi, in quanto è stata trovata la mutazione H274Y, più comunemente associata alla resistenza all'oseltamivir per i virus di sottotipo H1N1.

Le analisi effettuate sugli altri tipi/sottotipi di virus influenzali (2 H3N2, 41 B) non hanno, invece, evidenziato alcun fenotipo di resistenza.

CIRCOLAZIONE DEI VIRUS INFLUENZALI IN EUROPA E NEL MONDO

Isolamenti virali in Europa

I dati relativi all'attività di sorveglianza virologica condotta in Italia, raccolti dai Centri Nazionali, 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. Tale incontro ha come obiettivo l'aggiornamento del vaccino antinfluenzale utilizzabile nella stagione successiva attraverso la valutazione delle caratteristiche dei virus isolati nelle diverse parti del mondo e l'identificazione delle varianti emergenti.

A partire dalla fine di dicembre 2007 il numero di casi di influenza è iniziato ad aumentare.

I primi paesi a raggiungere il picco d'incidenza sono stati l'Irlanda nella prima settimana del 2008, l'Inghilterra e la Spagna nella seconda settimana, mentre per il resto dei Paesi Europei il picco si è registrato tra gennaio e febbraio 2008.

In linea con i nostri dati, anche in Europa nella stagione 2007-2008, è stata osservata una prevalente circolazione di virus influenzali di sottotipo A/H1 e di tipo B mentre si è registrata una circolazione modesta di virus influenzali di sottotipo A/H3. In generale, i virus di tipo A hanno rappresentato il ceppo dominante dell'intera stagione di sorveglianza, anche se a partire dalla 8^a settimana, i virus appartenenti al tipo B hanno registrato un sensibile incremento (Figura 8).

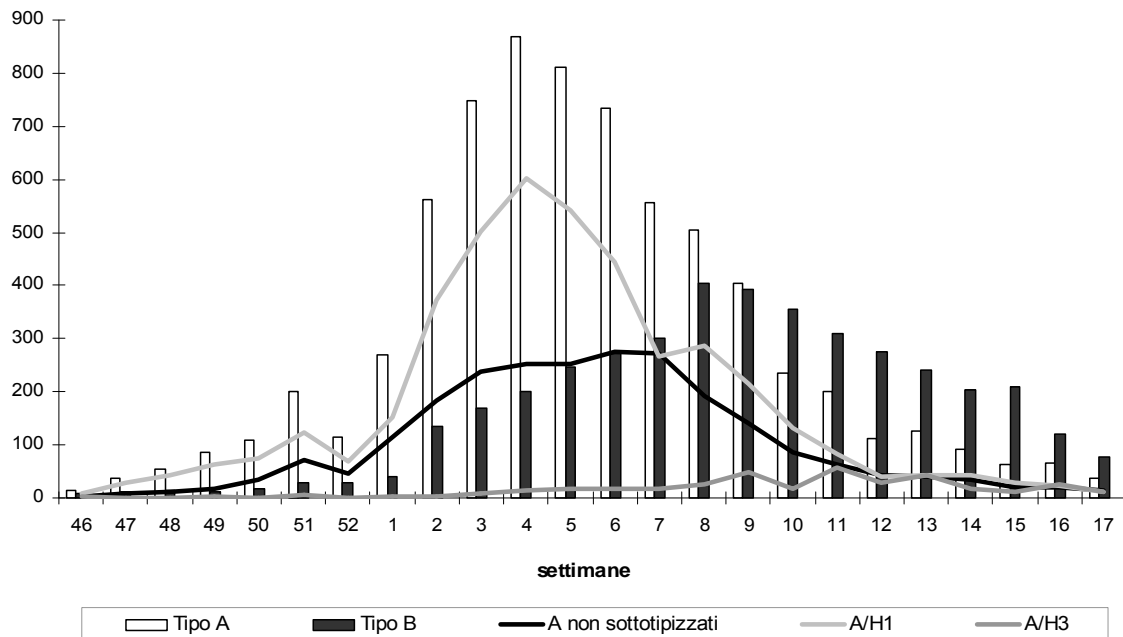


Figura 8. Numero dei campioni identificati e/o isolati in Europa nella stagione 2007-2008

La Tabella 6 mostra i risultati europei relativi alla stagione 2006-2007.

Tabella 6. Virus influenzali isolati e/o identificati in Europa nella stagione 2007-2008 (dati aggiornati al 27 aprile 2008)

	Tipizzati		Non sottotipizzati		Sottotipizzati		
	n.	%	n.	%	n.	%	
A	10299	61	5102	50	H3	176	2
					H1	5021	48
B	6464	39	-				

Fonte: *Bollettino EISS* n. 225 (www.eiss.org/cgi-files/bulletin_v2.cgi)

Come mostrato in Tabella 6, il 61% dei ceppi isolati e caratterizzati sono risultati di tipo A. In particolare, di questi il 50% non è stato sottotipizzato, il 48% è risultato appartenere al sottotipo H1 e solo il 2% al sottotipo H3. Il 39% dei campioni analizzati è risultato, invece, appartenere al tipo B.

Il 21% dei virus totali sono stati antigenicamente e/o geneticamente caratterizzati (Figura 9).

I dati mostrano che il 65% dei ceppi A/H1 sono risultati strettamente correlati al ceppo A/Solomon Islands/3/2006 e lo 0,3% alla variante A/New Caledonia/20/1999.

Lo 0,7% degli isolati A/H3 è risultato antigenicamente simile al ceppo vaccinale A/Wisconsin/67/05 e lo 0,6% alla nuova variante A/Brisbane/10/07 presente nella composizione vaccinale 2008-2009.

Per quanto riguarda i virus di tipo B, il 32,8% dei virus analizzati ha mostrato un consistente grado di omologia antigenica verso la nuova variante B/Florida/4/2006 (lineaggio Yamagata) presente nella composizione vaccinale 2008-2009, mentre solo lo 0,5% è risultato correlato al ceppo B/Malaysia/2506/2004 (lineaggio Victoria).

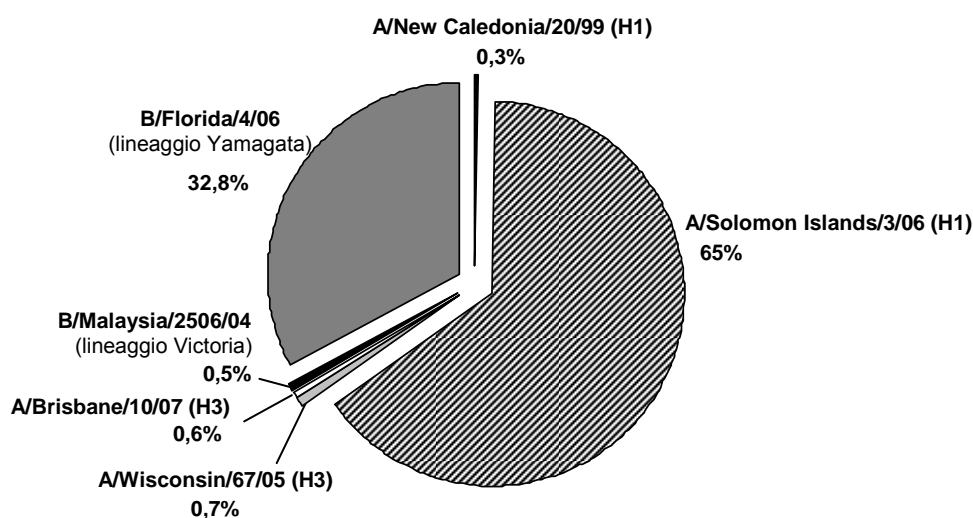


Figura 9. Risultati di caratterizzazione antigenica dei campioni identificati e/o isolati in Europa nella stagione 2007-2008

Isolamenti virali nel mondo

Durante la stagione 2007-2008, l'influenza ha circolato in tutti i continenti (Africa, America, Asia, Europa e Oceania). Nell'emisfero Nord, una moderata attività dei virus influenzali si è cominciata a registrare in Nord America e in Asia a partire dal mese di novembre 2007, per poi aumentare nei mesi di dicembre e gennaio.

La circolazione dei virus influenzali A/H1N1 è stata osservata nella maggior parte dei Paesi provocando diversi focolai epidemici. Virus influenzali A/H3N2 hanno circolato con bassa frequenza durante tutta la stagione influenzale ad eccezione degli Stati Uniti. Anche la circolazione dei virus B è risultata abbastanza moderata per tutta la stagione, anche se focolai epidemici sono stati riportati in Cina, Ungheria e Stati Uniti. Figura 10).

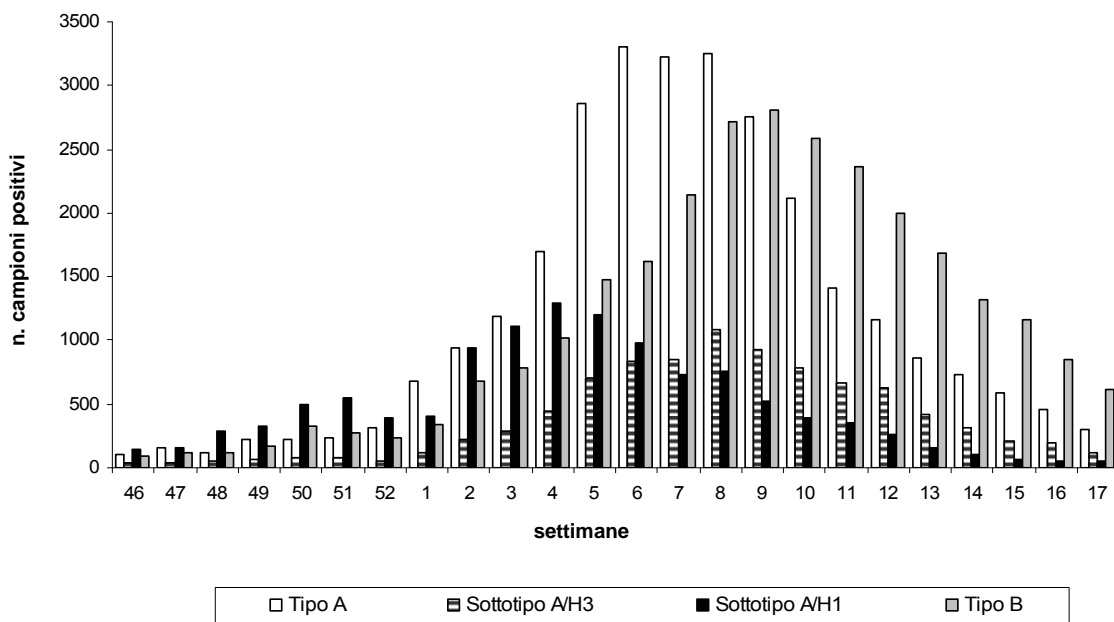


Figura 10. Numero dei campioni identificati e/o isolati nel mondo nella stagione 2007-2008

Sottotipo A/H3N2

Le analisi di caratterizzazione sierologica svolte sui ceppi di sottotipo A/H3N2 circolanti hanno mostrato per alcuni virus una stretta omologia con il ceppo vaccinale A/Wisconsin/67/05 e la variante A/Hiroshima/52/05, mentre la maggior parte dei virus risulta maggiormente correlata alla nuova variante A/Brisbane/10/07 inclusa nella composizione vaccinale 2008-09.

Sottotipo A/H1N1

Sulla base delle analisi antigeniche, effettuate con il test HI, molti dei ceppi influenzali appartenenti al sottotipo A/H1N1 circolanti, sono risultati antigenicamente correlati al ceppo vaccinale A/Solomon Islands/3/06. Tuttavia, una percentuale via via crescente di isolati ha mostrato una maggiore omologia antigenica e molecolare con il nuovo ceppo A/Brisbane/59/07, come riportato anche nella Tabella 7.

Tabella 7. A/H1N1: caratterizzazione antigenica di virus influenzali isolati nel mondo mediante test HI

Virus	Antisieri prodotti in furetto							
	A/NC 20/99	A/The 24/05	A/HK 2652/06	A/Fuk 141/06	A/SI 3/06	A/Neth 345/07	A/Egy 10/07	A/Bris 59/07
A/NewCaledonia/20/99^a	320	640	40	80	40	160	80	160
A/Thessaloniki/24/05^b	320	1280	40	80	40	160	80	160
A/Hong Kong/2652/06^c	40	40	320	320	320	160	320	640
A/Fukushima/141/06	80	40	160	640	640	160	640	1280
A/Solomon Islands/3/06^d	80	160	320	320	640	640	160	640
A/Netherlands/345/07	80	160	160	160	320	1280	160	640
A/Egypt/10/07	40	40	160	320	320	160	640	1280
A/Brisbane/59/07	40	40	160	320	320	160	640	1280
A/Madagascar/2121/2007	160	2560	80	80	80	160	80	160
A/Algeria/G258/2007	40	80	80	40	80	640	320	640
A/Paris/0577/2007	40	40	80	80	80	320	320	320
A/Bordeaux/1314/2007	40	<	80	40	40	160	160	320
A/Norway/12/2008	40	80	80	40	80	320	160	640
A/Finland/4/2007	40	80	80	80	160	320	160	640
A/Hungary/3/2007	<	<	160	160	320	80	160	40
A/Zagreb/1982/2008	<	40	80	320	320	160	640	1280
A/Ireland/v482/2008	<	160	160	80	160	1280	160	320
A/Luxembourg/116/2008	80	160	320	320	320	1280	320	640
A/Stockholm/1/2008	<	<	40	40	40	80	80	80
A/Latvia/1-54/2008	40	160	160	320	320	1280	320	640
A/Lisbon/3/2008	40	160	160	160	320	1280	320	1280
A/Belgium/G235/2008	40	160	160	160	320	1280	160	320
A/Barcelona/00083/2008	<	<	40	<	<	320	160	640
A/Denmark/4/2008	40	80	80	80	80	640	160	640
A/Hungary/2/2008	40	40	160	320	320	320	640	1280
A/Athens/41/2008	40	160	160	80	320	1280	nd	320
A/Lisbon/11/2008	40	160	160	160	160	1280	320	640
A/Bulgaria/062/2008	40	80	160	160	320	320	80	320
A/Volos/108/2008	40	160	160	80	160	1280	nd	320
A/Slovenia/137/2008	40	320	320	160	320	1280	160	320
A/Bucuresti/134/2008	<	<	160	320	160	40	160	320
A/Praha/78/2008	40	320	160	160	320	1280	320	320
A/Thessalonika/17/2008	80	160	160	160	320	1280	320	640
A/St.Petersburg/5/2008	<	40	320	320	320	320	640	1280
A/Kaliningrad/5/2008	<	40	80	<	40	640	640	640

^a A/New Caledonia/20/99 (ceppo vaccinale 2006-2007)

^b A/Solomon Islands/3/06 (ceppo vaccinale 2007-2008)

^c A/Brisbane/59/07 (ceppo vaccinale 2008-2009)

nd, non determinato

<: <40

Tipo B

Virus influenzali di tipo B appartenenti ai due diversi lineaggi, Victoria- e Yamagata-*like*, hanno continuato a co-circolare anche durante la presente stagione influenzale, in diversi Paesi.

La maggior parte dei virus risulta antigenicamente e geneticamente appartenente al lineaggio B/Yamagata essendo correlati maggiormente ai ceppi B/Florida/7/04, B/Brisbane/3/07, B/Sendai/114/07, mentre una piccola parte ha mostrato una maggiore omologia con il ceppo vaccinale B/Malaysia/2506/04, appartenente al lineaggio B/Victoria.

RACCOMANDAZIONI DELL'OMS PER LA VACCINAZIONE ANTINFLUENZALE 2008-2009

Le raccomandazioni che seguono sono state diramate dall'OMS e accettate e ratificate a livello europeo, nell'apposita seduta del gruppo di esperti "Ad-hoc Influenza Working Party Meeting", svoltasi a Ginevra, presso l'EMEA (*European Agency for the Evaluation of Medical Products*), nel mese di febbraio.

Composizione del vaccino per la stagione 2008-2009

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 2008-2009, avrà la seguente composizione:

FORMULAZIONE 2007-2008		FORMULAZIONE 2008-2009
<i>Ceppo vaccinale</i>	<i>Tipo/sottotipo</i>	<i>Ceppo vaccinale</i>
A/Wisconsin/67/2005	A/(H3N2)	A/Brisbane/10/2007
A/Solomon Islands/3/2006	A/(H1N1)	A/Brisbane/59/2007
B/Malaysia/2506/2004	B	B/Florida/4/2006

Secondo le Raccomandazioni dell'OMS, il nuovo vaccino conterrà tre nuove varianti antigeniche. Per quanto riguarda il sottotipo H1N1, la nuova variante **A/Brisbane/59/2007** sostituirà il ceppo A/Solomon Island/3/2006, contenuto nel vaccino della presente stagione; nel caso del sottotipo H3N2, la variante **A/Brisbane/10/2007** prenderà il posto del ceppo A/Wisconsin/67/05 ed, infine, il nuovo ceppo **B/Florida/4/2006**, appartenente al lineaggio dei virus B/Yamagata/16/88-like, sostituirà la variante virale B/Malaysia/2506/04, appartenente all'altro lineaggio dei virus B/Victoria/2/87-like e presente nella composizione vaccinale della stagione in corso.

BIBLIOGRAFIA

1. Kandel R, Hartshorn KL. Novel strategies for prevention and treatment of influenza. *Expert Opin Ther Targets* 2005;9(1):1-22.
2. Langley JM, Faughnan ME. Prevention of influenza in the general population. *CMAJ* 2004;171(10):1213-22.
3. Steindl T, Langer T. Influenza virus neuraminidase inhibitors: generation and comparison of structure-based and common feature pharmacophore hypotheses and their application in virtual screening. *J Chem Inf Comput Sci* 2004;44(5):1849-56.
4. Schmidt AC. Antiviral therapy for influenza: a clinical and economic comparative review. *Drugs* 2004;64(18):2031-46.
5. Ebell MH. Neuraminidase inhibitors for treatment of influenza. *Am Fam Physician* 2004;69(12):2824.
6. 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.
7. 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.
8. Noyola DE. Neuraminidase inhibitors in pediatric patients: potential place in influenza therapy. *Paediatr Drugs* 2003;5(2):125-31.
9. Stiver G. The treatment of influenza with antiviral drugs. *CMAJ* 2003;168(1):49-56.
10. 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.
11. Wetherall NT, Trivedi T, Zeller J, Hodges-Savola C, McKimm-Breschkin JL, Zambon M, Hayden FG. Evaluation of neuraminidase enzyme assays using different substrates to measure susceptibility of influenza virus clinical isolates to neuraminidase inhibitors: report of the neuraminidase inhibitor susceptibility network. *J Clin Microbiol* 2003;41(2):742-50.
12. Aoki FY, Macleod MD, Paggiaro P, Carewicz O, El Sawy A, Wat C, Griffiths M, Waalberg E, Ward P. Early administration of oral oseltamivir increases the benefits of influenza treatment. *J Antimicrob Chemother* 2003;51(1):123-9.
13. 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.
14. McKimm-Breschkin JL. Neuraminidase inhibitors for the treatment and prevention of influenza. *Expert Opin Pharmacother* 2002;3(2):103-12.
15. Cheer SM, Wagstaff AJ. Zanamivir: an update of its use in influenza. *Drugs* 2002;62(1):71-106.
16. McGeer A. Oseltamivir was safe and effective for prophylaxis of influenza in the frail elderly. *ACP J Club* 2002;136(1):24.
17. Aoki FY, Doucette KE. Oseltamivir: a clinical and pharmacological perspective. *Expert Opin Pharmacoter* 2001;2(10):1671-83.
18. McClellan, Perry CM. Oseltamivir: a review of its use in influenza. *Drugs* 2001;61 (2):263-83.
19. Sarria A, Timoner J. Determination of influenza vaccination in persons 65 years of age and older. *Rev Esp Salud Publica* 2002;76(1):17-26.

20. Hatakeyama S, Sakai-Tagawa Y, Kiso M, Goto H, Kawakami C, Mitamura K, Sugaya N, Suzuki Y, Kawaoka Y. Enhanced expression of an alpha2,6-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.
21. 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.
22. Oh DY, Barr IG, Mosse JA, Laurie KL. MDCK SIAT-1 cells show improved isolation rates for recent human influenza viruses compared to conventional MDCK cells. 1. *J Clin Microbiol* 2008;46(7):2189-94.
23. Murphy BR, Webster RG. Orthomyxoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, *et al.* (Ed.). *Fields virology*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996. p. 1397-445.
24. 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.
25. 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.
26. Ueda M, Maeda A, Nakagava N, Kase T, Kubota R, Takakura H, Ohshima A, Okuno Y. Application of subtype-specific monoclonal antibody for rapid detection and identification of influenza A and B viruses. *J Clin Microbiol* 1998;(1131 I):340-4.
27. Kendal AP, Pereira MS, Skehel JJ. *Concepts and procedures for laboratory-based influenza surveillance*. Atlanta, GA: WHO Collaborating Center for Influenza, CDC, 1982.
28. 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.
29. 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.
30. van Elden LJ, van Kraaij MG, Nijhus M, Hendriksen KA, Dekker AW, Rozeneg-Arska M, van Loon AM. Polymerase chain reaction is more sensitive than viral culture and antigen testing for the detection of respiratory viruses in adults with hematological cancer and pneumonia. *Clin Infect Dis* 2002;34(2):177-83.
31. 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.
32. 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.
33. Pregliasco F, Mensi C, Camorali L, Anselmi G. Comparisons of RT-PCR with other diagnostic assays for rapid detection of influenza viruses. *J Med Virol* 1998;56:168-73.
34. 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).
35. 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.
36. Yamada A, Imanishi J, Nakajima E, Nakajima K, Nakajima S. Detection of influenza viruses in throat swab by using polymerase chain reaction. *Microbiol Immunol* 1991;35:259-65.
37. Ruest A, Michaud S, Deslandes S, Frost EH. Comparison of the Directigen flu A+B test, the QuickVue Influenza test and clinical case definition to viral culture and reverse transcription-PCR for rapid diagnosis of influenza virus infection. *J Clin Microbiol* 2003;41(8):3487-93.

38. Chan KH, Maldeis N, Pope W, Yup A, Ozinskas A, Gill J, Seto WH, Shortridge KF, Peiris JS. Evaluation of the Directigen Flu A+B test for rapid diagnosis of influenza virus type A and B infections. *J Clin Microbiol* 2002;40(5):1675-80.
39. Reina J, Padilla E, Alonso F, Ruiz De Gopegui E, Munar M, Mari M. Evaluation of a new dot blot enzyme immunoassay (Directigen Flu A+B) for simultaneous and differential detection of influenza A and B virus antigens from respiratory samples. *J Clin Microbiol* 2002;40(9):3515-7.
40. 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.
41. Tippmann HF. Analysis for free: comparing programs for sequence analysis. *Brief Bioinform* 2004;5(1):82-7.
42. Takezaky N. Tie trees generated by distance methods of phylogenetic reconstruction. *Mol Biol Evol* 1998;15(6):727-37.
43. Tajima F. A simple graphic method for reconstructing phylogenetic trees from molecular data. *Mol Biol Evol* 1990;7(6):578-88.
44. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992;152-70.
45. Saitou M, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987;4:406-25.
46. Kilbourne ED. Molecular epidemiology-influenza as archetype. *Harvey Lect* 1979;73:225-58

APPENDICE
Protocollo operativo (stagione 2007-2008)
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 2007-2008.

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 influenzata 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 o a vaccinazione.

I cambiamenti a carico di queste due proteine virali possono essere di diversa intensità; diversi sono anche i meccanismi molecolari che li determinano e la gravità delle manifestazioni morbose che ne derivano:

Drift antigenico:

- porta alla comparsa di varianti antigeniche minori, a seguito di mutazioni puntiformi che alterano la sequenza degli aminoacidi di cui sono composte le due proteine;
- è un fenomeno comune a tutti i tipi (A, B, e C) e sottotipi virali (A/H3N2, A/H1N1);
- è responsabile delle epidemie stagionali.

Shift antigenico:

- è un fenomeno esclusivo di virus di tipo A;
- consiste nella comparsa nell'uomo di nuovi sottotipi antigenici, non circolanti precedentemente nella specie umana e quindi dotati di elevato potenziale pandemico (rapida diffusione nella popolazione mondiale, indipendentemente dall'età e dalla situazione vaccinale);
- è la conseguenza di riassortimenti genetici tra virus umani e animali (aviari), che si verificano principalmente nel corso di infezioni miste, in ospiti intermedi (specie suina). Occasionalmente, tuttavia, si può avere un passaggio diretto di virus aviari all'uomo, come avvenuto nel 1997 ad Hong Kong (trasmissione di virus A/H5N1 dal pollo all'uomo) e come si sta verificando, dal dicembre 2003, nell'area del sud-est asiatico e in altri Paesi distribuiti in zone diverse dell'Europa e dell'Africa. Da tale data ad oggi, il virus dell'influenza aviaria A/H5N1 ha infettato più di 250 persone, provocando 147 decessi.

Risulta dunque evidente, che per realizzare una efficace azione di controllo della malattia attraverso l'immunoprofilassi vaccinale, occorre procedere ad un continuo aggiornamento della composizione del vaccino, in relazione alla comparsa di nuove varianti virali. Questa revisione è resa possibile grazie all'attività di sorveglianza virologica dell'influenza, che è svolta da una rete di laboratori in tutto il mondo e che rimane il punto cardine del Programma Mondiale di Sorveglianza dell'Influenza dell'OMS.

Il sistema di sorveglianza sentinella italiano si inserisce in questo contesto mondiale di attività di sorveglianza accorpando, a livello nazionale, il monitoraggio virologico a quello clinico. Il Centro Nazionale di riferimento (NIC), che ha sede presso il Dipartimento "Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate" (MIPI), Reparto "Malattie virali e vaccini inattivati" dell'ISS, è coadiuvato da una rete di laboratori periferici distribuiti sul territorio nazionale.

Ampliamento della rete di sorveglianza virologica

Nel 2007 è stato avviato un Progetto congiunto Ministero Salute – CCM / ISS – NIC dal titolo “Costruzione ed implementazione di una rete di laboratori per la sorveglianza virologica dell’influenza, con particolare riferimento alla diagnostica dei virus influenzali con potenziale pandemico”. Tale Progetto rientra in quanto previsto nel Piano Nazionale di Preparazione e Risposta ad una Pandemia Influenzale (PNP). Infatti, tra le azioni chiave del PNP da mettere in campo per limitare/ritardare la diffusione di un’infezione sostenuta da un nuovo ceppo virale, è previsto l’ampliamento dell’esistente rete di laboratori Influnet (vedi Allegato 8). Tale rete può diventare insufficiente in periodo di allerta pandemico (durante il quale è prevista un’estensione della sorveglianza a tutti i mesi dell’anno) e in periodo pandemico (durante il quale le attività di sorveglianza virologica sono finalizzate a monitorare le caratteristiche del virus e la presenza di eventuali modifiche genomiche), sia per numero di laboratori coinvolti, sia per rappresentatività geografica ed anche per livello di competenza tecnica. Infatti, in periodo pandemico la missione della rete non è più o soltanto la individuazione delle varianti antigeniche ai fini vaccinali, ma una rapida, precoce ed efficiente diagnosi di laboratorio di nuovi ceppi virali influenzali. Per tale motivo, il CCM e l’ISS hanno sviluppato un Progetto finalizzato all’individuazione e arruolamento di nuovi laboratori nell’ambito della già esistente rete di sorveglianza al fine di ampliare la copertura geografica della rete di sorveglianza già esistente. In una prima fase, in collaborazione con Regioni e P.A., si è provveduto all’individuazione di nuovi laboratori potenzialmente in grado di essere inseriti nella attuale Rete Influnet, in base al possesso di determinati requisiti richiesti (strutture di biocontenimento, competenze ed attrezzature laboratoristiche, ecc). La verifica è avvenuta preliminarmente anche attraverso la somministrazione di un questionario ai laboratori individuati dalle regioni. Tutti i laboratori individuati saranno validati attraverso un controllo di qualità (QCA) finalizzato a verificare il livello di competenza tecnica per la diagnosi di virus influenzali epidemici e pandemici. Una importante fase del Progetto è rappresentata dall’avvio di uno specifico programma di formazione/addestramento tecnico, allo scopo di migliorare le capacità di diagnosi rapida sui campioni biologici da pazienti con sospetta infezione da virus influenzali potenzialmente pandemici. Tale Progetto di addestramento/formazione prevederà inoltre la costituzione di un gruppo di formatori tecnico-laboratoristici, addestrati a verificare periodicamente il livello di competenza tecnica e aggiornamento metodologico dei laboratori e del personale dei laboratori individuati.

2.2. Obiettivi

2.2.1. In periodo interpandemico

- Verificare la circolazione di virus influenzali, mediante esami di Laboratorio su campioni clinici prelevati dai pazienti con sintomatologia influenzale, da parte di medici sentinella segnalatori.
- Caratterizzare, sia da un punto di vista antigenico che molecolare, i ceppi virali circolanti in periodo epidemico, valutando il grado di omologia antigenica tra ceppi circolanti nella popolazione e ceppi vaccinali.
- Aggiornare costantemente le metodiche avanzate di diagnostica rapida e differenziale, messe a punto per l’identificazione tempestiva di eventuali casi italiani di influenza pandemica, con lo scopo di ottenerne un ulteriore aumento in sensibilità e una riduzione dei tempi di esecuzione.
- Allestire materiali di riferimento (antigeni, antisieri e acidi nucleici e/o primer da utilizzare nei test molecolari), da distribuire ai laboratori partecipanti al programma.
- Fornire valutazioni tecniche relative a dispositivi diagnostici commerciali, da utilizzare per la diagnosi rapida di virus influenzali aviari.
- Fornire agli Organismi Internazionali (OMS, Agenzia Europea del Farmaco - EMEA) dati utili all’aggiornamento della composizione vaccinale.

2.2.2. In situazioni di emergenza pandemica

- Disporre di una rete di medici sentinella, distribuiti su tutto il territorio nazionale, in grado di fronteggiare la diffusione della pandemia, identificando tempestivamente e circoscrivendo i primi focolai di infezione. A questo proposito, si sottolinea che la capacità di risposta di un Paese ad una

emergenza pandemica è fortemente influenzata dall'esistenza di una attività sistematica di sorveglianza clinico/virologica condotta annualmente. È quindi importante mantenere attiva ed, eventualmente, potenziare la rete dei medici sentinella in anni di circolazione epidemica o subepidemica di Influenza.

- Proseguire la valutazione delle capacità diagnostiche della rete dei laboratori periferici mediante un programma di controllo di qualità (QCA) e perfezionarne, ove necessario, i livelli di competenza tecnica, attraverso opportuni corsi di formazione e di addestramento tecnico del personale, da svolgersi presso il NIC.

2.3. Metodi

2.3.1. Periodo di osservazione e raccolta dei campioni clinici

Il monitoraggio della circolazione dei virus influenzali sarà effettuato a partire dalla 46° settimana 2007 e si protrarrà per l'intero periodo di sorveglianza.

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

Per la raccolta, potrà essere utilizzato un Kit diagnostico (Virocult), seguendo semplici istruzioni (**Allegato 6**) e compilando, per ciascun campione prelevato, il "Modulo dati paziente", contenente le informazioni relative alla data del prelievo, le iniziali del paziente, il sesso, l'età e la sua situazione vaccinale (**Allegato 7**).

2.3.2. Analisi dei campioni e strutture laboratoristiche coinvolte

I campioni clinici raccolti dai medici sono inviati ai laboratori virologici regionali. Le Regioni sprovviste di Laboratorio di riferimento potranno far ricorso ai laboratori di altre Regioni, se disponibili o, per quanto possibile, ai Laboratori dell'ISS e del CIRI.

Tutte le identificazioni o isolamenti di virus sono segnalati al NIC presso il Dipartimento MIPI, Reparto "Malattie virali e vaccini inattivati" dell'ISS.

Le indagini di laboratorio saranno condotte con modalità e metodologie diverse, secondo quanto già concordato con i laboratori (**Allegato 8**) partecipanti al programma.

2.3.3. Flusso dei dati

I risultati nazionali delle indagini virologiche saranno resi pubblici in forma aggregata e anonima, unitamente a quelli epidemiologici, attraverso l'aggiornamento settimanale del sito Internet del Ministero della Salute (www.ministerosalute.it).

2.3.4. Comunicazione dei dati virologici a livello internazionale

Come negli anni precedenti, i risultati della sorveglianza virologica 2007/2008 saranno comunicati settimanalmente all'OMS, nonché ai Paesi facenti parte della rete europea EUROGROG ed EISS.

I dati relativi alle caratteristiche antigeniche dei ceppi virali italiani saranno discussi a Ginevra (OMS) e a Londra (EMEA) per l'aggiornamento della composizione del vaccino utilizzabile nella successiva stagione 2008-2009.

Allegato 5

ELENCO DELLE SETTIMANE DI SORVEGLIANZA

Settimana	dal	Al
2006-42	15-ott-07	21-ott-07
2006-43	22-ott-07	28-ott-07
2006-44	29-ott-07	4-nov-07
2006-45	5-nov-07	11-nov-07
2006-46	12-nov-07	18-nov-07
2006-47	19-nov-07	25-nov-07
2006-48	26-nov-07	2-dic-07
2006-49	3-dic-07	9-dic-07
2006-50	10-dic-07	16-dic-07
2006-51	17-dic-07	23-dic-07
2006-52	24-dic-07	30-dic-07
2007-01	31-dic-07	6-gen-08
2007-02	7-gen-08	13-gen-08
2007-03	14-gen-08	20-gen-08
2007-04	21-gen-08	27-gen-08
2007-05	28-gen-08	3-feb-08
2007-06	4-feb-08	10-feb-08
2007-07	11-feb-08	17-feb-08
2007-08	18-feb-08	24-feb-08
2007-09	25-feb-08	2-mar-08
2007-10	3-mar-08	9-mar-08
2007-11	10-mar-08	16-mar-08
2007-12	17-mar-08	23-mar-08
2007-13	24-mar-08	30-mar-08
2007-14	31-mar-08	6-apr-08
2007-15	7-apr-08	13-apr-08
2007-16	14-apr-08	20-apr-08
2007-17	21-apr-08	27-apr-08

Allegato 6

Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia Stagione 2007/2008

PROTOCOLLO OPERATIVO PER LA RACCOLTA DI CAMPIONI CLINICI

Lo scopo delle indagini virologiche è quello di verificare la circolazione dei virus influenzali nella popolazione. Tale attività sarà svolta a partire dalla 46a settimana e si protrarrà per l'intero periodo dello studio.

Il campione clinico (tamponi faringeo) dovrà essere prelevato durante la fase acuta dell'infezione (presenza di febbre elevata). Per il prelievo sarà utilizzato il materiale fornito dall'ISS, secondo le modalità di seguito riportate:

IMPORTANTE: Conservare accuratamente il "Biotainer" (scatola di cartone) preetichettato, ricevuto dall'ISS, che dovrà essere utilizzato per la spedizione al laboratorio di riferimento.

Prelievo del tampone faringeo

1. Rimuovere l'involucro del Virocult contenente il tamponcino e la provetta di trasporto;
2. Portare il tampone a contatto con la parte posteriore della gola e cercare di far aderire al tampone frammenti di essudato, esercitando un'adeguata pressione e un lieve movimento di raschiamento;
3. Rimuovere il tappo della provetta e inserirvi il tamponcino;
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 tamponcino venga bagnato dal terreno;
6. Conservare a +4°C, fino al momento della consegna al corriere. *

Registrazione dati

1. Riportare sull'allegato "Modulo dati paziente" le informazioni richieste.

Spedizione

1. Porre le provette contenenti i tamponi faringei nell'apposito tubo di plastica, accertandosi che il tappo sia ben avvitato;
2. Inserire il tubo di plastica nell'apposito "Biotainer" (scatola di cartone);
3. Porre il "Modulo dati paziente", completo dei dati richiesti, nell'apposita tasca esterna del "Biotainer", già etichettato ;
4. Inviare al Laboratorio di Riferimento (Regionale o ISS).

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

Allegato 7

Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia Stagione 2007/2008

DATI MEDICO

COGNOME e NOME (iniziali): _____

INDIRIZZO: _____

EVENTUALE CODICE REGIONALE: _____

STRUTTURA LABORATORISTICA DI RIFERIMENTO: _____

DATI PAZIENTI

Iniziali paziente	Sesso	Età	Data prelievo	Vaccinato	Note
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
				Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	

Allegato 8

Laboratori inseriti nel sistema di sorveglianza virologica

Laboratori di 1° livello della rete per la sorveglianza virologica dell'influenza

1. Istituto di Virologia, Università di Milano, CIRI-IV
(Dott. F. Pregliasco)
2. Dipartimento di Scienze di Medicina Pubblica, Università di Trieste, CIRI-IV
(Prof. C. Campello)
3. Dipartimento Diagnostica di laboratorio, Laboratorio di Virologia, Ospedale Amedeo di Savoia, Torino
(Dott. P.G. Pistono)
4. Dipartimento di Istologia, Microbiologia e Biotecnologie Mediche, Università di Padova
(Prof. G. Palù)
5. Dipartimento di Fisiopatologia, Medicina Sperimentale e sanità Pubblica, Università di Siena
(Prof. E. Montomoli)
6. Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Sezione Igiene, Università di Palermo, CIRI-IV
(Prof. F. Vitale)
7. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali, Università di Lecce, CIRI-IV
(Dott.ssa De Donno)
8. ASL Centro Sud, Lab. di Microbiologia e Virologia, Bolzano
(Dott.ssa C. Larcher)
9. Dipartimento di Sanità Pubblica, Università di Parma
(Prof.ssa M.L. Tanzi)
10. Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica, Lab. di Virologia, Università di Firenze
(Prof.ssa A. Azzi)
11. Dipartimento Igiene e Sanità Pubblica, Università di Perugia
(Prof.ssa A.M. Iorio)
12. Istituto di Microbiologia, Università Cattolica "S. Cuore", Roma
(Prof.ssa P. Cattani)
13. Dipartimento di Scienze Mediche Preventive, Università di Napoli
(Prof.ssa M.Triassi)
14. Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Sassari
(Prof.ssa A. Dolei)

Laboratori di 2° livello della rete per la sorveglianza virologica dell'influenza

- Centro Nazionale per l'Influenza, Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità
(Dott.ssa I. Donatelli)
- CIRI-IV, Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Genova
(Prof. P. Crovari)

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Tipografia Facciotti srl
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

Roma, luglio-settembre 2008 (n. 3) 6° Suppl.