

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

CENTRO NAZIONALE INFLUENZA

**Sorveglianza virologica dell'influenza
in Italia (stagione 2003-2004)
Rapporto preliminare**

A cura di
Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Chiara Affinito, Concetta Fabiani,
Simone Fiaccavento, Fabiola Frezza e Tiziana Grisetti
Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate

ISSN 1123-3117
Rapporti ISTISAN
04/11

Istituto Superiore di Sanità

Centro Nazionale Influenza. Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia. Stagione 2003-2004. Rapporto preliminare.

A cura di Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Chiara Affinito, Concetta Fabiani, Fabiola Frezza, Simone Fiaccavento e Tiziana Grisetti

2004, 24 p. Rapporti ISTISAN 04/11

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 è l'arma più efficace contro l'influenza. A causa dell'alta frequenza di mutazioni che si verificano nei virus influenzali, è necessario modificare ogni anno la composizione del vaccino, adattandolo alle variazioni antigeniche del virus. A tal fine, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha predisposto Centri di osservazione e di rilevamento per l'influenza in tutto il mondo che, collaborando con i quattro Centri di Riferimento OMS (Atlanta, Londra, Melbourne, Tokyo), permettono di identificare tempestivamente 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. Vengono qui riportati i dati 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 2004-2005.

Parole chiave: Virus influenzale, Vaccinazione, Italia, Organizzazione Mondiale della Sanità

Istituto Superiore di Sanità

National Influenza Centre. Virological influenza surveillance in Italy. 2003-2004 season. Preliminary report.

Edited by Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Chiara Affinito, Concetta Fabiani, Fabiola Frezza, Simone Fiaccavento and Tiziana Grisetti

2004, 24 p. Rapporti ISTISAN 04/11 (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. Due to the constantly changing composition of the influenza viruses in circulation, the influenza vaccine must be modified each year to match the current viruses. For this reason, WHO created an international network of National Influenza Centres working together with the four WHO Collaborating Centres for Reference and Research on Influenza (Atlanta, London, Melbourne, Tokyo). This network helps to monitor influenza activity in all regions of the world, 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 data discussed during the WHO February meeting held in Geneva, that led to the definition of the influenza vaccine composition for 2004-2005 season.

Key words: Influenza virus, vaccination, Italy, World Health Organization

Si ringraziano per la collaborazione tecnica: Simonetta Rasi, Marina Sbattella, Paola Bucci.

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

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

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* e *Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2004

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

Dipartimento di Sanità Pubblica: *Maria Luisa Tanzi*

Università di Firenze

Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica: *Alberta Azzi*

Università di Siena

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

Università di Perugia

Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica: *Anna Maria Iorio*

Università di Napoli

Dipartimento di Scienze Mediche Preventive: *Gabriella Ribera*

Università di Lecce

Dipartimento di Scienze e Tecnologia Biologiche ed Ambientali (Di.S.Te.B.A.): *Giovanni Gabutti*

Università di Sassari

Dipartimento di Scienze Biomediche: *Antonina Dolei*

Università Cattolica "S. Cuore"

Istituto di Microbiologia, Roma: *Anna Rossi*

Azienda Sanitaria ASL Centro Sud

Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Bolzano: *Adolf Lang*

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

Molise

Carrino Angela, Carugno Franco, Caruso Amedeo, Ferocino Fausto, Giuliano Giuseppe, La Vecchia Ernesto, Napoleone Ettore, Terzano Bartolomeo, Tribò Alessandro.

Provincia autonoma di Trento

Andrenacci Albina, Chesani Fabio, Della Giacoma Maria Luisa, Piccoli Dario, Scalfi Claudio, Spagnolli Fulvio, Torelli Gianantonio.

La sorveglianza epidemiologica dell'influenza è stata curata da:

Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute

Stefania Salmaso, Antonino Bella, Barbara De Mei, Stefania Giannitelli, 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 Sanitari del Ministero della Salute

Ufficio V Malattie Infettive e Profilassi Internazionale

Osservatorio Epidemiologico Nazionale

Dina De Stefano Caraffa, Loredana Vellucci, Anna Prete, Stefania D'Amato

INDICE

Introduzione	1
Sintesi dei dati del Centro Nazionale Influenza	3
Sorveglianza virologica	3
Organizzazione e strutture coinvolte.....	3
Metodologie di diagnosi virologica e caratterizzazione antigenica degli isolati virali.....	4
Risultati relativi alla sorveglianza in Italia.....	5
Sorveglianza clinico-epidemiologica.....	9
Comunicazione dei dati virologici ed epidemiologici	10
Quadro della circolazione dei virus influenzali nel mondo	11
Caratteristiche antigeniche degli isolamenti virali più recenti	14
Sottotipo A/H1N1 e sottotipo riassorbante A/H1N2.....	14
Sottotipo A/H3N2	15
Tipo B	15
Bibliografia	16
Appendice	
Sintesi delle raccomandazioni dell'OMS relative alla vaccinazione antinfluenzale.....	21

INTRODUZIONE

L'influenza è una malattia virale respiratoria acuta estremamente contagiosa, le cui ripercussioni sanitarie ed economiche costituiscono un rilevante problema, sia nell'ambito della comunità che del singolo individuo.

Sul piano strettamente economico l'assenteismo lavorativo, la perdita di giornate produttive rappresentano sicuramente la voce più sostanziosa nei costi complessivi. Va detto, poi, che le complicanze, come l'incremento dei casi di ospedalizzazione, tendono ad aumentare notevolmente la richiesta di assistenza sanitaria e quindi i costi diretti della malattia.

L'influenza è una malattia stagionale che, nell'emisfero occidentale si verifica durante il periodo invernale. I sintomi includono mal di testa, febbre, tosse, mialgia, gola infiammata. Lo spettro di condizioni patologiche è piuttosto ampio e va da sintomi lievi fino alle gravi complicazioni che possono sopraggiungere dopo la malattia.

Il primo isolamento di virus influenzale nell'uomo risale al 1933 in Inghilterra (ma in precedenza erano stati isolati virus influenzali sia da polli che da suini). Da allora, sono stati identificati tre tipi di virus influenzale, costituenti il genere Orthomixovirus: i tipi A e B, responsabili della sintomatologia influenzale classica, e il tipo C, di scarsa rilevanza clinica (generalmente asintomatico).

Alla base della epidemiologia dell'influenza vi è la marcata tendenza di tutti i virus influenzali a variare, cioè ad acquisire cambiamenti nelle proteine di superficie che permettono loro di aggirare la barriera costituita dalla immunità presente nella popolazione con esperienza pregressa di infezione; ciò spiega perché l'influenza possa ripetutamente colpire la popolazione e causare ricorrenti epidemie.

Essendo l'influenza una malattia di origine virale, l'uso degli antibiotici risulta inefficace nel combatterla (1-26); tali farmaci, tuttavia, devono essere impiegati se si presentano complicazioni batteriche. Sono attualmente disponibili farmaci antivirali che, se assunti tempestivamente, possono bloccare la diffusione del virus da una cellula all'altra dell'organismo, attenuando i sintomi e abbreviando il decorso della malattia.

Il principale strumento per combattere l'influenza rimane per ora la vaccinazione, che è la principale misura di prevenzione.

I ceppi utilizzati vengono scelti ogni anno dall'Organizzazione Mondiale per la Sanità (OMS) sulla base delle segnalazioni provenienti dai sistemi di sorveglianza di tutto il mondo.

L'OMS ha infatti predisposto, fin dal 1948, una rete di Centri di osservazione e di rilevamento per l'influenza, il cui scopo è di identificare precocemente le nuove varianti virali circolanti al fine di intraprendere misure appropriate e tempestive in risposta ad epidemie influenzali di una certa entità.

In Italia, l'immunoprofilassi vaccinale viene effettuata annualmente 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 nei soggetti di ogni età con malattie respiratorie, cardiache o metaboliche e negli anziani con più di 65 anni (27-43).

Come detto, i virus influenzali possono mutare facilmente per cui è impossibile produrre un vaccino unico e definitivo.

L'aggiornamento annuale del vaccino antinfluenzale, dunque, 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 13 febbraio 2004, che hanno portato alla definizione della nuova composizione del vaccino per la stagione 2004-2005 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 2004 e presentati, nel corso del meeting annuale dell'OMS svoltosi a Ginevra il 13 febbraio 2004, dal Reparto "Malattie virali e vaccini inattivati" 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 2003-2004 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: Dipartimento di Sanità Pubblica;
- Università di Firenze: Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica;
- Università di Siena: Dipartimento di Fisiopatologia, Medicina Sperimentale e Sanità Pubblica;
- Università di Perugia: Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica;
- Università di Napoli "Federico II": Dipartimento di Scienze Mediche e Preventive;
- Università di Lecce: Dipartimento di Scienze e Tecnologia Biologiche ed Ambientali (Di.S.Te.B.A.);
- Università di Sassari: Dipartimento di Scienze Biomediche;
- Università Cattolica "S. Cuore", Roma: Istituto di Microbiologia;
- Azienda Sanitaria ASL Centro Sud, Bolzano: Laboratorio di Microbiologia e Virologia.

Come negli anni precedenti, 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, Basilicata, Calabria, Molise). 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 (Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute) e dal Centro Interuniversitario di Ricerca sull'Influenza (CIRI), costituito dalle Università di Milano e Genova.

Il Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute ha coordinato le Regioni: Basilicata, Campania, Emilia Romagna, Lazio, Marche, Molise, 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.

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

Metodologie di diagnosi virologica e caratterizzazione antigenica degli isolati virali

La ricerca del virus influenzale o dei suoi costituenti è stata eseguita mediante raccolta di specifici campioni clinici rappresentati da tamponi faringei prelevati durante la fase acuta dell'infezione, generalmente caratterizzata da presenza di febbre elevata.

L'ISS ha provveduto a fornire un kit diagnostico, da utilizzare per la raccolta dei tamponi faringei, ed ha inoltre gestito l'invio ed il ritiro degli stessi.

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) (44-45) e/o
 - uova embrionate di pollo (46).

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 (*Hemagglutinin Inhibition*, HI), utilizzando antisieri policlonali prodotti in pollo e/o furetto presso l'ISS (47-49).
- ◆ 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) (50-58),
 - 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 (59-62).

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	GCAGGGTAGATAATCACTCAC (8-28) GAGAGCACATTCTGGGGTCC (522-541)
A/HA (H3)	A/H3/396/1 A/H3/1123/2	TCCCTTAGGTCAGTACTAGTTGC (396-415) CCGTCTACCATTCCCTCCCA (1104-1123)
A/HA (H1)	A/H1/303/1 A/H1/1117/2	AAATCATGGTCCTACATTGCAGAAA (303-326) ATCATTCCAGTCCATCCCCCTCAAT (1092-1117)
B/HA	B/HA/A B/HA/DII	GTGACTGGTGTGATACCACT (154-173) TGTTTTACCCATATGGGC (1037-1056)

Risultati relativi alla sorveglianza in Italia

La stagione influenzale 2003-2004 è stata finora caratterizzata da una circolazione di virus influenzali leggermente ritardata e piuttosto moderata.

Il monitoraggio virologico è stato eseguito nel periodo compreso tra la 46^a settimana (10-16 novembre 2003) e la 10^a settimana (1-7 marzo 2004).

In totale sono stati analizzati, dai Centri Universitari di collaborazione e dal Reparto "Malattie virali e vaccini inattivati" dell'ISS, 2580 campioni; di questi 2499 (97%) sono stati raccolti da medici sentinella. 359 sono i campioni risultati positivi (Tabella 2).

Tabella 2. Virus influenzali isolati e/o identificati in Italia nella stagione 2003-2004, su un totale di 2580 campioni clinici raccolti (dati aggiornati al 7 marzo 2004)

Tipizzati	Non sottotipizzati	Sottotipizzati	Varianti antigeniche prevalenti
A 350 (97%)	33	H3N2 312 H1N1 4 H1N2 1	A/Fujian/411/02 A/New Caledonia/20/99
B 9 (3%)			B/Hong Kong/330/01 (B/Victoria/2/87-like) B/Shanghai/361/02 (B/Yamagata/16/88-like)

I primi casi confermati in laboratorio (Milano e Genova) sono stati registrati a metà novembre, su campioni prelevati da bambini.

I virus identificati sono risultati appartenere al tipo A (Figura 1).

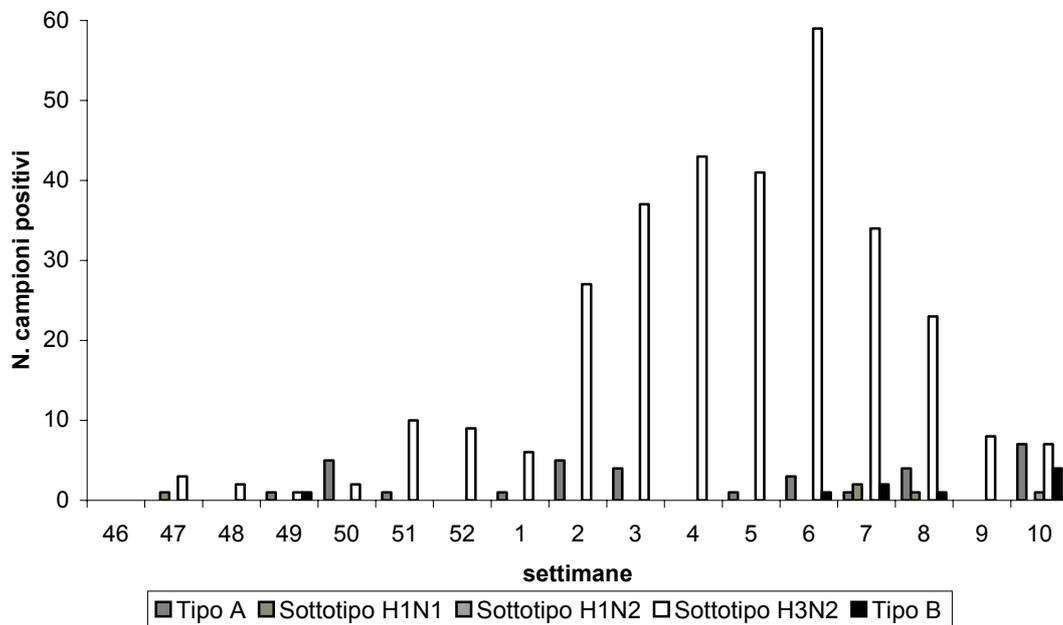


Figura 1. Distribuzione settimanale dei campioni positivi durante la stagione influenzale 2003-2004 (dati aggiornati alla 10^a settimana di sorveglianza)

Le settimane successive sono state caratterizzate dall'isolamento e/o identificazione di ceppi influenzali di tipo A e B, provenienti da casi sporadici. Nei mesi di gennaio e febbraio si è registrato un aumento significativo dei campioni inviati e, corrispondentemente, dei virus isolati, il cui picco è stato raggiunto nella 6^a settimana di sorveglianza (2-8 febbraio 2004).

La caratterizzazione antigenica dei campioni isolati ha evidenziato una netta prevalenza di virus influenzali di tipo A (97%), nel cui ambito si è registrata una esclusiva circolazione del sottotipo A/H3N2; 4 i virus di sottotipo A/H1N1 identificati presso i Laboratori Universitari di Genova e Roma.

Solo 1 campione, prelevato a Firenze nella 10^a settimana di sorveglianza da un paziente di 49 anni, è risultato positivo per il sottotipo A/H1N2.

9 virus di tipo B sono stati identificati in campioni analizzati presso i Centri Universitari di Milano, Genova, Parma e Roma.

Gruppi di età

La distribuzione per classi di età dei pazienti risultati positivi alla diagnosi di laboratorio è mostrata in Figura 2.

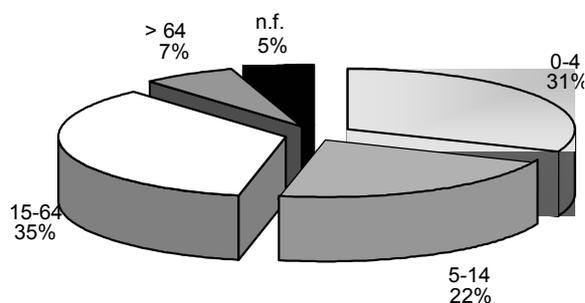


Figura 2. Distribuzione per classi di età dei soggetti positivi alla diagnosi di laboratorio

Prevalentemente colpiti sono risultati i soggetti di età compresa tra 0 e 14 anni (percentuale totale pari al 53%), mentre nei campioni provenienti da pazienti appartenenti alle classi di età 15-64 e > 64, è stata registrata una positività del 35% e del 7%, rispettivamente.

Nel 5% dei casi il dato relativo all'età non è stato fornito.

Il 10% dei virus, quasi tutti di sottotipo A/H3N2, sono stati isolati e/o identificati da pazienti vaccinati, soprattutto ultrasessantenni.

Caratterizzazione antigenica degli isolati virali

Le Tabelle 3 e 4 riportano i risultati dell'analisi sierologica di alcuni ceppi A/H3N2 rappresentativi del totale dei virus isolati, eseguita mediante il test classico di HI.

L'analisi antigenica condotta su tali isolati, ha mostrato un consistente grado di omologia con la recente variante A/Fujian/411/02 ed i ceppi A/Wyoming/3/03 e A/Kumamoto/102/02, considerati indistinguibili dal Fujian ed una ridotta reattività antigenica verso il siero prodotto contro il ceppo vaccinale A/Panama/2007/99 (ceppo A/Moscow/10/99-like).

I risultati dell'analisi di sequenziamento della porzione HA1 dell'emagglutinina virale e la costruzione del relativo albero filogenetico (Figura 3) (63-67), hanno confermato il risultato sierologico, evidenziando come tutti i recenti isolati mostrino una maggiore omologia molecolare nei confronti dei virus Fujian-like ed, in particolare, del ceppo antigenicamente indistinguibile A/Christchurch/28/03.

Tabella 3. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali A/H3N2 isolati in Italia mediante test di HI (risultati forniti dall'ISS)

Virus	A/Mosc 10/99	A/Wy 3/03	A/Wy 3/03	Data prelievo	Età (anni)
	Siero pollo post-infezione	Siero furetto post-infezione	Siero pollo post-infezione		
A/Moscow/10/99^a	1280	640	640		
A/Wyoming/3/03^b	160	2560	640		
A/Parma/49/03	<	640	320	Dic.03	60
A/Parma/50/03	<	1280	640	Dic.03	12
A/Parma/1/03	160	2560	640	Gen.04	56
A/Parma/2/03	640	2560	2560	Gen.04	1
A/Firenze/5/04	40	640	320	Gen.04	38
A/Firenze/6/04	<	640	320	Gen.04	24
A/Trento/1/04	320	1280	1280	Gen.04	79
A/Trieste/26/03	160	2560	2560	Gen.04	15
A/Trieste/28/03	640	5120	5120	Dic.03	5
A/Trieste/29/03	80	1280	1280	Dic.03	12
A/Trieste/30/03	160	5120	5120	Dic.03	1
A/Trieste/31/03	640	5120	5120	Dic.03	19

a A/Moscow/10/99 (ceppo contenuto nel vaccino 2003-2004); b A/Wyoming/3/03 (ceppo A/Fujian/411/02-like); < ≤ 40

Tabella 4. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali A/H3N2 isolati in Italia mediante test di HI (risultati forniti dal Centro WHO di Londra)

Virus	A/Pan 2007/99	A/Egy 130/02	A/Fuj 411/02	A/Wy 3/03	A/Kum 102/02	Data prelievo	Età (anni)
	Siero furetto post-infezione						
A/Panama/2007/99^a	5120	2560	80	640	640		
A/Egypt/130/02^b	1280	2560	40	160	640		
A/Fujian/411/02^c	80	40	640	1280	640		
A/Wyoming/3/03^d	1280	640	5120	5120	5120		
A/Kumamoto/102/02^e	1280	640	2560	5120	5120		
A/Parma/49/03	320	320	640	1280	1280	Dic.03	60
A/Parma/50/03	160	320	320	1280	640	Dic.03	12
A/Parma/1/03	320	320	640	1280	640	Gen.04	56
A/Parma/2/03	160	160	320	640	640	Gen.04	1
A/Firenze/2/03	160	160	640	1280	640	Gen.04	50
A/Firenze/3/04	80	40	320	640	640	Gen.04	37
A/Firenze/4/04	160	80	320	640	640	Gen.04	29
A/Firenze/5/04	160	320	640	1280	640	Gen.04	38
A/Firenze/6/04	160	160	320	640	640	Gen.04	24
A/Trento/1/04	320	320	640	1280	640	Gen.04	79
A/Trieste/26/03	320	640	1280	2560	1280	Gen.04	15
A/Trieste/28/03	640	640	2560	5120	2560	Dic.03	5
A/Trieste/29/03	160	320	320	1280	640	Dic.03	12
A/Trieste/30/03	320	320	1280	2560	1280	Dic.03	1
A/Trieste/31/03	320	320	2560	5120	2560	Dic.03	19
A/Genova/2161/03	320	320	640	1280	640	Dic.03	1
A/Genova/2162/03	40	80	80	160	160	Dic.03	5

a A/Panama/2007/99 (ceppo A/Moscow/10/99-like); b A/Egypt/130/02 (ceppo A/Moscow/10/99-like);
c A/Fujian/411/02 (nuova variante antigenica circolante nel 2003-2004);
d A/Wyoming/3/03 (ceppo A/Fujian/411/02-like); e A/Kumamoto/102/02 (ceppo A/Fujian/411/02-like)

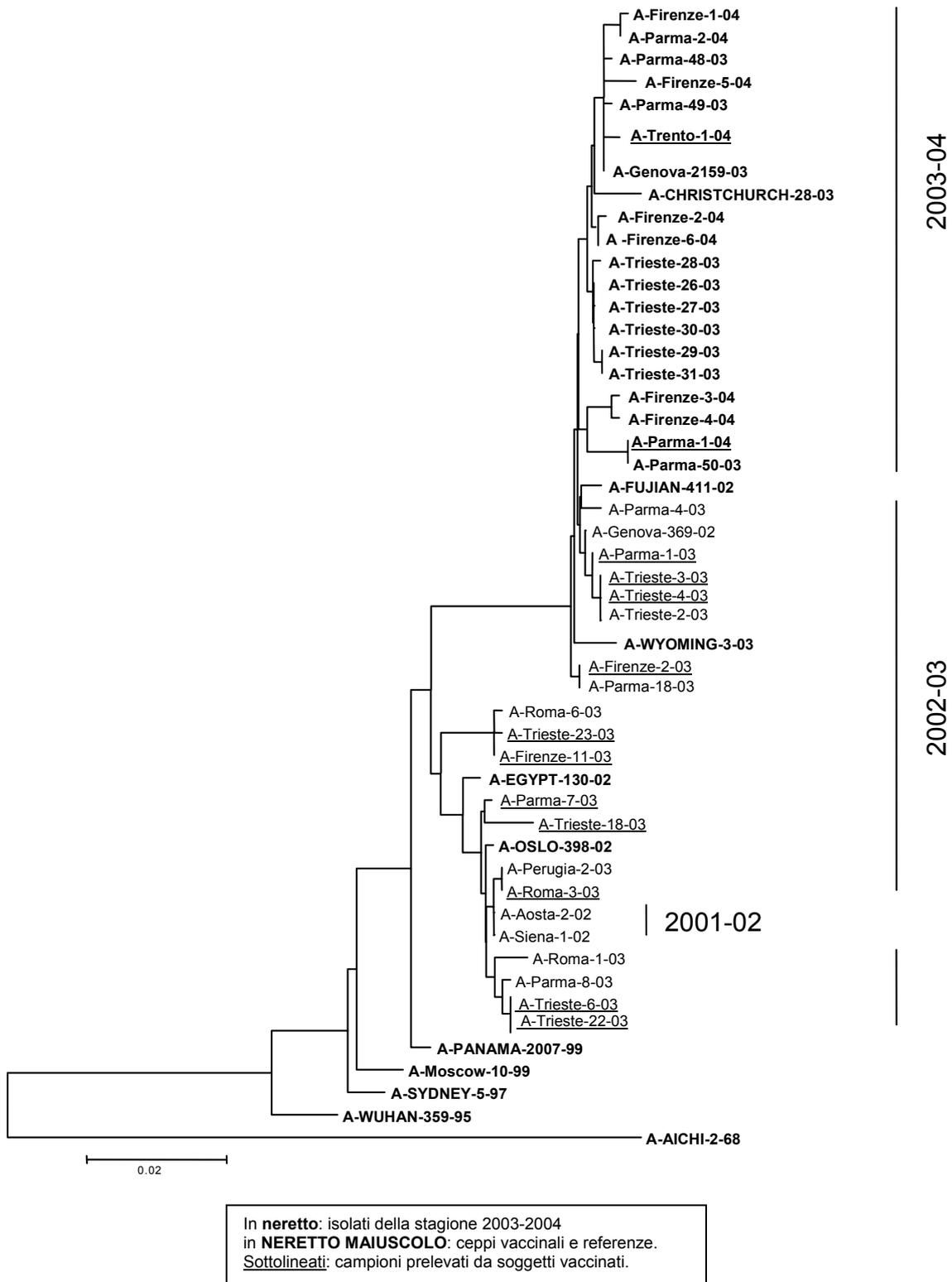


Figura 3. Relazioni filogenetiche relative al dominio HA1 della HA di virus influenzali A/H3N2 umani isolati nella presente stagione e nelle scorse due stagioni influenzali in Italia (la costruzione dell'albero è stata effettuata con il metodo Kimura-2 e con l'algoritmo Neighbor-Joining)

L'esiguo numero di virus A/H1N1 isolati è risultato antigenicamente correlato al ceppo vaccinale A/New Caledonia/20/99.

La Tabella 5 mostra i risultati relativi alla tipizzazione sierologica dei virus B isolati tra febbraio e marzo 2004; mentre il ceppo B/Milano/66/04 mostra un consistente grado di omologia verso la nuova variante B/Shanghai/361/2002, appartenente al lineaggio dei B/Yamagata/16/88-like, la maggior parte dei virus B isolati, rappresentati in Tabella 5 dai ceppi B/Parma/2/04 e B/Parma/3/04 sono risultati antigenicamente simili al ceppo B/Shandong/7/97, (lineaggio dei B/Victoria/2/87-like), strettamente correlato al ceppo vaccinale B/Hong Kong/330/01.

Tabella 5. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali B isolati in Italia mediante test di HI (risultati forniti dal Centro WHO di Londra)

Virus	Lineaggio B/Victoria/2/87			Lineaggio B/Yamagata/16/88			Data prelievo	Età (anni)
	B/Shan 7/97	B/Te 80/02	B/Bris 32/02	B/Sich 379/99	B/Shai 361/03	B/Jian 10/03		
Victoria-like								
B/Shandong/7/97 ^a	160	160	160	<	<	<		
B/Tehran/80/02 ^b	160	320	160	<	<	<		
B/Brisbane/32/02 ^c	80	80	160	<	<	<		
Yamagata-like								
B/Sichuan/379/99 ^d	<	<	<	160	160	80		
B/Shanghai/361/03 ^e	<	<	<	160	160	160		
B/Jiangsu/10/03 ^f	<	<	<	40	40	5120		
B/Milano/66/04	<	<	<	160	160	2560	Feb. 04	4
B/Parma/2/04	80	40	80	<	<	<	Mar. 04	2
B/Parma/3/04	80	40	80	<	<	<	Mar. 04	9

a B/Shandong/7/97 (ceppo B/Hong Kong/330/01-like)

b B/Teheran/80/02 (ceppo B/Hong Kong/330/01-like)

c B/Brisbane/32/02 (ceppo B/Hong Kong/330/01-like)

d B/Sichuan/379/99 (ceppo vaccinale 2001-2002, B/Yamagata/16/88-like)

e B/Shanghai/361/03 (nuova variante circolante nel 2003-2004, B/Yamagata/16/88-like)

f B/Jiangsu/10/03 (ceppo B/Shanghai/361/03-like)

< ≤ 40

Sorveglianza clinico-epidemiologica

La sorveglianza epidemiologica dell'influenza, gestita dal Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute dell'ISS, è iniziata il 13 ottobre 2003 (42^a settimana).

I risultati vengono espressi come incidenze, calcolate come numero di casi osservati ogni 1000 assistiti, dai medici sentinella per settimana.

Nella stagione 2003-2004, il tasso d'incidenza delle sindromi influenzali è iniziato ad aumentare dalla 3^a settimana del 2004 e ai primi di febbraio (6^a settimana) ha raggiunto il valore massimo di 4,84 casi ogni 1000 assistiti. I bambini ed i giovani adulti sono risultati i più colpiti dalla sindrome influenzale.

Il confronto tra i dati relativi alle passate stagioni e quelli fino ad ora ottenuti (10^a settimana), evidenzia che l'andamento dell'epidemia influenzale ha raggiunto livelli di incidenza inferiori rispetto alle passate stagioni (Figura 4).

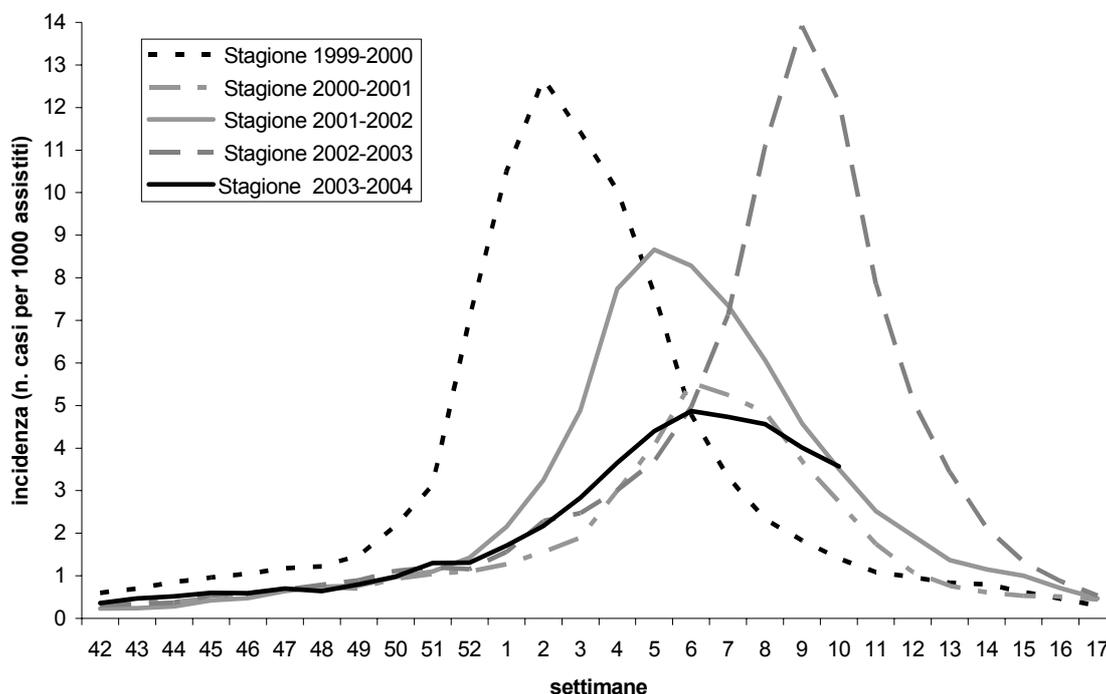


Figura 4. Incidenza della sindrome influenzale nelle stagioni 1999-2000, 2000-2001, 2001-2002, 2002-2003 e 2003-2004

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.who.int/GlobalAtlas/home.asp), 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 di settembre 2003 e la fine di gennaio 2004, nell'America del Nord e nei Paesi dell'Europa dell'Ovest è stata registrata un'attività influenzale piuttosto severa e precoce. Il picco di attività, infatti, in Paesi come l'Irlanda, il Portogallo, il Regno Unito e la Francia è stato raggiunto tra la 45^a e la 50^a settimana del 2003, durante il quale si sono registrati focolai associati soprattutto a virus di sottotipo A/H3N2.

A partire dalle prime settimane di dicembre il numero di casi di influenza è iniziato ad aumentare anche nei Paesi dell'Europa orientale ed in altri Paesi del mondo, dove il picco influenzale è stato raggiunto a fine gennaio.

Dati riguardanti la circolazione dei virus influenzali sono stati forniti da 66 Paesi: 5 in Africa (Algeria, Egitto, Madagascar, Marocco e Senegal), 11 in America (Argentina, Brasile, Canada, Cile, Colombia, Guyana, Messico, Nicaragua, Perù, Uruguay, USA), 13 in Asia (Arabia Saudita, Cina, Filippine, Giappone, Hong Kong SAR, India, Malesia, Qatar, Repubblica di Corea, Singapore, Taiwan, Thailandia, Vietnam), 33 in Europa (Austria, Belgio, Bielorussia, Bulgaria, Croazia, Danimarca, Federazione Russa, Finlandia, Francia, Germania, Grecia, Irlanda, Islanda, Israele, Italia, Lettonia, Lituania, Norvegia, Olanda, Polonia, Portogallo, Regno Unito, Repubblica Ceca, Romania, Serbia e Montenegro, Slovacchia, Slovenia, Spagna, Svezia, Svizzera, Turchia, Ucraina, Ungheria), 4 in Oceania (Australia, Guam, Nuova Caledonia, Nuova Zelanda).

Focolai associati al sottotipo A/H1N1 sono stati segnalati in Islanda e Ucraina; sporadici i casi di identificazione di tale sottotipo riportati da altri Paesi del mondo.

Ceppi influenzali A/H1N2 hanno circolato in Africa (Senegal), America (Brasile, Canada, Cile, USA), Europa (Francia, Islanda, Norvegia e Portogallo).

Il sottotipo A/H3N2 è risultato dominante in America (Canada, USA), Asia (Giappone) e in gran parte dei Paesi europei (Belgio, Croazia, Danimarca, Federazione Russa, Finlandia, Francia, Germania, Israele, Italia, Lituania, Norvegia, Polonia, Portogallo, Regno Unito, Romania, Spagna, Svezia, Svizzera, Ucraina). Virus A/H3N2 sono stati inoltre isolati in Africa (Algeria, Egitto, Madagascar, Marocco e Senegal), America (Argentina, Brasile, Cile, Colombia, Messico, Nicaragua e Perù), Asia (Arabia Saudita, Cina, Malesia, Filippine, Hong Kong SAR, Qatar, Repubblica di Corea, Singapore, Thailandia, Vietnam), Europa (Austria, Bielorussia, Bulgaria, Grecia, Irlanda, Islanda, Lettonia, Olanda, Repubblica Ceca, Serbia e Montenegro, Slovacchia, Slovenia, Turchia, Ungheria) e Oceania (Australia, Guam, Nuova Caledonia, Nuova Zelanda).

I virus di tipo B hanno circolato, invece, in Africa (Madagascar), America (Brasile, Canada, Cile, Colombia, Messico, Perù, USA), Asia (Cina, Giappone, Hong Kong SAR, Malesia, Repubblica di Corea, Taiwan, Thailandia), Europa (Austria, Bielorussia, Federazione Russa, Finlandia, Francia, Germania, Irlanda, Italia, Norvegia, Regno Unito, Repubblica Ceca, Slovenia, Svezia, Svizzera, Ucraina, Ungheria) ed Oceania (Australia).

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

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

Le Figure 5 e 6 mostrano il numero di isolamenti virali che si sono avuti nella stagione passata ed in quella corrente.

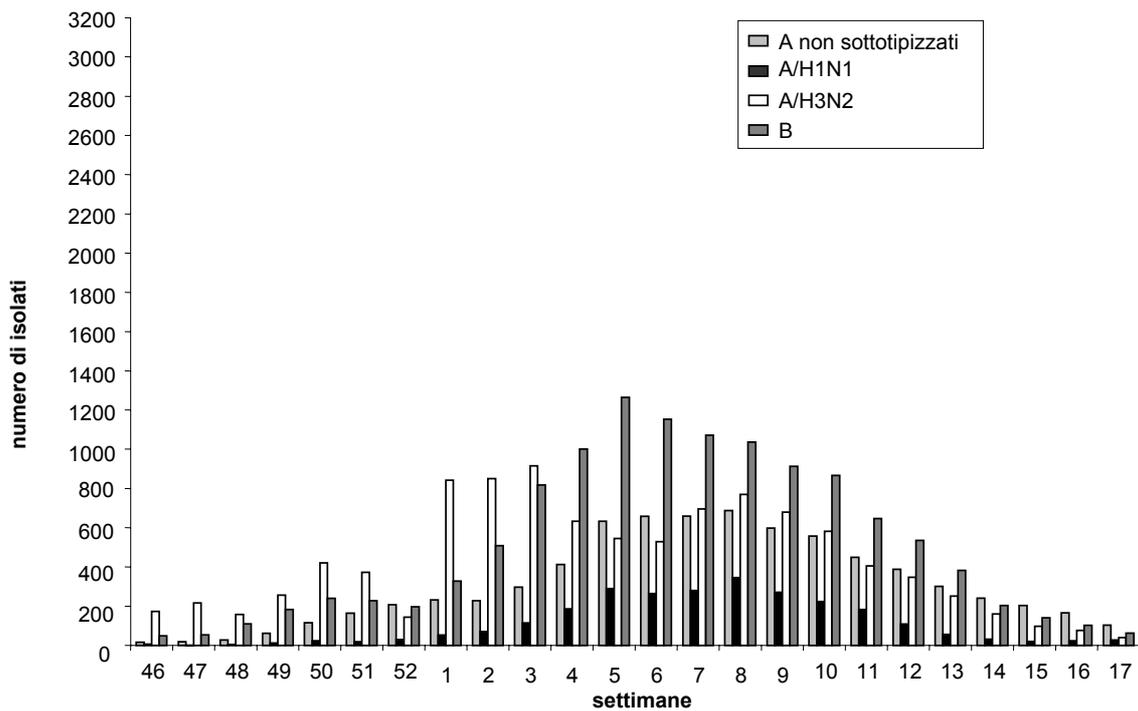


Figura 5. Virus isolati nel mondo nella stagione 2002-2003

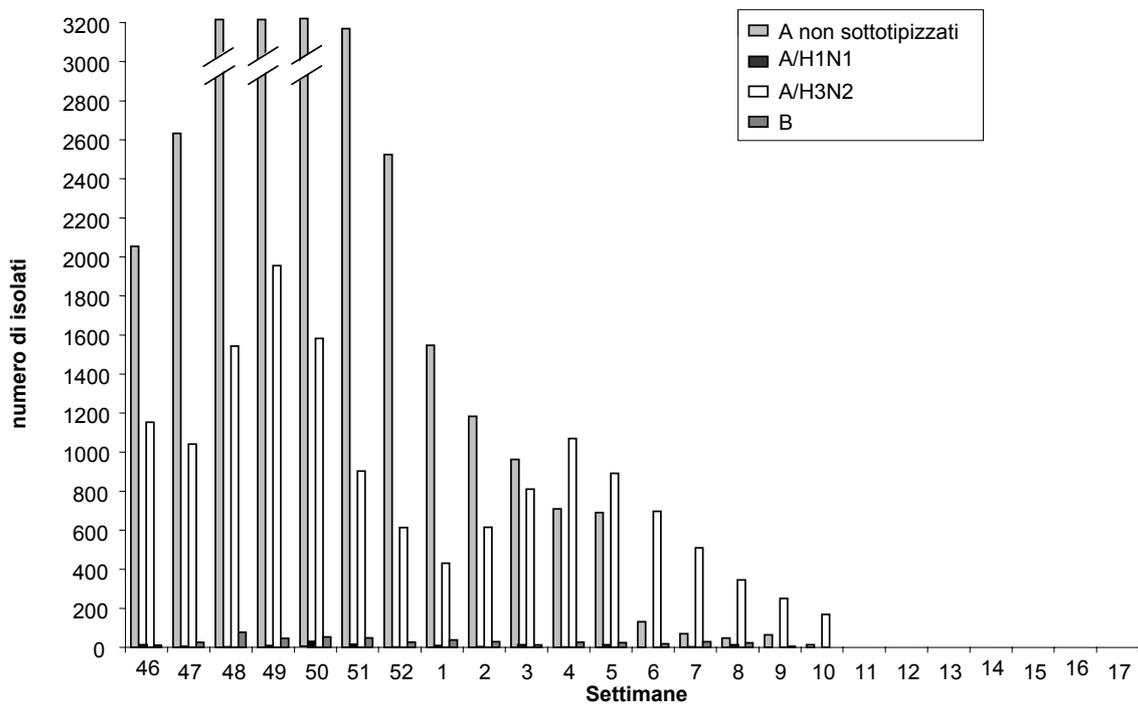


Figura 6. Virus isolati nel mondo nella stagione 2003-2004

Nelle Tabelle 6-10, 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 6. 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	5	Algeria, Egitto, Madagascar, Marocco, Senegal
America	9	Argentina, Brasile, Canada, Cile, Colombia, Messico, Nicaragua, Perù, USA
Asia	11	Arabia Saudita, Cina, Filippine, Giappone, Hong Kong SAR, Malaysia, Qatar, Repubblica di Corea, Singapore, Thailandia, Vietnam
Europa	33	Austria, Belgio, Bielorussia, Bulgaria, Croazia, Danimarca, Federazione Russa, Finlandia, Francia, Germania, Grecia, Islanda, Israele, Irlanda, Italia, Lettonia, Lituania, Norvegia, Olanda, Polonia, Portogallo, Regno Unito, Repubblica Ceca, Romania, Serbia e Montenegro, Slovacchia, Slovenia, Spagna, Svezia, Svizzera, Turchia, Ucraina, Ungheria
Oceania	4	Australia, Guam, Nuova Caledonia, Nuova Zelanda
Totale	62	

Tabella 7. Distribuzione geografica della circolazione di virus influenzali appartenenti al tipo A

Area geografica	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus A	
	n.	
Africa	0	
America	9	Argentina, Brasile, Canada, Cile, Guiana Francese, Messico, Paraguay, Perù, USA
Asia	4	Cina, Israele, Malaysia, Thailandia
Europa	20	Austria, Belgio, Croazia, Federazione Russa, Finlandia, Francia, Germania, Islanda, Irlanda, Italia, Lettonia, Norvegia, Polonia, Portogallo, Repubblica Ceca, Slovenia, Spagna, Svezia, Svizzera, Ucraina
Oceania	1	Nuova Caledonia
Totale	34	

Tabella 8. Distribuzione geografica della circolazione di virus influenzali appartenenti al tipo A/H1N2

Area geografica	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus influenzali di tipo A/H1N2	
	n.	
Africa	1	Senegal
America	4	Brasile, Canada, Cile, USA
Asia	0	
Europa	4	Francia, Islanda, Norvegia, Portogallo
Oceania	0	
Totale	9	

Tabella 9. Distribuzione geografica della circolazione di virus influenzali appartenenti al tipo A/H1N1

Area geografica	Paesi che hanno registrato isolamenti di virus influenzali di tipo A/H1N1 n.
Africa	2 Marocco, Senegal
America	6 Brasile, Canada, Cile, Messico, Perù, USA
Asia	5 Cina, Giappone, Malaysia, Repubblica di Corea, Singapore
Europa	9 Belgio, Danimarca, Francia, Grecia, Italia, Islanda, Portogallo, Regno Unito, Ucraina
Oceania	0
Totale	22

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 Madagascar
America	7 Brasile, Canada, Cile, Colombia, Messico, Perù, USA
Asia	7 Cina, Giappone, Hong Kong SAR, Malaysia, Repubblica di Corea, Taiwan, Thailandia
Europa	17 Austria, Bielorussia, Finlandia, Francia, Federazione Russa, Germania, Irlanda, Israele, Italia, Norvegia, Regno Unito, Repubblica Ceca, Slovenia, Svezia, Svizzera, Ucraina, Ungheria
Oceania	1 Australia
Totale	33

Caratteristiche antigeniche degli isolamenti virali più recenti

Sottotipo A/H1N1 e sottotipo riassorbante A/H1N2

L'analisi antigenica e genetica eseguita sui ceppi A/H1N1 (Tabella 11) e A/H1N2, ha mostrato che la maggior parte degli isolati sono strettamente correlati al ceppo A/New Caledonia/20/99, contenuto nel corrente vaccino antinfluenzale e che la neuraminidasi (NA) dei virus A/H1N2, è antigenicamente simile a quella del ceppo A/H3N2 circolante.

Tabella 11. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali A/H1N1 isolati in Francia mediante test di HI

Virus	A/Bayern 7/95	A/New Caledonia 20/99
A/Bayern/7/95 ^a	2560	<
A/New Caledonia/20/99 ^b	<	320
A/Paris/267/04	80	320
A/Paris/650/04	<	320

a A/Bayern/7/95 (ceppo contenuto nel vaccino 1997-1998)

b A/New Caledonia/2099 (ceppo vaccinale 2003-2004)

< ≤ 40

Sottotipo A/H3N2

Nella Tabella 12 sono riportati i dati relativi ai virus A/H3N2 isolati in Francia e che sono rappresentativi della maggior parte dei virus isolati durante la stagione 03-04 in gran parte dei Paesi del mondo. Essi sono risultati antigenicamente simili alla nuova variante A/Fujian/411/02 o ai ceppi A/Wyoming/3/2003 e A/Kumamoto/102/2002, considerati antigenicamente indistinguibili dal ceppo A/Fujian/411/02.

Tabella 12. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali A/H3N2 isolati in Francia mediante test di HI

Virus	A/Moscow 10/99	A/Panama 2007/99	A/Wyoming 3/03
A/Moscow/10/99^a	5120	640	160
A/Panama/2007/99^b	640	1280	160
A/Wyoming/3/03^c	<	320	2560
A/Paris/294/04	2560	5120	10240
A/Paris/168/04	1280	640	10240
A/Paris/170/04	320	640	5120
A/Paris/760/04	160	640	5120
A/Paris/334/04	<	1280	10240
A/Paris/1233/04	<	320	5120
A/Paris/938/04	<	80	2560
A/Paris/375/04	<	160	320

a A/Moscow/10/99 (ceppo vaccinale 2003/2004); **b** A/Panama/2007/99 (ceppo A/Moscow/10/99-like);
c A/Fujian/411/2002 (nuova variante antigenica circolante nella stagione 2003-2004; < ≤ 40

Tipo B

I virus appartenenti al tipo B, identificati in gran parte dei Paesi, sono risultati antigenicamente simili alla nuova variante B/Shanghai/361/2002 (B/Yamagata/16/88-like) (Tabella 13). Sporadici i casi di virus B correlati al ceppo B/Hong Kong/330/2001 e B/Shandong/7/97 (B/Victoria/2/87-like), presente nel vaccino della stagione influenzale 2003-2004.

Tabella 13. Caratterizzazione antigenica di virus influenzali B mediante test di HI

Virus	B/Shandong 7/97	B/Hong Kong 330/01	B/Shanghai 361/02
B/Shandong/7/97^a	320	160	<
B/Hong Kong/330/01^b	320	320	<
B/Shanghai/361/02^c	<	<	320
B/Jilin/20/2003	<	<	160
B/Malaysia/836/2003	<	<	320
B/Perth/140/2003	<	<	160
B/Shanghai/44/2003	<	<	320
B/Hawaii/1/2004	<	<	160
B/Oslo/71/2004	<	<	320
B/Shizuoka/2/2004	<	<	320
B/Ireland/13064/2003	160	<	<
B/Sichuan/259/2003	160	320	<

a B/Shandong/7/97 (ceppo B/Hong Kong/330/01-like); **b** B/Hong Kong/330/01 (ceppo contenuto nel vaccino 2003-2004); **c** B/Shanghai/361/02 (nuova variante circolante nella stagione 2003-2004); < ≤ 40

BIBLIOGRAFIA

1. Woollorton E. Oseltamivir (Tamiflu) unsafe in infants under 1 years old. *CMAJ* 2004;170(3):336.
2. De Jong JC, Beyer WE, Rimmelzwaan GF, Fouchier RA, Osterhaus AD. Neuraminidase inhibitors oseltamivir and zanamivir: new means of defence against influenza. *Ned Tijdschr Geneeskde* 2004;148(2):73-9. Review.
3. Oxford J, Balasingam S, Lambkin R. A new millennium conundrum: how to use a powerful class of influenza anti-neuraminidase drugs (NAIs) in the community. *J Antimicrob Chemother* 2004;53(2):133-6. Epub 2003 Dec 19. Review.
4. Watson KG, Cameron R, Fenton RJ, Gower D, Hamilton S, Jin B, Krippner GY, Luttick A, McConnell D, MacDonald SJ, Mason AM, Nguyen V, Tucker SP, Wu WY. Highly potent and long-acting trimeric and tetrameric inhibitors of influenza virus neuraminidase. *Bioorg Med Chem Lett* 2004;14(6):1589-92.
5. Takahashi K, Furuta Y, Fukuda Y, Kuno M, Kamiyama T, Kozaki K, Nomura N, Egawa H, Minami S, Shiraki K. In vitro and in vivo activities of T-705 and oseltamivir against influenza virus. *Antivir Chem Chemother* 2003;14(5):235-41.
6. Dutkowski R, Thakrar B, Froehlich E, Suter P, Oo C, Ward P. safety and pharmacology of oseltamivir in clinical use. *Drug Saf* 2003;26(11):787-801. Review.
7. Kirkbride HA, Watson J. Review of the use of neuraminidase inhibitors for prophylaxis of influenza. *Commun Dis Public Health* 2003;6(2):123-7. Review.
8. Cooper NJ, Suttun AJ, Abrams KR, Wailoo A, Turner D, Nicholson KG. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in treatment and prevention of influenza A and B: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ* 2003;326(7401):1235. Review.
9. McKimm-Breschkin J, Trivedi T, Hampson A, Hay A, Klimov A, Tashiro M, Hayden F, Zambon M. Neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical isolates to zanamivir and oseltamivir. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(7):2264-72.
10. Stoll V, Stewart KD, Maring CJ, Muchmore S, Giranda V, Gu YG, Wang G, Chen Y, Sun M, Zhao C, Kennedy AL, Madigan DL, Xu Y, Saldivar A, Kati W, Laver G, Sowin T, Sham HL, Greer J, Kempf D. influenza neuraminidase inhibitors: structure based design of a novel inhibitor series. *Biochemistry* 2003;42(3):718-27.
11. O'Brien BJ, Goeree R, Blackhouse G, Smieja M, Mad ML. Oseltamivir for treatment of influenza in healthy adults: pooled trial evidence and cost-effectiveness model for Canada. *Value Health* 2003;6(2):116-25.
12. Noyola DE. Neuraminidase inhibitors in pediatric patients: potential place in influenza therapy. *Paediatr Drugs* 2003;5(2):125-31.
13. Stiver G. The treatment of influenza with antiviral drugs. *CMAJ* 2003;168(1):49-56. Review.
14. 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.
15. 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.

16. 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.
17. Cheer SM, Wagstaff AJ. Spotlight on zanamivir in influenza. *Am J respire Med* 2002;1(2):147-52. Review.
18. 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. Review
19. 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.
20. McKimm-Breschkin JL. Neuraminidase inhibitors for the treatment and prevention of influenza. *Expert Opin Pharmacother* 2002;3(2):103-12.
21. Cheer SM, Wagstaff AJ. Zanamivir: an update of its use in influenza. *Drugs* 2002;62(1):71-106.
22. Aoki FY, Doucette KE. Oseltamivir: a clinical and pharmacological perspective. *Expert Opin Pharmacoter* 2001;2(10):1671-83.
23. McClellan, Perry CM. Oseltamivir: a review of its use in influenza. *Drugs* 2001;61 (2):263-83.
24. 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.
25. Laver WG, Bischofberger N, Webster RG. Sconfitti i virus dell'influenza. *Le Scienze* 1999;366:48-57.
26. Kim CU. Rational drug design of orally active influenza neuraminidase inhibitors: Discovery and development of GS 4104. *Med Chem Res* 1998;8(7-8):392-99.
27. Singleton JA, Wortley P, Lu PJ. Influenza vaccination of persons with cardiovascular disease in the United States. *Tex Heart Inst J* 2004;31(1):22-7.
28. Erhart LM, Rangel MC, Lu PJ, Singleton JA. Prevalence and characteristics of children at increased risk for complications from influenza, United States, 2000. *J Pediatr* 2004;144(2):191-5.
29. Daley MF, Barrow J, Pearson K, Crane LA, Gao D, Stevenson JM, Barman S, Kempe A. Identification and recall of children with chronic medical conditions for influenza vaccination. *Pediatrics* 2004;113(1 Pt 1):e26-33.
30. Ford ES, Mannino DM, Williams SG. Asthma and influenza vaccination: findings from the 1999-2001 National Health Interview Surveys. *Chest* 2003;124(3):783-9.
31. Quach C, Piche-Walker L, Platt R, Moore D. Risk factors associated with severe influenza infections in childhood: implication for vaccine strategy. *Pediatrics* 2003;112(3 Pt 1):e197-201.
32. Gilbertson DT, Unruh M, McBean AM, Kausz AT, Snyder JJ, Collins AJ. Influenza vaccine delivery and effectiveness in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2003;63(2):738-43.
33. Zimmerman RK, Middleton DB, Smith NJ. Vaccines for persons at high risk due to medical conditions, occupation, environment, or lifestyle, 2003. *J Fam Pract* 2003;52(1 Suppl):S22-35. Review.
34. Earle CC. Influenza vaccination in elderly patients with advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2003 Mar 15;21(6):1161-6.
35. Zimmermann RK, Middleton DB, Smith NJ. Vaccines for persons at high risk due to medical conditions, occupation, environment, or lifestyle, 2003. *J Fam Pract* 2003;52(1 Suppl):S22-35. Review.
36. Baltimore RS, Jenson HB. New recommendations for influenza vaccination for children and pregnant women. *Curr Opin Pediatr* 2003;15(1):74-6.

37. Hsieh YC, Lu MY, Kao CL, Chiang BL, Lin DT, Lin KS, Huang LM. Response to influenza vaccine in children with leukemia undergoing chemotherapy. *J Formos Med Assoc* 2002;101(10):700-4.
38. Zanetti AR, Amendola A, Besana S, Boschini A, Tanzi E. Safety and immunogenicity of influenza vaccination in individuals infected with HIV. *Vaccine* 2002;20 Suppl 5:B29-32.
39. Rossi G. [Vaccination against influenza in the aged and high-risk persons] *Recenti Prog Med*. 2002 Dec;93(12):665-6.
40. Hak E, Hoes AW, Verheij TJ. Influenza vaccinations: who needs them and when? *Drugs* 2002;62(17):2413-20.
41. 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.
42. 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.
43. Snacken R. Influenza vaccination in the elderly. *Tijdschrift voor Geneeskunde* 1999;55(22):1591-3.
44. 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.
45. Meguro H, Bryant JD, Torrence AE, Wright PF. Canine Kidney Cell line for isolation of respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 1979;9:175-9.
46. 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.
47. Ueda M, Maeda A, Nakagawa 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.
48. 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.
49. Hirst GH. The quantitative determination of influenza virus and antibodies by means of red cell agglutination. *J Exp Med* 1942;75:47-64.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. 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.
54. 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.
55. 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.

56. 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).
57. 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.
58. Yamada A, Imanishi J, Nakajima E, Nahkajima K, Nakajima S. Detection of influenza viruses in throat swab by using polymerase chain reaction. *Microbiol Immunol* 1991;35:259-65.
59. 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.
60. Dunn JJ, Gordon C, Kelley C, Carroll KC. Comparison of the Denka-Seiken INFLU A.B-Quick and BD Directigen Flu A+B with direct fluorescent-antibody staining and shell vial culture methods for rapid detection of influenza viruses. *J Clin Microbiol* 2003;41(5):2180-3.
61. 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.
62. 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.
63. Takezaky N. Tie trees generated by distance methods of phylogenetic reconstruction. *Mol Biol Evol* 1998;15(6):727-37.
64. Tajima F. A simple graphic method for reconstructing phylogenetic trees from molecular data. *Mol Biol Evol* 1990;7(6):578-88.
65. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992;152-70.
66. Saitou M, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987;4:406-25.
67. 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 (*European Agency for the Evaluation of Medical Products*), il 13 marzo 2004.

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.

E' utile 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, 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 2003-2004) – Test HI

Soggetti vaccinati con:	% di soggetti con titolo anticorpale $\geq 1:40^*$ contro:	
	ceppi contenuti nel vaccino 2003-2004	ceppi virali circolanti nell'inverno 2003-2004
A/NewCaledonia/20/99 (H1N1)	A/NewCaledonia/20/99 (H1N1)	H1N1
<i>bambini</i>	41%	40%
<i>adulti</i>	78%	75%
<i>anziani</i>	55%	50%
A/Moscow/10/99 (H3N2)	A/Moscow/10/99 (H3N2)	H3N2
<i>bambini</i>	61%	36%
<i>adulti</i>	80%	57%
<i>anziani</i>	82%	55%
B/Hong Kong/330/01	B/Hong Kong/330/01	B
<i>bambini</i>	50%	4%
<i>adulti</i>	56%	40%
<i>anziani</i>	48%	29%

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

Dalla Tabella A1 risulta evidente che, nei gruppi presi in considerazione, esiste un soddisfacente grado di cross-reattività antigenica tra ceppi vaccinali e ceppi circolanti per quanto riguarda i virus di sottotipo A/H1N1; diversamente, la percentuale di soggetti vaccinati che presenta anticorpi protettivi (titolo HI \geq 1:40) verso le nuove varianti A/H3N2 (A/Fujian/411/02 e ceppi antigenicamente correlati) e B (B/Shanghai/361/02 e ceppi antigenicamente correlati) emergenti, si riduce notevolmente nei bambini, negli adulti e negli anziani.

Composizione del vaccino per la stagione 2004-2005

L'insieme dei dati ottenuti dall'analisi antigenica, molecolare e filogenetica nonché la circolazione delle nuove varianti A/H3N2 e B nella maggior parte dei Paesi del mondo, hanno suggerito un cambiamento nel vaccino antinfluenzale che, per l'emisfero settentrionale e per la stagione 2004-2005, avrà la seguente composizione:

FORMULAZIONE 2003-2004		FORMULAZIONE 2004-2005
<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/Fujian/411/02^a
B/Hong Kong/330/01	B	B/Shanghai/361/02^b

a: il ceppo vaccinale correntemente utilizzato è l'A/Wyoming/3/2003. Anche l'A/Kumamoto/102/2002 è utilizzabile come ceppo vaccinale.

b: I ceppi vaccinali candidati sono il B/Shanghai/361/02, il B/Jiangsu/10/2003 e il B/Jilin/20/2003 (ceppi B/Shanghai/361/2002-like)

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.

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

*Stampato da Ditta Grafiche Chicca & C. snc
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

Roma, giugno 2004 (n. 2) 4° Suppl.