

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

CENTRO NAZIONALE INFLUENZA

**Sorveglianza virologica dell'influenza
in Italia (stagione 2001-2002)
Rapporto preliminare**

A cura di
Isabella Donatelli, Chiara Affinito, Concetta Fabiani,
Simone Fiaccavento e Simona Puzelli

Laboratorio di Virologia

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

02/10

Istituto Superiore di Sanità

Centro Nazionale Influenza. Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia (stagione 2001-2002). Rapporto preliminare.

A cura di Isabella Donatelli, Chiara Affinito, Concetta Fabiani, Simone Fiaccavento e Simona Puzelli
2002, iii, 26 p. Rapporti ISTISAN 02/10

L'influenza è una delle più antiche e delle più comuni malattie infettive conosciute. Ogni anno l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) riunisce esperti sull'influenza per decidere la composizione del vaccino antinfluenzale per l'inverno successivo. Il sistema di sorveglianza dell'influenza si avvale di una rete di Centri nazionali, distribuiti in tutto il mondo, che forniscono dati sulla circolazione dei virus influenzali all'OMS. L'attività di tali Centri permette l'identificazione precoce delle varianti virali emergenti e la valutazione antigenica e molecolare del grado di variazione acquisita dai virus influenzali circolanti nella popolazione. Vengono qui riportati i dati virologici presentati e discussi al meeting annuale organizzato dall'OMS di Ginevra e che hanno portato alla definizione della composizione del vaccino utilizzabile per la stagione 2002-2003. Durante il meeting, è stato preso in considerazione anche il recente isolamento di un nuovo sottotipo virale, A/H1N2.

Parole chiave: Virus influenzale, Vaccinazione, Italia

Istituto Superiore di Sanità

National Influenza Centre. Virological influenza surveillance in Italy (2001-2002 season). Preliminary report.

Edited by Isabella Donatelli, Chiara Affinito, Concetta Fabiani, Simone Fiaccavento and Simona Puzelli
2002, iii, 26 p. Rapporti ISTISAN 02/10 (in Italian)

Influenza is one of the oldest and most common diseases known to man. Every year, the World Health Organization (WHO) brings together international influenza experts to decide the composition of the influenza vaccine for the incoming winter. The influenza surveillance system is based on reports from National Influenza Centres, scattered throughout the world, to WHO. The network activity allows the timely identification of viral variants 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 virological data discussed during the WHO February meeting held in Geneva that led to the definition of the influenza vaccine composition for 2002-2003 season. During the meeting, experts considered the recent isolation of a new subtype of influenza A, A/H1N2, too.

Key words: Influenza virus, Vaccination, Italy

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

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

a) Laboratori periferici

Università di Genova
Dipartimento di Scienze della Salute: *Pietro Crovari, Roberto Gasparini*

Università di Milano
Istituto di Virologia: *Fabrizio Pregliasco*

Università di Trieste
Istituto di Igiene e Medicina Preventiva: *Cesare Campello*

Università di Parma
Istituto di Igiene: *Maria Luisa Tanzi*

Università di Siena
Istituto di Igiene: *Emanuele Montomoli*

Università di Firenze
Istituto di Igiene: *Alberta Azzi*

Università di Perugia
Dipartimento di Igiene: *Anna Maria Iorio*

Università di Lecce
Laboratorio di Igiene - Dipartimento di Biologia: *Giovanni Gabutti*

Università di Palermo
Dipartimento di Igiene e Microbiologia: *Nino Romano*

Università di Sassari
Dipartimento di Scienze Biomediche: *Antonina Dolei*

Università di Napoli "Federico II"
Dipartimento di Scienze Mediche e Preventive: *Gabriella Ribera*

Ospedale "Amedeo di Savoia"
Laboratorio di Virologia, Torino: *Giancarlo Paggi*

Università Cattolica "Sacro Cuore"
Istituto di Microbiologia, Roma: *Anna Rossi*

Azienda Sanitaria ASL Centro Sud
Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Bolzano: *Francesco Rizza*

L'attività dei Laboratori sopraelencati rientra nell'ambito dei seguenti programmi:

- Progetto ISS "Infezioni da virus influenzali umani ed animali: aspetti clinici, epidemiologici, patogenetici e molecolari", finanziato con una quota 1% del Fondo Sanitario Nazionale per l'anno 1998 (disponibile sul sito www.flu.iss.it).
- Progetto ISS "Valutazione virologica ed epidemiologica della circolazione dell'influenza in Italia", finanziato con una quota 1% del Fondo Sanitario Nazionale per l'anno 1999.

b) Medici sentinella afferenti al Servizio Sanitario Regionale coordinati direttamente dall'ISS

Basilicata

Agneta Antonio, Belmonete Rocco, Buchicchio Cosimo, Buono Tommaso, Digilio Margherita, Fanelli Pasquale, Giliberti Enrico, LaVecchia Antonietta, LaSala Clementina, Orlando Raffaele, Santarsiero Margherita, Sileo Maria, Spina Ciro, Stoja Rocco.

I campioni raccolti sono stati analizzati presso il Centro Universitario di Lecce.

Lazio

Amatucci Stanislao, Azzolini Micheline, Bevilacqua Stefano, Borelli Massimo, Bosco Renato, Candiloro Enrico, Carnevale Flora Rita, Caroselli Antonio, Ciracò Maria del Carmen, Cirelli A.Vittoria, Colistra Claudio, Corongiu Maria, Costantini AnnaMaria, D'Annibale Francesco, DiMauro Caterina, Donato Giuseppe, Finzi Massimo, Fiorillo Alfonso, Frittaion Fabio, Galieti Luigi, Giancaspro Giuseppe, Lanni Roberto, Mangoni Angelo, Mangullo Angelo, Marchionne Maurizio, Maretto Giancarlo, Marotta Gianuario, Mario Gallieno, Milani Luigi, Morano Donatella, Nardelli Marco, Natili Tommaso, Nobile Antonio, Nuccetelli Danilo, Pace Stefano, Palleschi Fausto, Palma Fabrizio, Parrotta RosaMaria, Pezzarossa Anna, Piazza Loredana, Pietricola Elio, Pizzutelli Caterina, Pontone Garavaldi Serafino, Radicchi Giovanni, Reali Laura, Scholl Maurizio, Scolamiero Liliana, Scorletti Antonio, Serafini Maria Angela, Sisti Tiziana, Valente Michele, Verginelli Antonio, Vignolini Sandro, Zito Calogero.

I campioni raccolti sono stati analizzati presso l'Università Cattolica di Roma.

Provincia autonoma di Trento

Andrenacci Albina, Bonetti Carlo, Chesani Fabio, Dalla Piccola Paolo, DellaGiacoma MariaLuisa, Maronato Gianni, Mosna ClaraMaria, Paoli Nicola, Piccoli Dario, Scalfi Claudio, Spagolli Fulvio, Torelli GianAntonio.

Valle d'Aosta

Albanese Fernando, Bessolo Luciano, Biamonti Claudio, Cavurina Rosanna, Fiorenza Patrizia, Gorraz Fulvio, Lanutti Maria, Rebagliati Mario, Rosset Roberto, Salvatorelli Sauro.

La sorveglianza epidemiologica dell'influenza è stata curata da:

Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Reparto Malattie Infettive
Stefania Salmaso, Antonino Bella, Barbara De Mei, Stefania Giannitelli, Donatella Mandolini, Maria Cristina Rota

Nel presente rapporto viene presentata una succinta sintesi dei dati relativi al monitoraggio clinico della malattia. I risultati completi, nazionali e ripartiti per regione, nonché i protocolli tecnici e tutte le modalità operative del sistema di sorveglianza epidemiologica saranno descritti separatamente in un successivo rapporto.

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

Direzione Generale della Prevenzione del Ministero della Salute
Dina De Stefano Caraffa, Loredana Vellucci, Anna Prete, Stefania D'Amato

INDICE

Introduzione	1
Sintesi dei dati del Centro Nazionale Influenza	2
Sorveglianza virologica	2
Organizzazione e strutture coinvolte.....	2
Metodologie di diagnosi virologica e caratterizzazione antigenica degli isolati virali.....	3
Risultati relativi alla sorveglianza in Italia	4
Sorveglianza clinico-epidemiologica	9
Comunicazione dei dati virologici ed epidemiologici	10
Quadro della circolazione dei virus influenzali nel mondo	11
Sottotipo riassortante A/H1N2	14
Caratteristiche antigeniche degli isolamenti virali più recenti.....	14
Sottotipo A/H1N1	14
Sottotipo A/H3N2.....	15
Sottotipo riassortante A/H1N2.....	16
Tipo B	16
Caratterizzazione molecolare degli isolati virali	17
Bibliografia	20
Appendice	
Sintesi delle raccomandazioni dell'OMS relative alla vaccinazione antinfluenzale	23

INTRODUZIONE

L'influenza, malattia virale estremamente contagiosa, è ancora oggi, su scala mondiale, una delle più diffuse malattie infettive nell'uomo; essa costituisce un problema sanitario di dimensioni mondiali e di non facile soluzione, a causa dei notevoli costi sociali ed economici ad essa associati (spesa farmaceutica, assistenza sanitaria, ospedalizzazioni per complicanze post-influenzali, assenteismo scolastico e lavorativo).

L'influenza si presenta principalmente con una sintomatologia acuta a carico del sistema respiratorio superiore, anche se sintomi di tipo generalizzato, come febbre elevata, cefalea, mialgia e malessere, fanno comunemente parte del quadro clinico.

Uno degli aspetti peculiari dei virus influenzali è la capacità di modificarsi e di generare ceppi varianti verso i quali la popolazione risulta indifesa; questo fenomeno spiega perché l'influenza possa ripetutamente colpire la popolazione e causare ricorrenti epidemie.

I virus influenzali, come tutti gli agenti virali, non sono sensibili all'azione degli antibiotici; tali farmaci risultano, infatti, inefficaci nel combattere l'influenza, ma possono e anzi devono essere impiegati per il trattamento delle eventuali complicanze batteriche post-influenzali. Sono disponibili in commercio farmaci antinfluenzali specifici che rappresentano un'utile integrazione alla vaccinoprofilassi per il controllo dell'influenza (1-11).

La vaccinazione antinfluenzale costituisce a tutt'oggi il metodo d'elezione per la lotta contro tale patologia. L'immunoprofilassi vaccinale viene effettuata annualmente nel nostro Paese nell'ambito di specifiche campagne di vaccinazione, promosse dal Ministero della Salute e dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS). La vaccinazione avviene su base volontaria ed è particolarmente raccomandata per alcune categorie a rischio di gravi complicanze post-influenzali, come anziani, broncopneumopatici, cardiopatici, pazienti immunocompromessi (12-16).

L'identificazione precoce delle nuove varianti virali circolanti permette di intraprendere misure appropriate e tempestive in risposta ad epidemie influenzali di una certa entità; a tal fine, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha istituito fin dal 1948 una rete di Centri nazionali, distribuiti in tutto il mondo.

L'aggiornamento annuale del vaccino antinfluenzale rappresenta l'obiettivo prioritario del Programma Mondiale di Sorveglianza dell'Influenza, coordinato dall'OMS attraverso i suoi 4 Centri internazionali di riferimento (Atlanta, Londra, Melbourne, Tokyo).

La composizione del vaccino antinfluenzale è fissata ogni anno durante un incontro internazionale organizzato dall'OMS che si svolge a Ginevra, nel mese di febbraio; nell'ambito di tale incontro, sulla base delle informazioni epidemiologiche, virologiche e sierologiche raccolte dai Centri nazionali, vengono formulate le raccomandazioni relative alla composizione del vaccino utilizzabile nella stagione successiva.

Sono di seguito riportati i principali dati presentati al meeting del 6 febbraio 2002, che hanno portato alla definizione della nuova composizione del vaccino per la stagione 2002-2003 nell'emisfero settentrionale.

SINTESI DEI DATI DEL CENTRO NAZIONALE INFLUENZA

In questa sezione vengono riportati i dati relativi alla sorveglianza dell'influenza in Italia aggiornati alla 10^a settimana 2002 e presentati, nel corso del meeting annuale dell'OMS svoltosi a Ginevra il 6 febbraio 2002, dal Laboratorio di Virologia dell'ISS, che funge da Centro nazionale di riferimento nell'ambito del programma mondiale per la sorveglianza dell'influenza.

Sorveglianza virologica

Organizzazione e strutture coinvolte

La sorveglianza virologica nella stagione 2001-2002 si è basata sull'attività dei Laboratori periferici, che collaborano con l'ISS e che sono qui di seguito elencati:

- Università di Genova: Dipartimento di Scienze della Salute;
- Università di Milano: Istituto di Virologia;
- Università di Trieste: Istituto di Igiene e Medicina Preventiva;
- Università di Parma: Istituto di Igiene;
- Università di Siena: Istituto di Igiene;
- Università di Firenze: Istituto di Igiene;
- Università di Perugia: Dipartimento di Igiene;
- Università di Lecce: Laboratorio di Igiene, Dipartimento di Biologia;
- Università di Palermo: Dipartimento di Igiene e Microbiologia;
- Università di Sassari: Dipartimento di Scienze Biomediche;
- Università Cattolica "Sacro Cuore", Roma: Istituto di Microbiologia;
- Ospedale "Amedeo di Savoia", Torino: Laboratorio di Virologia;
- Università di Napoli "Federico II": Dipartimento di Scienze Mediche e Preventive*;
- Azienda Sanitaria ASL Centro Sud, Bolzano: Laboratorio di Microbiologia e Virologia*.

Anche quest'anno la partecipazione di un numero ristretto di medici sentinella alle indagini di laboratorio ha permesso di estendere il monitoraggio virologico a quelle Regioni sprovviste di strutture laboratoristiche di riferimento (Provincia autonoma di Trento, Valle d'Aosta, Basilicata, Calabria). Ogni Regione ha individuato i medici che hanno dato la disponibilità alla raccolta di un numero limitato (massimo 3) di campioni biologici, che sono stati inviati presso il Centro diagnostico di riferimento.

La rete dei medici sentinella è stata, come in passato, coordinata dall'ISS (Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica) e dal Centro Interuniversitario di Ricerca sull'Influenza (CIRI), costituito dalle Università di Milano e di Genova.

Il Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica ha coordinato le Regioni: Basilicata, Campania, Emilia Romagna, Lazio, Marche, Piemonte, Province autonome di Trento e Bolzano, Sardegna, Valle d'Aosta e Veneto.

Il CIRI ha coordinato le Regioni: Abruzzo, Calabria, Friuli-Venezia Giulia, Liguria, Lombardia, Puglia, Sicilia, Toscana e Umbria.

* Nuovi Centri attivati nella stagione 2001-2002

Le modalità di svolgimento della sorveglianza virologica ed epidemiologica sono state sancite dalla Conferenza Stato-Regioni (seduta del 28 settembre 2000).

L'attività di sorveglianza virologica ha avuto inizio nella 46^a settimana del 2001 (12-18 novembre).

Metodologie di diagnosi virologica e caratterizzazione antigenica degli isolati virali

I campioni clinici utilizzati per la ricerca del virus influenzale o dei suoi costituenti sono rappresentati da tamponi faringei, prelevati durante la fase acuta dell'infezione caratterizzata dalla presenza di febbre elevata.

Per la raccolta dei campioni clinici è stato utilizzato un kit diagnostico fornito dall'ISS, il quale ha anche provveduto all'invio e al ritiro degli stessi, o dall'eventuale laboratorio di riferimento regionale.

Per la ricerca dei virus influenzali nei campioni biologici si è fatto ricorso all'isolamento virale in coltura e/o all'identificazione di componenti virali.

- ◆ Per l'*isolamento* virale sono state utilizzate:
 - colture cellulari di rene di cane (MDCK) (17-18)
e/o
 - uova embrionate di pollo (19).

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 (HI), utilizzando antisieri policlonali prodotti in pollo e/o furetto nel Laboratorio di Virologia dell'ISS (20-22).

- ◆ 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
(reazione di PCR di tipo "multiplex", preceduta da trascrizione inversa) (23-30);
 - Directigen FLU-A
(saggio immunoenzimatico su membrana, per la ricerca qualitativa e rapida dell'antigene virale NP dell'influenza A, direttamente nei campioni clinici (31-32);
 - Quickvue
(saggio immunoenzimatico per la ricerca qualitativa e rapida dell'antigene virale NP dell'influenza A e B).

Nella Tabella 1 sono indicate le sequenze nucleotidiche usate come *primer* nel test RT-PCR.

Tabella 1. Sequenza nucleotidica degli oligonucleotidi sintetici usati come *primer* per la tipizzazione e sottotipizzazione dei virus influenzali

Gene	Primer	Sequenza (5' ® 3')
A/NP	A/NP/8/1 A/NP/522/2	GCAG GGTAGATAATCACTCAC GAGAGCACATTCTGGGGTCC
A/HA (H3)	A/H3/342/1 A/H3/1123/2	TCCCTTAGGTCAGTTGC CCGTCTACCATTCCCTCCCA
A/HA (H1)	A/H1/303/1 A/H1/1117/2	AAATCATGGTCCTACATTGCAGAAA ATCATTCCAGTCCATCCCCCTCAAT
B/HA	B/HA/A B/HA/DII	GTGACTGGTGTGATACCACT TGTTTTCACCCATATGGGC

Risultati relativi alla sorveglianza in Italia

Il monitoraggio virologico è stato eseguito nel periodo compreso tra la 46^a settimana (12-18 novembre 2001) e la 10^a settimana (4-10 marzo 2002). In totale sono stati analizzati, dai Centri Universitari di collaborazione e dal Laboratorio di Virologia dell'ISS, 1429 campioni; di questi 292 sono risultati positivi (Tabella 2).

Tabella 2. Virus influenzali isolati e/o identificati in Italia nella stagione 2001-2002, su un totale di 1429 campioni clinici raccolti (dati aggiornati al 10 marzo 2002)

Tipizzati	Non sottotipizzati	Sottotipizzati	Varianti antigeniche prevalenti
A 47 (16%)	5	H3N2 41	A/Moscow/10/99
		H1N1 1	A/NewCaledonia/20/99
B 245 (84%)			B/Sichuan/379/99 B/Hong kong/330/01 (B/Victoria/2/87-like)

Il primo caso confermato in Laboratorio (Genova) è stato registrato nella 48^a settimana (26 novembre - 2 dicembre 2001), su un campione prelevato da un bimbo di Milano.

Il virus isolato è risultato appartenere al tipo B (Figura 1).

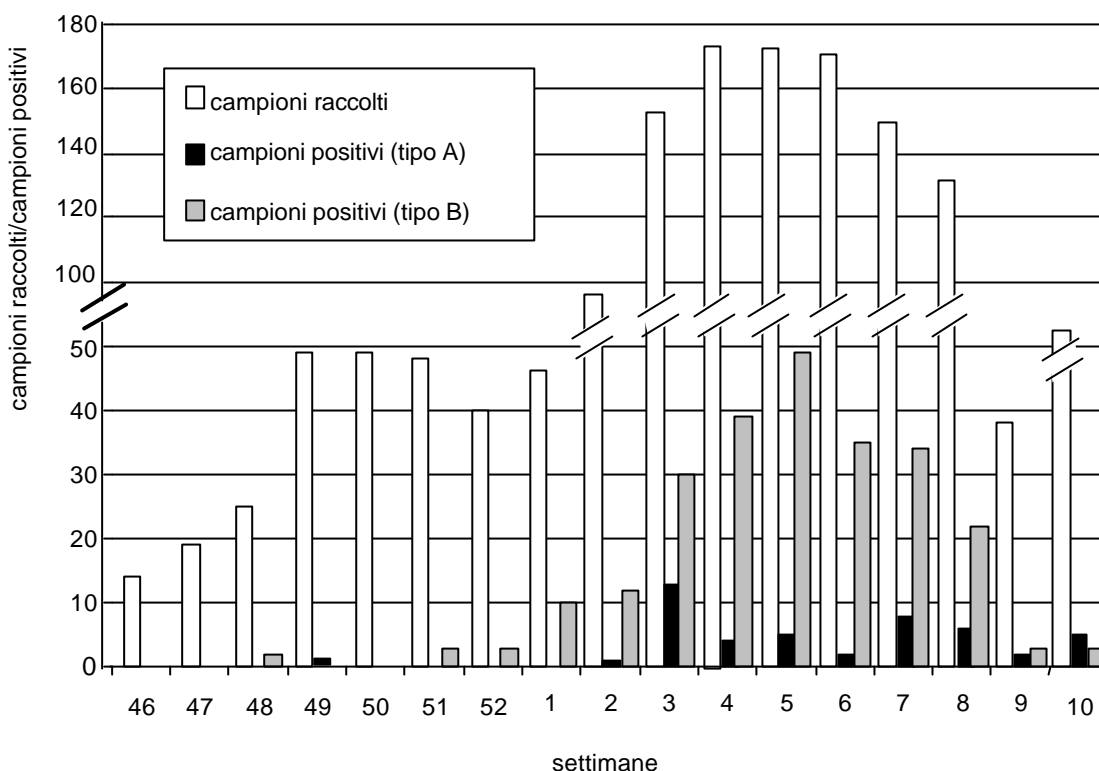


Figura 1. Distribuzione settimanale dei campioni raccolti e dei campioni positivi durante la stagione influenzale 2001-2002

Le settimane successive sono state caratterizzate dall'isolamento di virus influenzali segnalati da alcuni Centri Universitari periferici, quali i Laboratori di Firenze, Genova, Lecce, Milano, Parma, Perugia, Roma, Trieste e dal Laboratorio di Virologia dell'ISS.

La caratterizzazione antigenica dei campioni isolati ha evidenziato una netta prevalenza di virus influenzali di tipo B (84,2%).

Nell'ambito del tipo A, si è registrata una esclusiva circolazione del sottotipo A/H3N2.

Dai dati riportati nella Tabella 3 risulta evidente il maggior grado di reattività degli isolati italiani verso il siero prodotto contro il ceppo vaccinale A/Moscow/10/99 e/o i ceppi A/Toulouse/878/01 e A/Hong Kong/734/01, antigenicamente indistinguibili dall'A/Moscow/10/99, ma isolati più recentemente.

Un solo virus, identificato nella 3^a settimana (14-20 gennaio 2002), in un campione prelevato a Trieste da un paziente di 6 anni, è risultato appartenere al sottotipo A/H1N1, antigenicamente simile al ceppo A/Madagascar/57794/00, considerato indistinguibile dal ceppo vaccinale A/New Caledonia/20/99 (Tabella 4).

Tabella 3. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali A/H3N2 isolati in Italia mediante test di inibizione dell'emagglutinazione (HI)

Virus	A/NC 933/95	A/Syd 5/97	A/Mosc 10/99	A/Pan 2007/99	A/Toul 878/01	A/HK 734/01	Data prelievo	Età (anni)
A/NC/933/95^a	2560	320	320	320	160	160		
A/Syd/5/97^b	160	5120	2560	5120	2560	2560		
A/Mosc/10/99^c	<	1280	5120	1280	1280	1280		
A/Pan/2007/99^d	160	5120	2560	5120	5120	5120		
A/Toul/878/01^e	<	320	320	320	640	640		
A/HK/734/01^f	<	320	1280	640	640	640		
A/Trieste/2/02	40	2560	2560	2560	5120	2560	gen/02	38
A/Trieste/3/02	<	640	640	640	1280	640	gen/02	4
A/Trieste/4/02	40	2560	5120	2560	5120	2560	feb/02	4
A/Trieste/5/02	160	640	1280	1280	1280	1280	feb/02	5
A/Firenze/1/02	<	640	640	1280	1280	640	feb/02	46
A/Firenze/3/02	<	640	640	1280	1280	640	feb/02	88
A/Parma/2/02	160	640	1280	1280	640	640	feb/02	36
A/Parma/3/02	<	320	640	320	320	320	feb/02	1,5
A/Parma/4/02	80	1280	2560	2560	2560	2560	feb/02	30

a A/Nanchang/933/95

b A/Sydney/5/97

c A/Moscow/10/99 (ceppo vaccinale 2001-2002)

d A/Panama2007/99

e A/Toulouse/878/01 (ceppo circolante nella stagione 2001-2002, indistinguibile dal ceppo vaccinale)

f A/Hong Kong/734/01 (ceppo circolante nella stagione 2001-2002, indistinguibile dal ceppo vaccinale)

<: <40

Tabella 4. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali A/H1N1 isolati in Italia mediante test di inibizione dell'emagglutinazione (HI)

Virus	A/Bay 7/95	A/Beij 262/96	A/NC 20/99	A/HK 1252/00	A/Mad 57794/00	Data prelievo	Età (anni)
A/Bay/7/95^a	5120	160	80	<	40		
A/Beij/262/96^b	160	1280	640	160	640		
A/NC/20/99^c	<	160	1280	160	640		
A/HK/1252/00^d	<	<	160	1280	160		
A/Mad/57794/00^e	40	160	1280	160	1280		
A/Trieste/1/02	<	80	320	80	640	gen/02	6

a A/Bayern/7/95

b A/Beijing/262/96

c A/New Caledonia/20/99 (ceppo vaccinale 2001-2002)

d A/Hong Kong/1252/00

e A/Madagascar/57794/00 (ceppo circolante nella stagione 2001-2002, indistinguibile dal ceppo vaccinale)

<: <40

La tipizzazione sierologica dei virus B isolati (Tabella 5), ha mostrato, invece, per alcuni un consistente grado di omologia con il ceppo vaccinale B/Sichuan/379/99, per altri una stretta correlazione antigenica con il ceppo B/Hong Kong/330/01, simile ad una vecchia variante, B/Victoria/2/87, considerato una variante antigenica rispetto al ceppo vaccinale B/Sichuan/379/99.

Tabella 5. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali B isolati in Italia mediante test di inibizione dell'emagglutinazione (HI)

Virus	Lineaggio B/Victoria/2/87			Lineaggio B/Sichuan/379/99				Data prelievo	Età (anni)
	B/Shan 7/97	B/HK 333/01	B/Hi 10/01	B/Jobg 5/99	B/Sich 379/99	B/Gd 120/00	B/Shiz 15/01		
Victoria - like									
B/Shan/7/97 ^a	320	160	160	<	<	<	<		
B/HK/330/01 ^b	160	320	160	<	<	<	<		
B/Hi/10/01 ^c	160	160	320	<	<	<	<		
Sichuan - like									
B/Jobg/5/99 ^d	<	<	<	320	640	320	160		
B/Sich/379/99 ^e	<	<	<	320	640	320	320		
B/Gd/120/00 ^f	<	<	<	320	640	640	640		
B/Shiz/15/01 ^g	<	<	<	80	160	80	160		
B/Parma/6/02	<	<	<	160	80	640	640	24/1/02	8
B/Parma/30/02	<	<	<	160	320	320	640	feb/02	4
B/Milano/4/02	<	<	<	160	80	160	640	4/2/02	4
B/Aosta/1/02	<	<	<	160	80	160	320	15/1/02	20
B/Roma/1/02	<	<	<	80	80	80	640	31/1/02	37
B/Firenze/1/02	<	<	<	160	160	320	320	dic/01	63
B/Firenze/9/02	<	<	<	160	320	320	320	feb/02	57
B/Lazio/4/02	<	<	<	160	160	320	320	gen/02	30
B/Lazio/15/02	<	<	<	160	80	80	640	feb/02	10
B/Genova/3/02	<	<	<	160	160	320	320	gen/02	7
B/Genova/5/02	<	<	<	160	80	320	320	15/01/02	3
B/Trieste/7/02	<	<	<	320	320	640	640	gen/02	45
B/Trieste/22/02	<	<	<	160	80	160	320	feb/02	8
B/Parma/23/02	80	320	80	<	<	<	<	31/1/02	6
B/Parma/24/02	80	160	80	<	<	<	<	1/2/02	14
B/Parma/25/02	40	160	40	<	<	<	<	1/2/02	11
B/Parma/28/02	80	320	80	<	<	<	<	7/2/02	6
B/Milano/1/02	80	80	40	<	<	<	<	dic/01	11
B/Milano/5/02	80	160	80	<	<	<	<	6/2/02	8
B/Genova/1/01	160	160	80	<	<	<	<	20/12/01	12
B/Genova/2/02	40	80	40	<	<	<	<	8/1/02	5
B/Genova/4/02	160	160	80	<	<	<	<	27/11/01	8
B/Genova/7/02	80	160	80	<	<	<	<	17/1/02	14
B/Genova/8/02	40	80	40	<	<	<	<	22/1/02	11
B/Lazio/7/02	40	80	80	<	<	<	<	23/1/02	12
B/Trieste/12/02	40	160	40	<	<	<	<	gen/02	12

a B/Shandong/7/97

b B/Hong Kong/330/01 (nuova variante antigenica)

c B/Hawaii/10/01

d B/Johannesburg/5/99

e B/Sichuan/379/99 (ceppo vaccinale 2001-2002)

f B/Guandong/120/00

g B/Shizuoka/15/01

<: < 40

Il 5% dei virus sono stati isolati o identificati da pazienti vaccinati. La distribuzione per classi di età dei pazienti risultati positivi alla diagnosi di Laboratorio ha evidenziato che la fascia di età più colpita dall'infezione è quella compresa tra 5 e 14 anni (Tabella 6 e Figura 2).

Tabella 6. Distribuzione per classi di età dei campioni raccolti e dei campioni positivi

Classi età (anni)	N. campioni raccolti	Tipo A (%)	Tipo B(%)
< 5	358	16 (4,5 %)	38 (10,6 %)
5-14	386	5 (1,3 %)	92 (24 %)
15-44	359	16 (4,4 %)	70 (19 %)
45-64	84	4 (4,7 %)	16 (19 %)
≥ 65	45	2 (4,4%)	3 (6,6 %)
Dato non fornito	197	4 (26 %)	26 (13,2 %)
Totale	1429	47 (3,3 %)	245 (17,1 %)

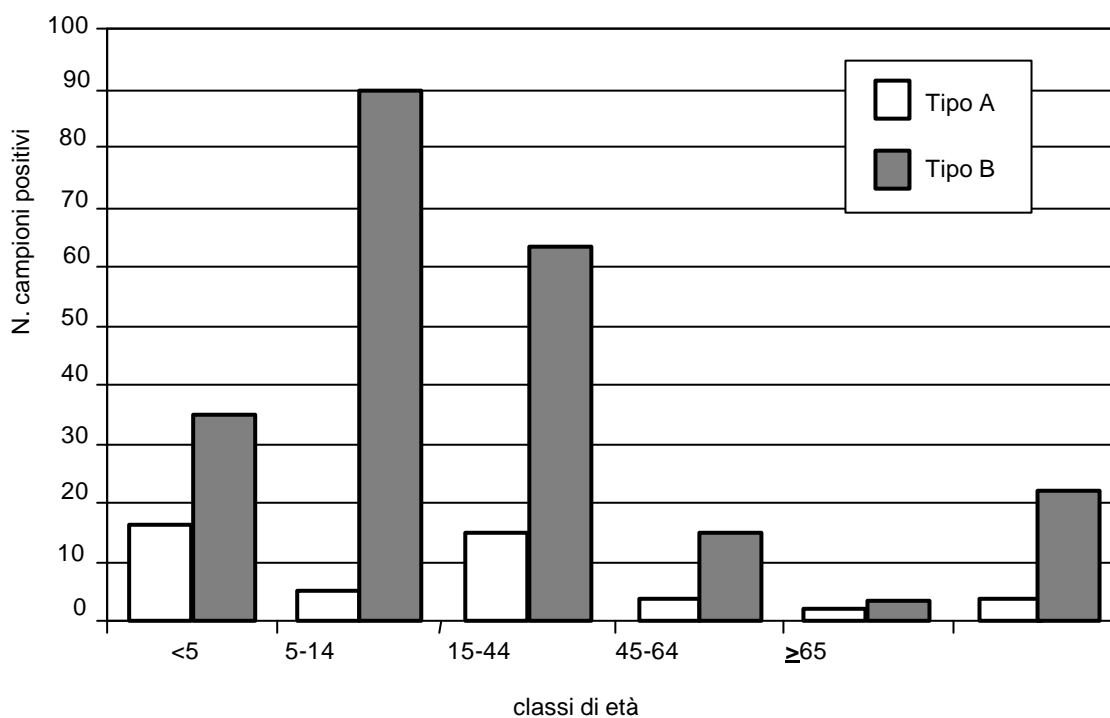


Figura 2. Distribuzione per classi di età dei campioni positivi

Sorveglianza clinico-epidemiologica

La sorveglianza clinico-epidemiologica dell'influenza, coordinata dal Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica dell'ISS, è iniziata il 15 ottobre 2001 (42^a settimana).

Nella stagione 2001-2002 il tasso di incidenza della sindrome influenzale (espressa come numero di casi per 1000 assistiti per settimana) si è mantenuto a livelli molto bassi fino alla 51^a settimana del 2001. Dalla 52^a settimana l'incidenza totale ha iniziato ad aumentare in modo costante fino a raggiungere il picco (8,7 casi per 1000 assistiti) nella 5^a settimana del 2002.

Analizzando i dati per singole fasce di età, si osserva che l'andamento dell'incidenza nel tempo è stato molto simile nelle tre classi d'età, 0-14, 15-64 e oltre 64, anche se con valori differenti. Infatti, nella fascia d'età 0-14 anni e 14-64 il massimo valore è stato raggiunto nella 5^a settimana del 2002, con rispettivamente 27,5 e 6,6 casi di sindrome influenzale per 1000 assistiti, mentre nella fascia di età oltre 64 anni il picco è stato raggiunto nella 7^a settimana con 2,7 casi per 1000 assistiti.

Il confronto con i dati relativi alle stagioni 1999-2000 e 2000-2001 evidenzia che quest'anno l'incidenza totale ha raggiunto valori intermedi rispetto a quelli delle due stagioni precedenti e che l'andamento temporale dell'epidemia è praticamente sovrapponibile a quello della scorsa stagione (Figura 3).

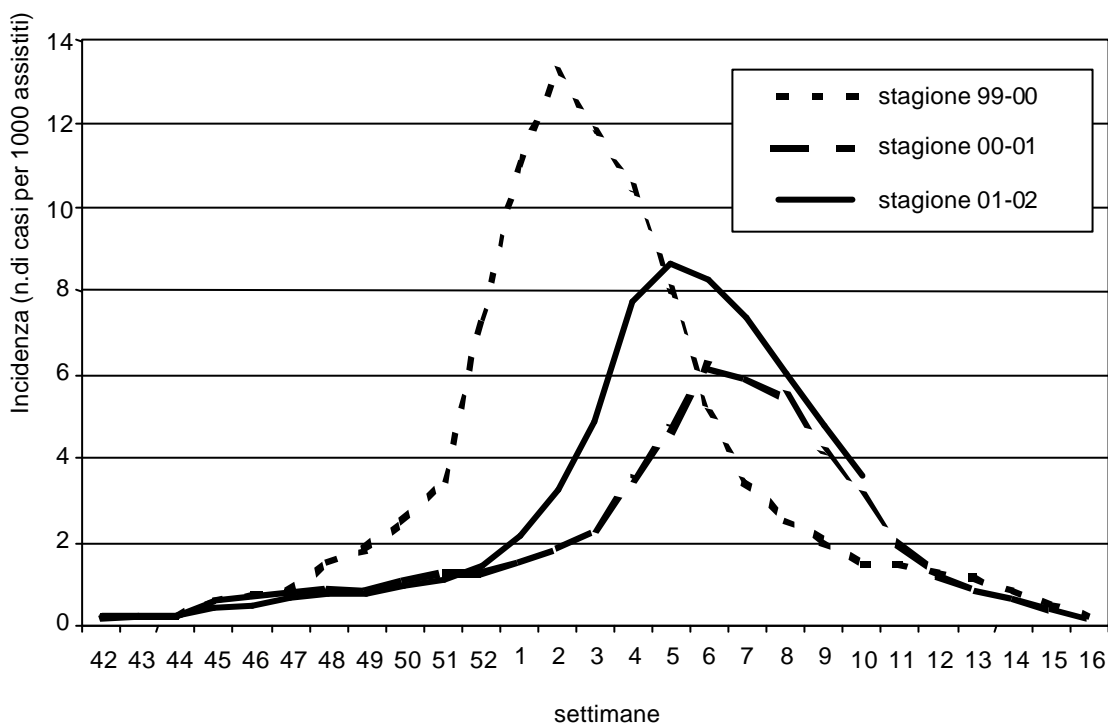


Figura 3. Incidenza nelle stagioni 1999-2000, 2000-2001 e 2001-2002

Comunicazione dei dati virologici ed epidemiologici

I risultati dei dati virologici sono resi pubblici attraverso l'aggiornamento settimanale del sito Web dell'ISS (www.flu.iss.it) e nel sito Web realizzato dal centro CIRI e dal Ministero della Salute (www.influnet.it).

Settimanalmente, inoltre, i dati vengono comunicati all'OMS di Ginevra (www.oms2.b3e.jussieu.fr/flunet), nonché ai Paesi facenti parte dei network europei (EuroGROG, European GROG – Groupes Régionaux d'Observation de la Grippe, www.grog.org; EISS – European Influenza Surveillance Scheme, www.eiss.org).

QUADRO DELLA CIRCOLAZIONE DEI VIRUS INFLUENZALI NEL MONDO

Nel periodo compreso tra il mese ottobre 2001 e l'inizio di febbraio 2002, l'attività influenzale è stata complessivamente moderata in Africa, America, Europa e Oceania.

Un graduale aumento dell'attività influenzale è stato osservato a partire da novembre in Europa, Nord America e Asia.

Virus influenzali appartenenti sia al tipo A che al tipo B hanno co-circolato, con diversa prevalenza nei vari Paesi.

Il sottotipo A/H3N2 è risultato dominante in America (Canada e USA), Asia (Cina e Giappone) e in alcuni Paesi europei (Belgio, Francia, Germania, Inghilterra, Norvegia, Romania, Spagna).

I virus di tipo B hanno circolato, insieme a quelli di sottotipo A/H3N2, in America (Canada e Paraguay), Asia (Hong Kong, India, Giappone, Filippine e Singapore), Europa (Austria, Belgio, Francia, Italia, Spagna, Olanda, Finlandia, Svizzera, Slovacchia, Slovenia, Israele, Federazione Russa) e Oceania (Nuova Zelanda).

La circolazione del sottotipo A/H1N1 è risultata, invece, del tutto sporadica ovunque, ad eccezione del Giappone, dove sono stati segnalati focolai associati a tale sottotipo verso fine dicembre.

Numerosi Paesi hanno segnalato isolamenti di virus influenzali del tipo A senza fornire dati sulla sottotipizzazione.

Nelle Figure 4 e 5 viene messo a confronto il numero di isolamenti virali che si sono avuti nella stagione passata ed in quella corrente.

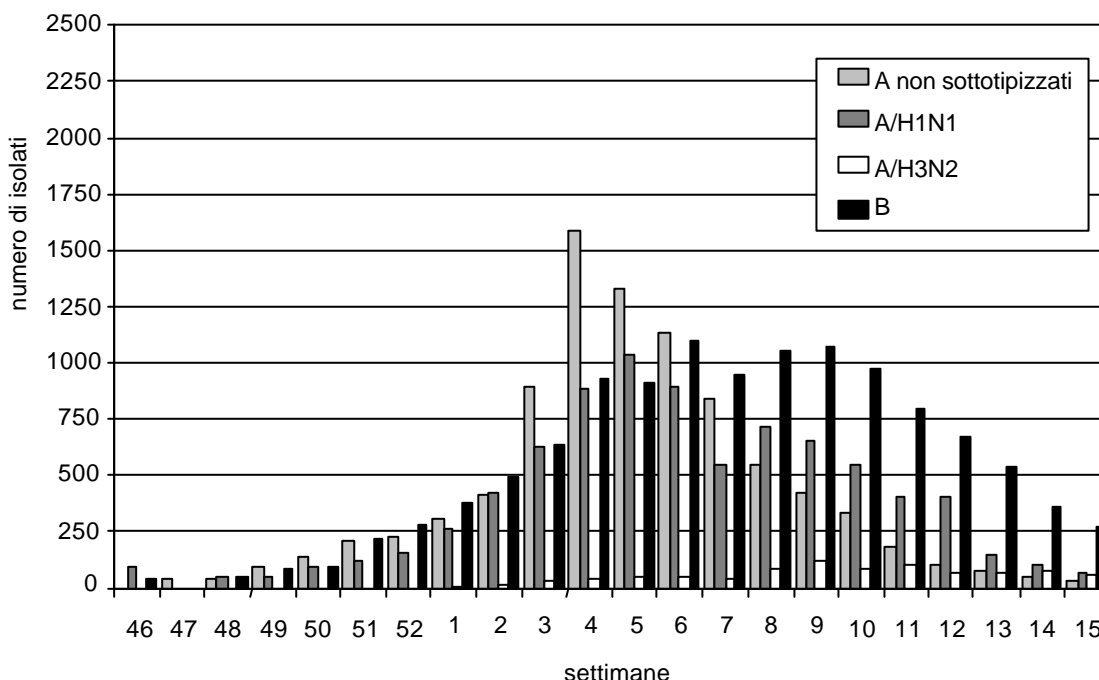


Figura 4. Virus isolati nel mondo nella stagione 2000-2001

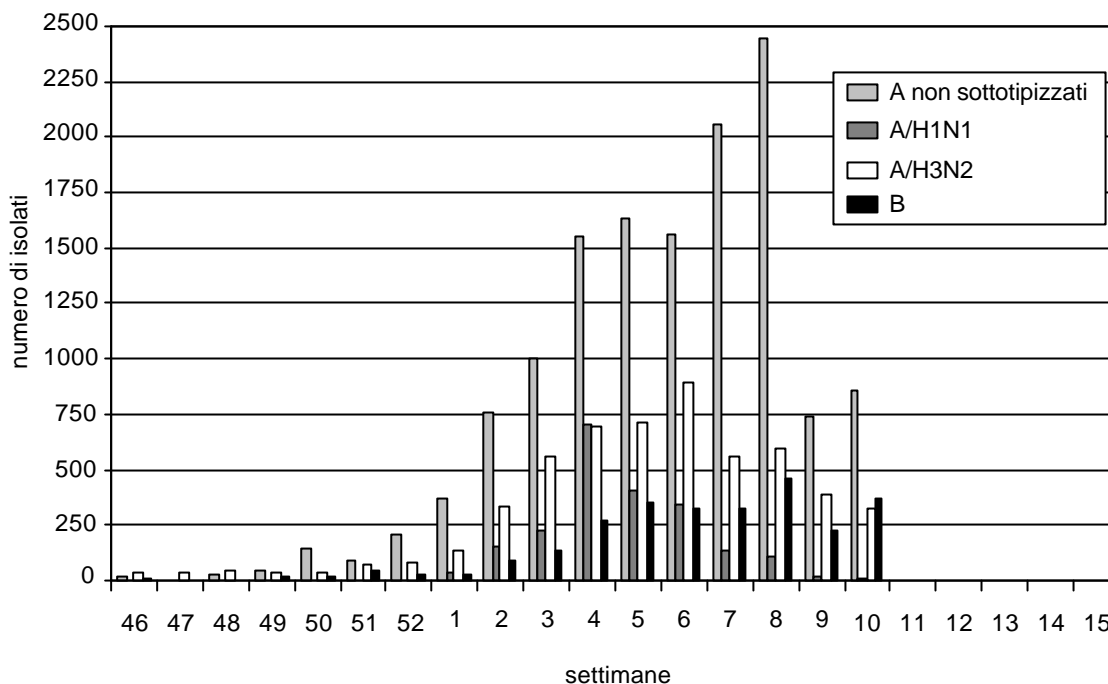


Figura 5. Virus isolati nel mondo nella stagione 2001-2002

Nella maggior parte dei Paesi, i bambini ed i giovani adulti sono risultati i più colpiti dal virus influenzale.

Nelle Tabelle 7-10, vengono riportati i dati relativi alla diffusione geografica dei diversi tipi e sottotipi antigenici identificati.

In ogni tabella viene presa in considerazione anche la circolazione dei virus influenzali nel periodo estivo.

Tabella 7. Distribuzione geografica della circolazione di virus influenzali appartenenti al sottotipo A/H1N1

Area geografica	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus A/H1N1 n.
Africa	2 Egitto, Sud Africa
America	2 Canada, USA
Asia	8 Cina, Filippine, Giappone, Hong Kong, Repubblica Islamica dell'Iran, Repubblica di Corea, Singapore, Thailandia
Europa	13 Bulgaria, Croazia, Federazione Russa, Finlandia, Francia, Irlanda, Israele, Italia, Portogallo, Spagna, Regno Unito, Romania, Ucraina
Oceania	2 Australia, Nuova Zelanda
Totale	27

Tabella 8. Distribuzione geografica della circolazione di virus influenzali appartenenti al sottotipo A/H3N2

Area geografica	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus A/H3N2 n.
Africa	2 Egitto, Senegal
America	6 Argentina, Canada, Guyana, Messico, Perù, USA
Asia	8 Cina, Giappone, Hong Kong, Filippine, Repubblica di Corea, Singapore, Thailandia, Tunisia
Europa	22 Bulgaria, Croazia, Danimarca, Finlandia, Francia, Federazione Russa, Germania, Irlanda, Islanda, Israele, Italia, Lituania, Olanda, Norvegia, Portogallo, Regno Unito, Repubblica Ceca, Romania, Slovacchia, Spagna, Svizzera, Ucraina
Oceania	2 Australia, Nuova Zelanda
Totale	40

Tabella 9. Distribuzione geografica della circolazione di virus influenzali appartenenti al tipo A, non sottotipizzati

Area geografica	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus influenzali di tipo A n.
Africa	0
America	8 Argentina, Brasile, Canada, Cile, Guyana, Messico, Paraguay, USA
Asia	1 Hong Kong
Europa	22 Austria, Belgio, Bielorussia, Croazia, Danimarca, Federazione Russa, Finlandia, Francia, Germania, Irlanda, Islanda, Italia, Lituania, Norvegia, Regno Unito, Repubblica Ceca, Repubblica Federale Jugoslava, Romania, Slovenia, Spagna, Svizzera, Ucraina
Oceania	2 Australia, Nuova Caledonia
Totale	33

Tabella 10. Distribuzione geografica della circolazione di virus influenzali appartenenti al tipo B

Area geografica	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus influenzali di tipo B n.
Africa	1 Egitto
America	8 Argentina, Canada, Cile, Ecuador, Messico, Paraguay, Perù, USA
Asia	7 Giappone, Cina, Hong Kong, Oman, Filippine, Singapore, Thailandia
Europa	23 Austria, Belgio, Bielorussia, Croazia, Federazione Russa, Finlandia, Francia, Germania, Israele, Italia, Lituania, Norvegia, Olanda, Portogallo, Repubblica Ceca, Repubblica Federale Jugoslava, Regno Unito, Romania, Slovacchia, Slovenia, Spagna, Svizzera, Ucraina
Oceania	2 Australia, Nuova Zelanda
Totale	41

Sottotipo riassortante A/H1N2

Il 6 febbraio 2002, l'OMS ha reso noto l'isolamento di virus di sottotipo A/H1N2, che hanno circolato, tra settembre 2001 e febbraio 2002, in Canada, India, Malesia, Oman, Singapore, Francia, Inghilterra, Israele ed Egitto. A questi ceppi ne vanno aggiunti altri identificati in campioni raccolti tra luglio e dicembre 2001 in Texas, Nevada e Wisconsin (Tabella 11).

Tabella 11. Distribuzione geografica della circolazione di virus influenzali appartenenti al sottotipo A/H1N2 ed isolati recentemente

Area geografica	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus influenzali di tipo A n.	
Africa	1	Egitto
America	2	Canada, USA
Asia	4	India, Singapore, Malesia, Oman
Europa	3	Francia, Regno Unito, Israele
Totale	10	

Casi simili si erano avuti tra dicembre 1988 e marzo 1989, quando 19 virus A/H1N2 erano stati isolati da pazienti residenti in differenti città della Cina (33); la circolazione di tale ceppo, tuttavia, rimase all'epoca limitata e negli anni successivi non ne venne evidenziata la diffusione.

I virus appartenenti a questo nuovo sottotipo virale sembrerebbero derivare da fenomeni di riassortimento genetico tra virus A/H3N2 e A/H1N1 che si verificano nel corso di infezioni multiple nello stesso individuo.

Il ceppo A/H1N2 non è molto differente dai virus attualmente circolanti; la glicoproteina H1, infatti, risulta simile a quella dei virus A/H1N1, mentre la proteina N2 ed i restanti 6 geni sono somiglianti a quelli dei ceppi A/H3N2.

I dati raccolti indicano che anche i sintomi clinici provocati da questa nuova variante sono indistinguibili da quelli tipici dei sottotipi A/H3N2 ed A/H1N1.

Caratteristiche antigeniche degli isolamenti virali più recenti

Sottotipo A/H1N1

Come mostrato nelle Tabelle 12 e 13, la maggior parte dei ceppi influenzali appartenenti al sottotipo A/H1N1, isolati in pochissimi Paesi, hanno mostrato una stretta correlazione antigenica con il ceppo A/New Caledonia/20/99, contenuto nel corrente vaccino antinfluenzale.

Tabella 12. Prevalenza geografica delle diverse varianti antigeniche A/H1N1

Varianti antigeniche	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus influenzali A/H1N1 n.	
A/New Caledonia/20/99 (ceppo influenzale contenuto nel vaccino 2000-2001)	8	Canada, USA , Italia, Regno Unito, Finlandia, Australia, Cina, Hong Kong

Tabella 13. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali A/H1N1 mediante test di inibizione dell'emagglutinazione (HI)

Virus	A/WH/371/95	A/Bay/7/95	A/JHB/82/96	A/NC/20/99	Data prelievo	Età (anni)
A/WH/371/95^a	1280	320	80	80		
A/Bay/7/95^b	80	5120	640	1280		
A/JHB/82/96^c	80	640	2560	2560		
A/NC/20/99^d	160	5120	5120	5120		
A/Eng/108/01	40	<	<	640	16/01/01	88
A/Eng/689/01	40	<	<	1280	21/12/01	1
A/Eng/691/01	80	40	<	1280	18/12/01	1
A/Eng/2/02	80	<	<	2560	4/01/02	>65

^aA/Wuhan/371/95

^bA/Bayern/7/95

^cA/Johannesburg/82/96

^dA/NewCaledonia/20/99 (ceppo vaccinale 2001-2002)

<: <40

Sottotipo A/H3N2

I virus appartenenti al sottotipo A/H3N2, identificati in gran parte dei Paesi, sono risultati antigenicamente simili al ceppo vaccinale A/Moscow/10/99, contenuto nel vaccino 2001-2002 o al ceppo A/Panama/2007/99, considerato antigenicamente indistinguibile dal ceppo A/Moscow/10/99 (Tabella 14). La caratterizzazione antigenica non ha evidenziato nessuna variazione di rilievo (Tabella 15).

Tabella 14. Prevalenza geografica delle diverse varianti antigeniche A/H3N2

Varianti antigeniche	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus influenzali A/H3N2 n.	
A/Moscow/10/99 (ceppo influenzale contenuto nel vaccino 2001-2002)	6	Danimarca, Olanda, Svizzera, Lettonia, Federazione Russa, Australia
A/Panama/2007/99 (variante antigenica circolante nella stagione 2001-2002)	14	Argentina, Canada, Perù, USA, Francia, Norvegia, Regno Unito, Spagna, Svizzera, Cina, Giappone, Hong Kong, Repubblica di Corea, Singapore
Totale	20	

Tabella 15. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali A/H3N2 mediante test di inibizione dell'emagglutinazione (HI)

Virus	A/Ch/6416/01	A/Sing/26/01	A/Mosc/10/99	A/Pan/2007/99	Data prelievo	Età (anni)
A/Ch/6416/01^a	5120	640	640	320		
A/Sing/26/01^b	1280	5120	1280	640		
A/Mosc/10/99^c	1280	320	640	320		
A/Pan/2007/99^d	640	640	80	640		
A/Eng/686/01	5120	2560	160	1280	dic/01	1
A/Eng/687/01	5120	2560	2560	1280	dic/01	1
A/Eng/688/01	2560	5120	250	2560	dic/01	?
A/Eng/12/02	640	2560	2560	320	gen/02	?

^aA/Chile/6416/01

^bA/Singapore/26/01

^cA/Moscow/10/99 (ceppo vaccinale 2001-2002)

^dA/Panama/2007/99

Sottotipo riassortante A/H1N2

L'analisi antigenica e genetica degli isolati A/H1N2 ha mostrato una stretta correlazione con il ceppo vaccinale A/H1N1 A/New Caledonia/20/99 per quanto riguarda l'emagglutinina e con il ceppo vaccinale A/H3N2 A/Moscow/10/99, per quanto riguarda la neuraminidasi.

Tipo B

Nella Tabella 16 sono riportati i dati relativi ai virus B isolati in America, Asia ed Europa che sono apparsi antigenicamente correlati al ceppo B/Sichuan/379/99, contenuto nel vaccino 2001-2002. Tuttavia, un elevato numero di ceppi B isolati in Canada, Hong Kong, Giappone e casi sporadici riportati dall'Italia e dall'Olanda hanno mostrato una stretta omologia con la nuova variante B/Hong Kong/330/01 (Tabelle 16 e 17). Tale ceppo è considerato indistinguibile dal ceppo B/Victoria/2/87, circolante, dapprima sporadicamente, ma, negli ultimi anni, in maniera sempre più intensa e diffusa in Asia.

Tabella 16. Prevalenza geografica delle diverse varianti antigeniche B

Varianti antigeniche	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus influenzali A/H3N2 n.	
B/Sichuan/379/99 (ceppo influenzale contenuto nel vaccino 2001-2002)	17	Argentina, Canada, Ecuador, Messico, Perù, USA, Italia, Olanda, Norvegia, Slovacchia, Svizzera, Francia, Danimarca, Finlandia, Lettonia, Federazione Russa, Cina
B/Hong Kong/330/01 (B/Victoria/2/87 – like)	14	Canada, USA, Italia, Olanda, Svizzera, Norvegia, Cina, India, Filippine, Hong Kong, Singapore, Thailandia, Oman, Giappone
Totale	31	

Tabella 17. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali B mediante test di inibizione dell'emagglutinazione (HI)

Virus	B/Sich/379/99	B/Shand/7/97	B/HK/330/01
B/Sich/379/99^a	640	<10	<10
B/Shand/7/97^b	<10	320	1280
B/HK/330/01^c	<10	160	1280
B/Canada/29/02	<10	80	1280
B/Hong Kong/666/01	<10	160	1280
B/Philippines/105112/01	<10	40	640
B/India/77332/01	<10	40	640
B/Oman/16284/01	<10	80	640

^aB/Sichuan/379/99 (ceppo vaccinale 2001-2002)

^bB/Shandong/7/97

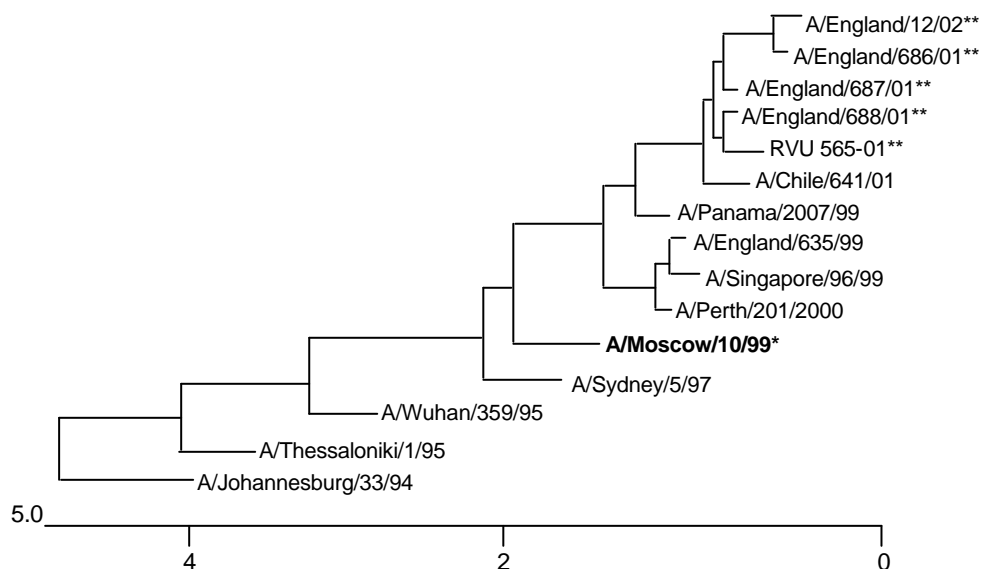
^cB/Hong Kong/330/01 (nuovo ceppo circolante nel 2001-2002)

Caratterizzazione molecolare degli isolati virali

Un ulteriore approfondimento delle caratteristiche dei virus circolanti, è stato effettuato attraverso il sequenziamento e il calcolo delle omologie a livello delle glicoproteine virali di superficie HA e NA e la costruzione di alberi filogenetici (34-38).

Come appresso descritto, tali analisi costituiscono un completamento del lavoro di caratterizzazione sierologica, anche se l'importanza clinico-epidemiologica di una variante antigenica è valutata, principalmente, dall'analisi sierologica e dai dati di cross-protezione.

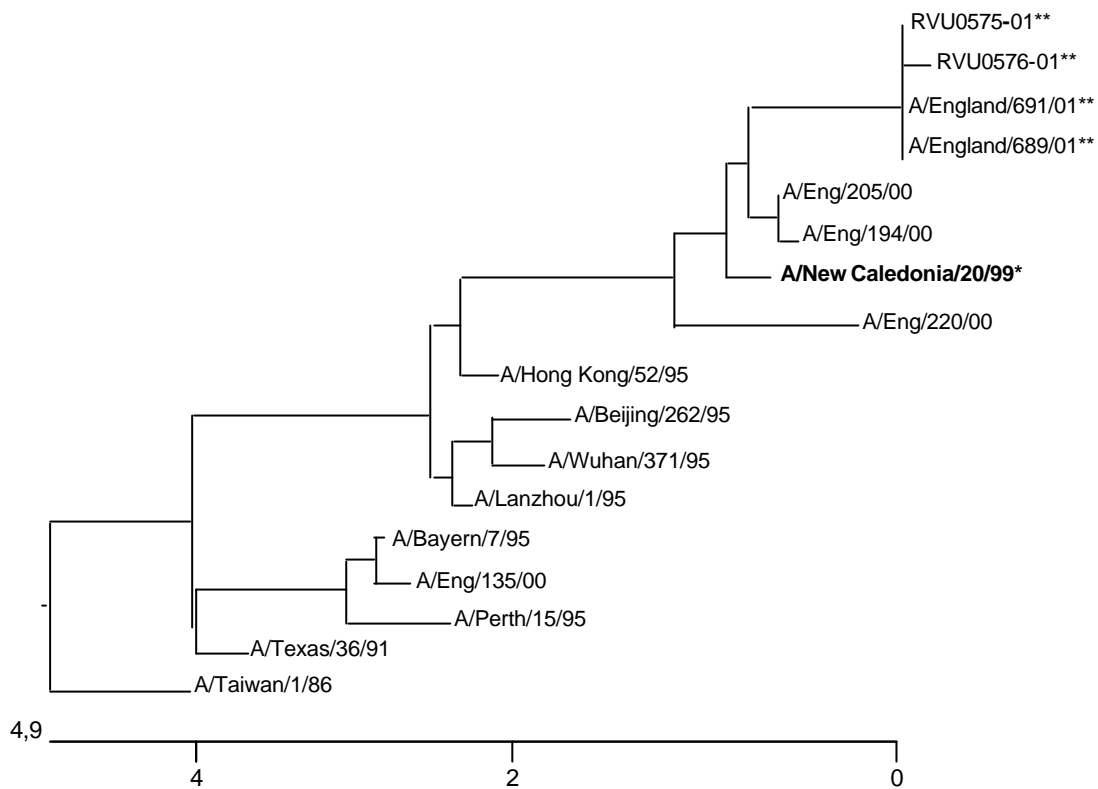
Le Figure 6 e 7 riportano gli alberi filogenetici relativi a virus A/H3N2 ed A/H1N1 isolati nel Regno Unito; da essi si rileva che i ceppi influenzali identificati quest'inverno sono molecularmente simili ai ceppi vaccinali A/Moscow/10/99 e A/New Caledonia/20/99.



* ceppo contenuto nel vaccino 2000-2001

** ceppi isolati nella stagione 2001-2002

Figura 6. Albero filogenetico relativo a virus A/H3N2 isolati nel Regno Unito

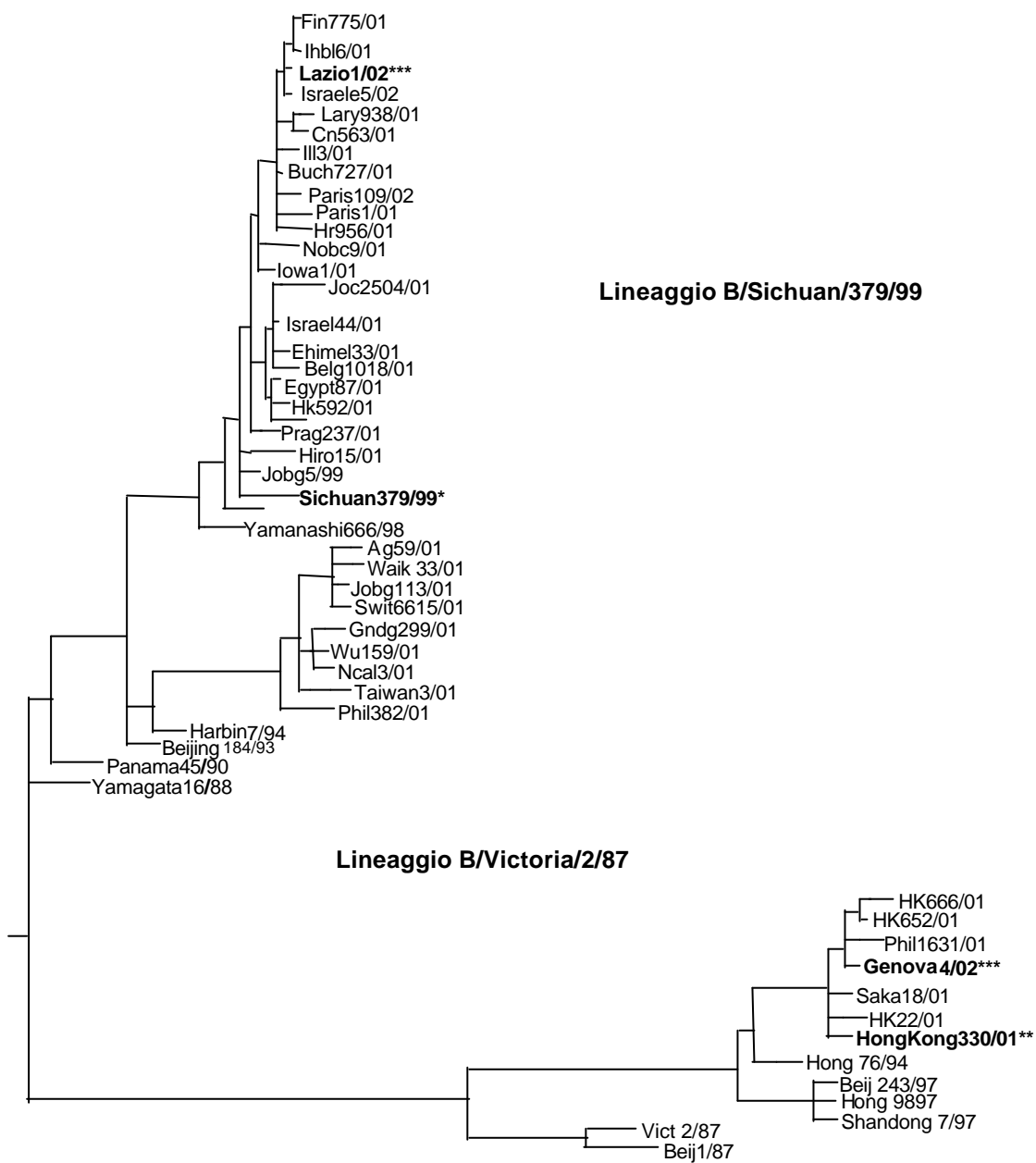


* ceppo contenuto nel vaccino 2000-2001
 ** ceppi isolati nella stagione 2001-2002

Figura 7. Albero filogenetico relativo a virus A/H1N1 isolati nel Regno Unito

Nella Figura 8 è rappresentato l'albero filogenetico dei ceppi B isolati in diversi Paesi del mondo, dal quale è possibile stabilire i rapporti evolutivi tra i vari virus analizzati.

Come già accennato nei precedenti paragrafi, molti dei ceppi isolati risultano molecolarmente correlati al ceppo vaccinale B/Sichuan/379/99, mentre altri appaiono simili alla nuova variante B/HongKong/330/01.



* ceppo contenuto nel vaccino 2000-2001
 ** nuova variante antigenica circolante nel 2001-2002
 *** ceppi isolati in Italia nella stagione 2001-2002

Figura 8. Albero filogenetico relativo a virus B isolati nel mondo

BIBLIOGRAFIA

- 1) Bricaire F, Cohen JM, Jacquet M, Boucot I, Nicolas M. Patient perspective on zanamivir in the treatment of influenza. *Int J Clin Pract* 2002;56(1):7-10.
- 2) McKimm-Breschkin JL. Neuraminidase inhibitors for the treatment and prevention of influenza. *Expert Opin Pharmacother* 2002;3(2):103-12.
- 3) Cheer SM, Wagstaff AJ. Zanamivir: an update of its use in influenza. *Drugs* 2002;62(1):71-106.
- 4) McGeer A. Oseltamivir was safe and effective for prophylaxis of influenza in the frail elderly. *ACP J Club* 2002;136(1):24.
- 5) Aoki FY, Doucette KE. Oseltamivir: a clinical and pharmacological perspective. *Expert Opin Pharmacoter* 2001;2(10):1671-83.
- 6) Karpf M, Trussardi R. New, azide free transformation of epoxides into 1,2- diamino compounds: synthesis of the anti-influenza neuraminidase Inhibitor oseltamivir phosphate (Tamiflu). *J Org Chem* 2001;66(6):2044-51.
- 7) McClellan, Perry CM. Oseltamivir: a review of its use in influenza. *Drugs* 2001;61 (2):263-83.
- 8) Smith BJ, Colman PM, Von Itzstein M, Danylec B, Varghese JN. Analysis of inhibitor binding in influenza virus neuraminidase. *Protein Sci* 2001;10(4):689-696.
- 9) Abdel-Magid AF, Maryanoff CA, Mehrman SJ. Synthesis of influenza neuraminidase inhibitors. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2001;4(6):776-91.
- 10) Laver WG, Bischofberger N, Webster RG. Sconfitti i virus dell'influenza. *Le Scienze* 1999;366:48-57.
- 11) Kim CU. Rational drug design of orally active influenza neuraminidase inhibitors: Discovery and development of GS 4104. *Med Chem Res* 1998;8(7-8):392-9.
- 12) 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.
- 13) Nathan RA, Geddes D, Woodhead M. Management of influenza in patients with asthma or chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001;87(6):447-54,487.
- 14) Snacken R. Influenza vaccination in the elderly. *Tijdschrift voor Geneeskunde* 1999;55(22):1591-3.
- 15) Sarnoff R, Rundall T. Meta-analysis of effectiveness of interventions to increase influenza immunization rates among high-risk population groups. *Med Care Res & Rev* 1998;55(4):432-56.
- 16) Rabella N, Rodriguez P, Labeaga R, Otegui M, Mercader M, Grungui M, Prats G. Conventional respiratory viruses recovered from immunocompromised patients: clinical considerations. *Clin Infect Dis* 1999;28(5):1043-8.
- 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) Meguro H, Bryant JD, Torrence AE, Wrigth PF. Canine Kidney Cell line for isolation of respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 1979;9:175-9.
- 19) 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.
- 20) 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.

- 21) 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.
- 22) Hirst GH. The quantitative determination of influenza virus and antibodies by means of red cell agglutination. *J Exp Med* 1942;75:47-64.
- 23) 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 (in corso di stampa).
- 24) van Elden LJ, van Kraaij MG, Nijhus M, Hendriksen KA, Dekker AW, Rozenerg-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.
- 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) 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.
- 28) 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).
- 29) 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.
- 30) 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.
- 31) Kaiser L, Briones MS, Hayden FG. Performance of virus isolation and Directigen FLU-A to detect influenza A virus in experimental human infection. *J Clin Virol* 1999;14(3):191-7.
- 32) Kathleen A, Ryan Poirier, Katz JM, Webster RG, Kawaoka Y. Application of Directigen FLU-A for the detection of influenza A virus in human and non-human specimens. *J Clin Microbiol* 1992;30:1072-5.
- 33) Li XS, Zhao CY, Gao HM, Zhang YQ, Ishida M, Kanegae Y, Endo A, Nerome R, Omoe K, Nerome K. Origin and evolutionary characteristics of antigenic reassortant influenza A(H1N2) viruses isolated from man in China. *J Gen Virol* 1992;73(Pt 6):1329-37.
- 34) Takezaky N. Tie trees generated by distance methods of phylogenetic reconstruction. *Mol Biol Evol* 1998;15(6):727-37.
- 35) Tajima F. A simple graphic method for reconstructing phylogenetic trees from molecular data. *Mol Biol Evol* 1990;7(6):578-88.
- 36) Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992;152-70.
- 37) Saitou M, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987;4:406-25.
- 38) Kilbourne ED. Molecular epidemiology-influenza as archetype. *Harvey Lect* 1979;73:225-58.

APPENDICE
Sintesi delle raccomandazioni dell'OMS
relative alla vaccinazione antinfluenzale

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 Londra, presso l'EMEA, l'11 marzo 2002.

Cross reattività tra ceppi vaccinali e ceppi circolanti

L'analisi antigenica, condotta sia con pannelli di anticorpi monoclonali diretti contro le emagglutinine virali sia con sieri policlonali di referenza e la caratterizzazione molecolare delle proteine di superficie è stata effettuata presso i Laboratori di riferimento dell'OMS (Medical Research Council di Londra e Centers for Disease Control and Prevention di Atlanta), su un congruo numero di ceppi influenzali isolati in tutto il mondo.

La determinazione del fenotipo antigenico degli isolati virali costituisce il primo elemento di valutazione del grado di omologia tra ceppi circolanti e ceppi vaccinali. La caratterizzazione genomica e l'analisi filogenetica comparativa delle proteine di superficie dei virus di campo e dei virus contenuti nel vaccino, rappresentano un completamento degli studi sierologici e forniscono utili informazioni sul "pattern" evolutivo dei diversi tipi e sottotipi virali.

È utili ricordare, tuttavia, che l'importanza clinico-epidemiologica di una variante, al di là delle sue caratteristiche antigeniche e molecolari, viene anche misurata attraverso la valutazione della capacità degli anticorpi presenti nei sieri di soggetti vaccinati con il ceppo precedente di riconoscere la nuova variante antigenica.

A tal fine, vengono eseguiti, presso i vari Centri di riferimento dell'OMS, studi clinici di cross-protezione in soggetti giovani ed anziani. I risultati di tali indagini, elaborati presso il NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control, UK), vengono presentati e discussi al meeting annuale di Ginevra.

Nella Tabella A1 sono sintetizzati i risultati di questi studi clinici.

Tabella A1. Studi di cross-protezione su soggetti vaccinati (formulazione 2001-2002) – Test HI

Soggetti vaccinati con:	% di soggetti con titolo anticorpale ³ 1:40* contro:	
	ceppi contenuti nel vaccino 2000-2001	ceppi virali circolanti nell'inverno 2000-2001
A/NewCaledonia/20/99 (H1N1)	A/NewCaledonia/20/99 (H1N1)	H1N1
<i>adulti</i>	84%	77%
<i>anziani</i>	66%	62%
A/Moscow/10/99 (H3N2)	A/Moscow/10/99 (H3N2)	H3N2
<i>adulti</i>	87%	77%
<i>anziani</i>	81%	71%
B/Sichuan/379/99	B/Sichuan/379/99	B (lineaggio B/Hong Kong/330/01)
<i>adulti</i>	79%	38%
<i>anziani</i>	58%	35%

*Il titolo emagglutinoinibente (HI) di 1:40 è considerato protettivo

È evidente che esiste, in entrambi i gruppi presi in considerazione, un soddisfacente grado di cross-reattività antigenica tra ceppi vaccinali e ceppi circolanti per quanto riguarda sia i virus A/H1N1 che A/H3N2. Diversamente, la percentuale di soggetti vaccinati, che presenta anticorpi protettivi (titolo HI \geq 1:40) verso le nuove varianti B emergenti (B/Hong Kong/330/01 e ceppi antigenicamente correlati), si riduce sensibilmente sia negli adulti (dall'84% al 38%) che negli anziani (dal 60% al 35%).

Composizione del vaccino per la stagione 2002-2003

L'insieme dei risultati ottenuti dall'analisi antigenica, molecolare, filogenetica nonché la circolazione piuttosto massiccia della variante B/Hong Kong/330/01 in alcuni Paesi del mondo (Canada, Hong Kong e Giappone), la sua comparsa, anche se sporadica in alcuni Paesi europei (Italia e Olanda) e l'evidenza di un bassissimo grado di cross-protezione con l'attuale ceppo vaccinale B/Sichuan/379/99 hanno suggerito un cambiamento nel vaccino antinfluenzale che, per l'emisfero settentrionale e per la stagione 2002-2003, avrà la seguente composizione:

FORMULAZIONE 2001-2002		FORMULAZIONE 2002-2003
<i>Ceppo vaccinale</i>	<i>Tipo/sottotipo</i>	<i>Ceppo vaccinale</i>
A/New Caledonia/20/99	A/(H1N1)	A/New Caledonia/20/99
A/Moscow/10/99	A/(H3N2)	A/Moscow/10/99
B/Sichuan/379/99	B	B/Hong Kong/330/01

Dosaggio e modalità di somministrazione

Poiché la maggior parte della popolazione è stata, con tutta probabilità, infettata dai virus influenzali A/H3N2, A/H1N1 e B nel corso degli ultimi anni, una sola dose di vaccino antinfluenzale viene considerata sufficiente per i soggetti di tutte le età, con esclusione dell'età infantile.

Per i bambini al di sotto dei 12 anni di età, mai vaccinati in precedenza, si raccomanda la somministrazione di due dosi di vaccino antinfluenzale a distanza di almeno quattro settimane.

Il periodo ottimale per l'avvio delle campagne di vaccinazione antinfluenzale corrisponde a quello pre-epidemico, che, sia per la situazione climatica che per l'andamento temporale mostrato dalle epidemie influenzali, differisce nelle diverse aree geografiche.

*Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità
e Direttore responsabile: Enrico Garaci*

*Coordinamento redazionale:
Paola De Castro e Sandra Salinetti*

*Stampato dal Servizio per le Attività Editoriali
dell'Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena, 299 - 00161 ROMA*

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

Reg. Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Roma, marzo 2002 (n. 1) 11° Suppl.

*La responsabilità dei dati scientifici e tecnici
pubblicati nei Rapporti e Congressi ISTISAN è dei singoli autori*