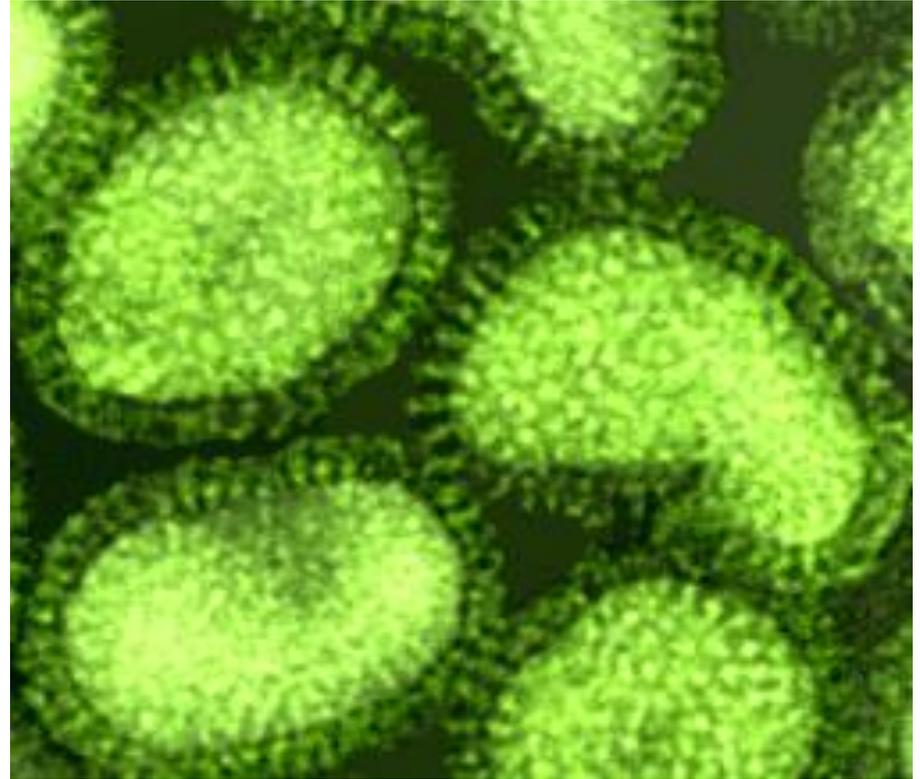
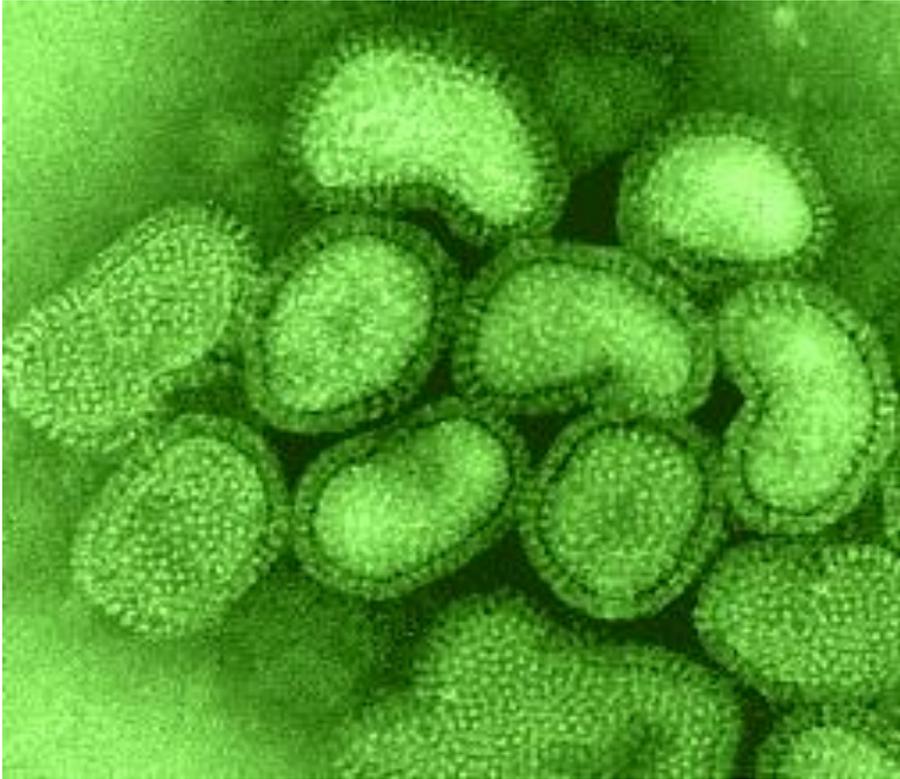
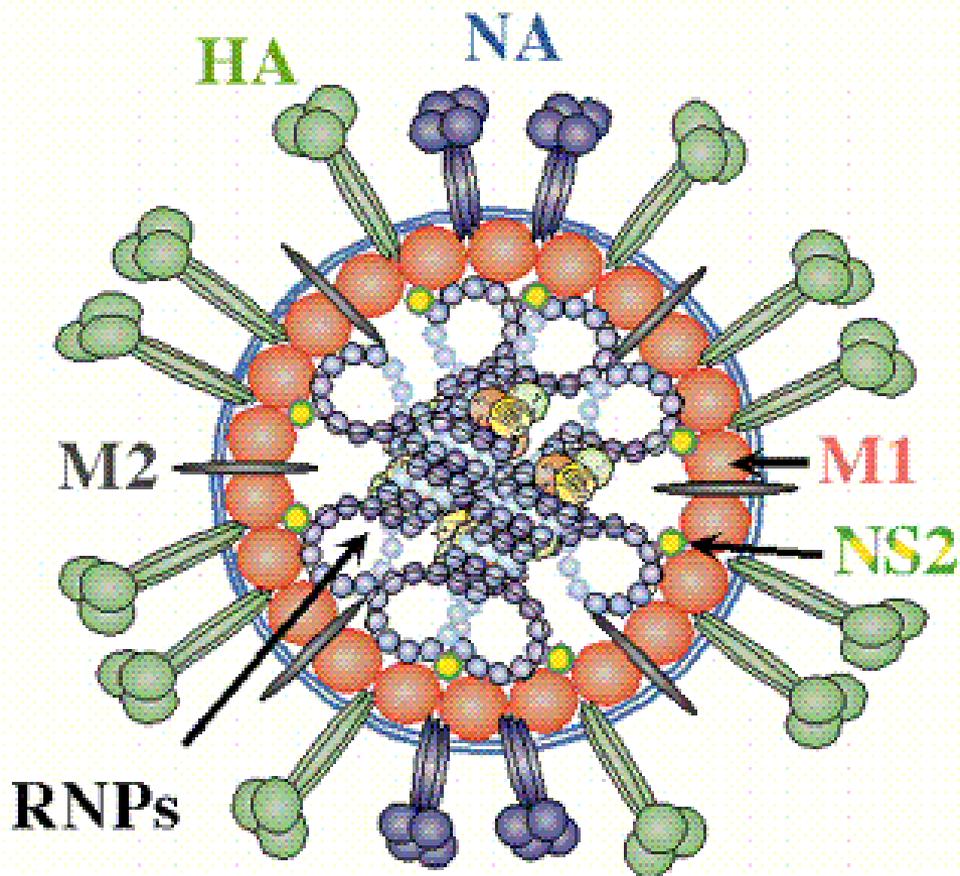


Influenza – i virus



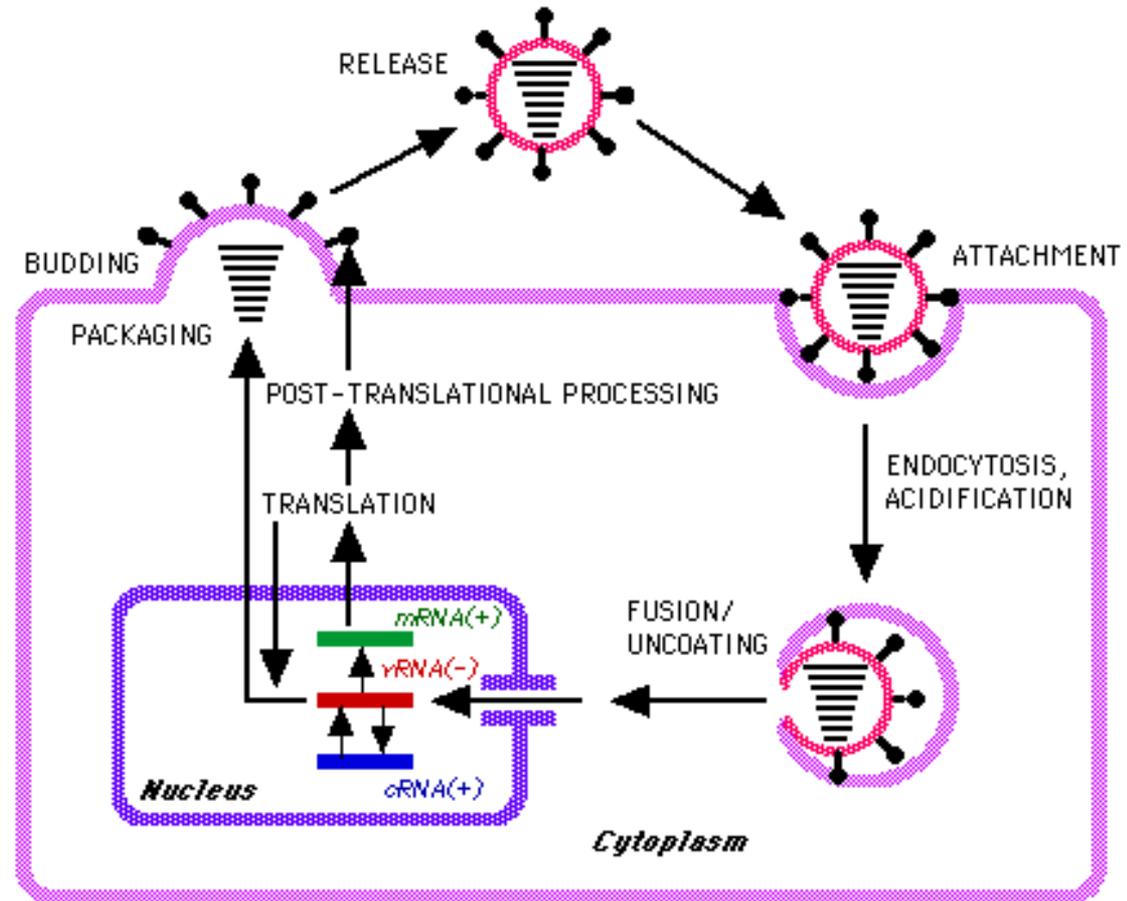
Influenza Virus

- L'agente etiologico isolato nel 1933
- Famiglia delle Orthomyxoviridae
- Pleiomorfi 80-100 nm
- Virus a RNA Singola catena RNA a polarità negativa è segmentato
- 3 tipi: A, B, C
- Influenza A infetta l'uomo ed altri animali (in particolare uccelli)
- Influenza A e B hanno 8 segmenti diversi (Influenza C ne ha 7)
- La segmentazione del genoma consente il riarrangiamento di segmenti tra virus diversi durante la co-infezione.
- Sottotipi dell'influenza A determinati dal tipo di emagglutinina e neuraminidasi



Ciclo replicativo dei virus influenzali

- L' RNA virale si replica producendo uno stampo (+) per sintetizzare i nuovi RNA virali (-).
- La sintesi del RNA produce molti errori nella trascrizione che porta a un tasso di mutazione di $1.3-3.7 \times 10^{-3}$ per sito per anno nell'HA



GENOMA VIRALE E PROTEINE

segmento	polipept	funzione
1	PB2	Sintesi RNA, Cap binding
2	PB1	Sintesi RNA, allungamento
3	PA	Sintesi RNA, attività proteasica?
4	HA	Riconoscimento recettore, fusione
5	NP	Lega l'RNA, nucleocapside
6	NA	Rilascio virale dalla cellula
7	M1	Matrice, principale componente capside
	M2	Canale ionico
8	NS1	Trasporto cell. RNA, splicing, traduzione
	NS2	sconosciuta

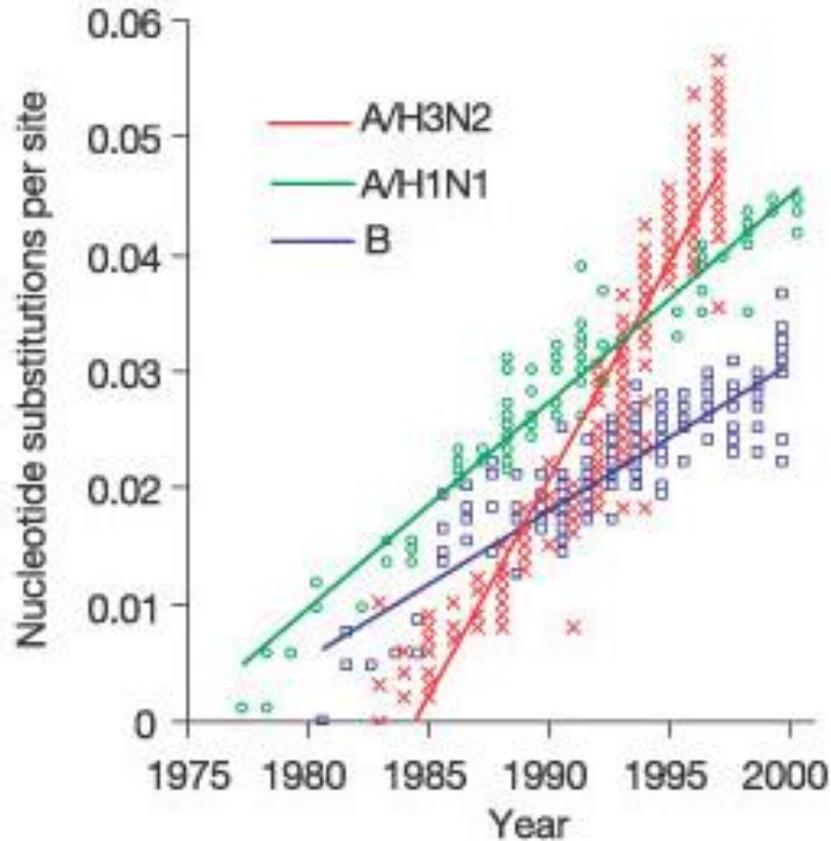
Virus influenzali

- Tipo A
 - patogenicità da moderata a severa
 - colpisce tutte le età
 - infetta l'uomo e altri animali
- Tipo B
 - epidemie di minore entità
 - infetta solo l'uomo
 - colpisce soprattutto bambini (?)
- Tipo C
 - rare infezioni nell'uomo
 - non provoca epidemie

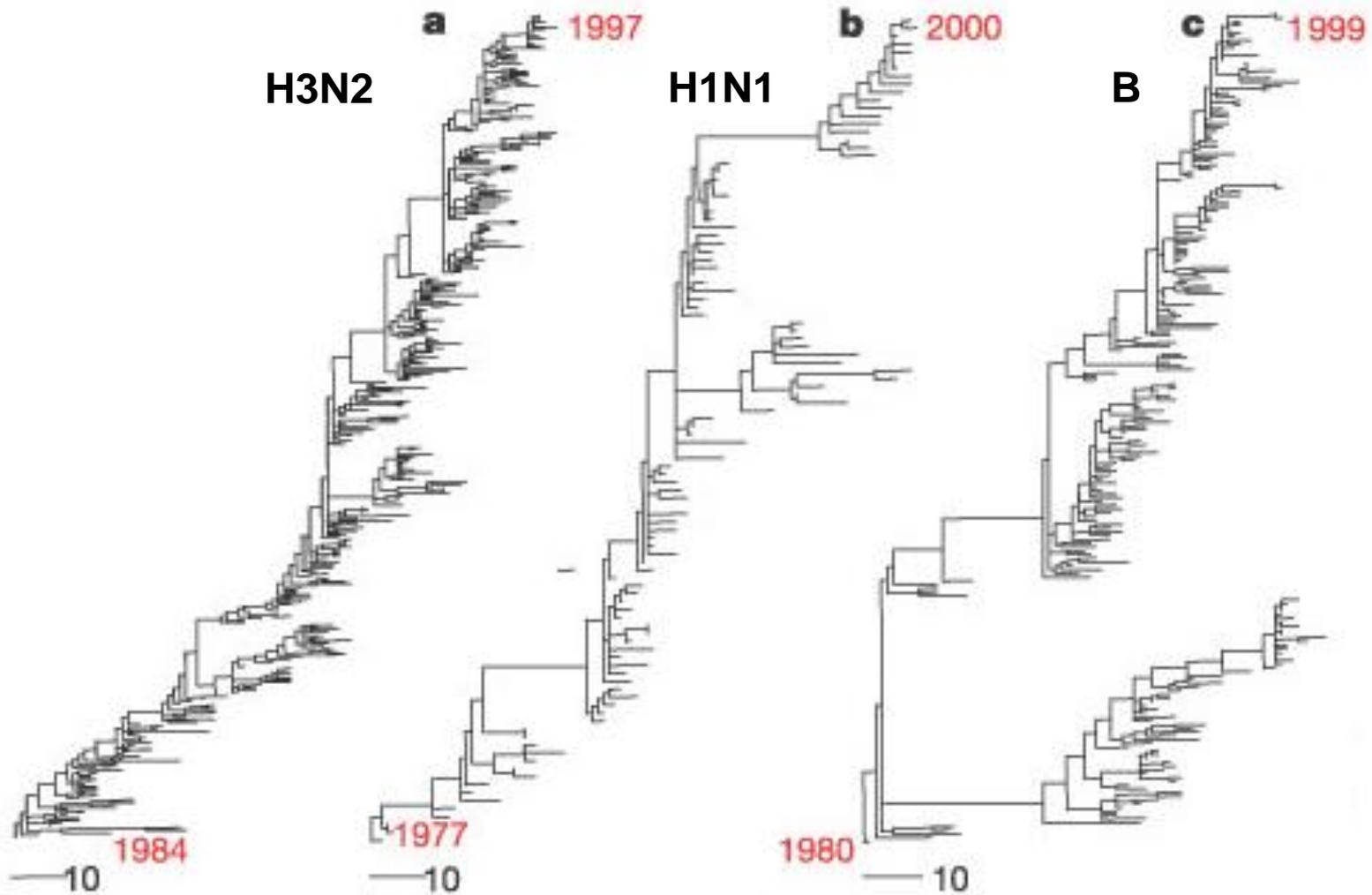
Influenza - modificazioni antigeniche

- La struttura dell'emagglutinina (H) e della neuraminidasi (N) cambiano periodicamente
- Drift modificazioni minori, stesso sottotipo
 - » mutazioni puntiformi nei geni HA e NA
 - » può causare epidemie
- Shift modificazione maggiore, nuovo sottotipo
 - » Ricombinazione/riassortimento di segmenti genomici
 - » può risultare in pandemia
-

Tassi di mutazione per i virus A e B



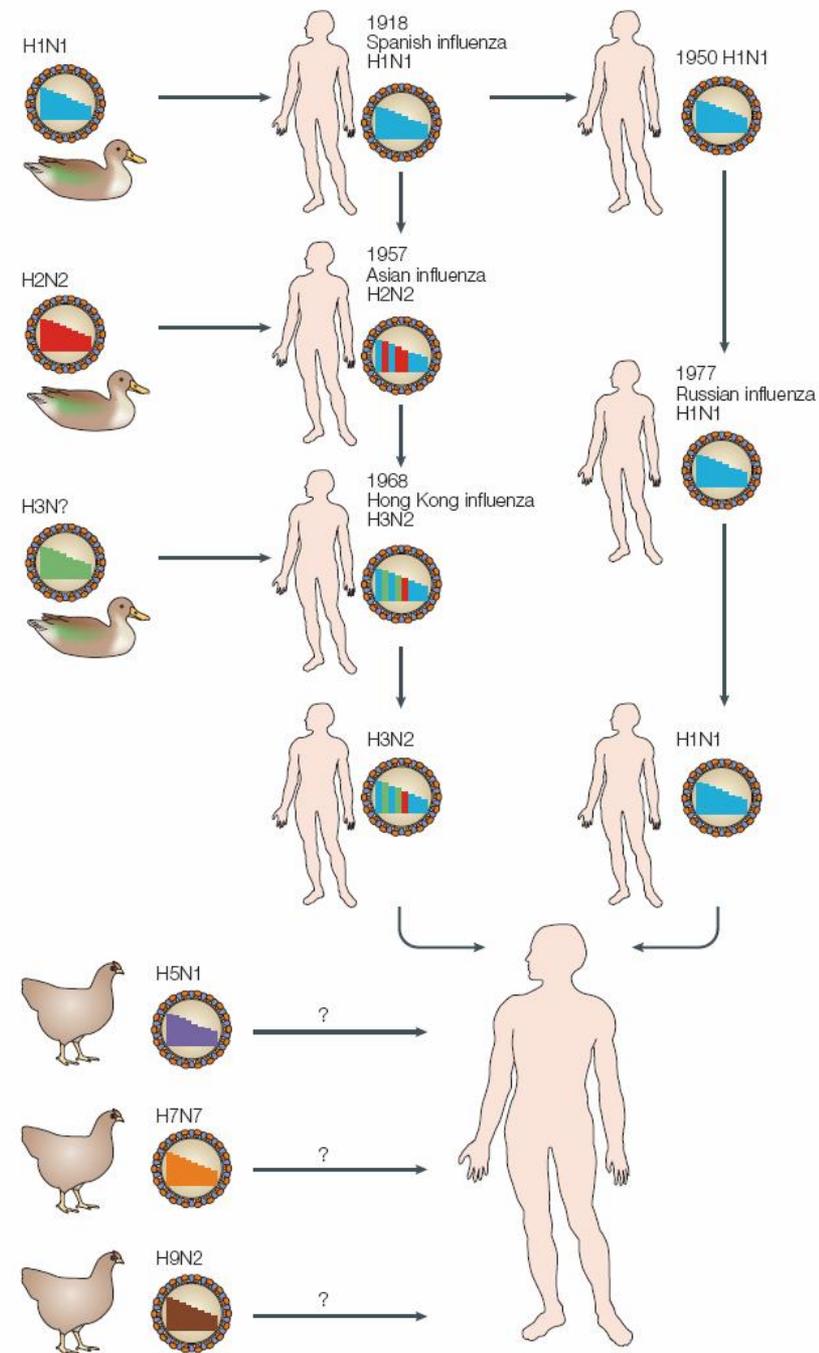
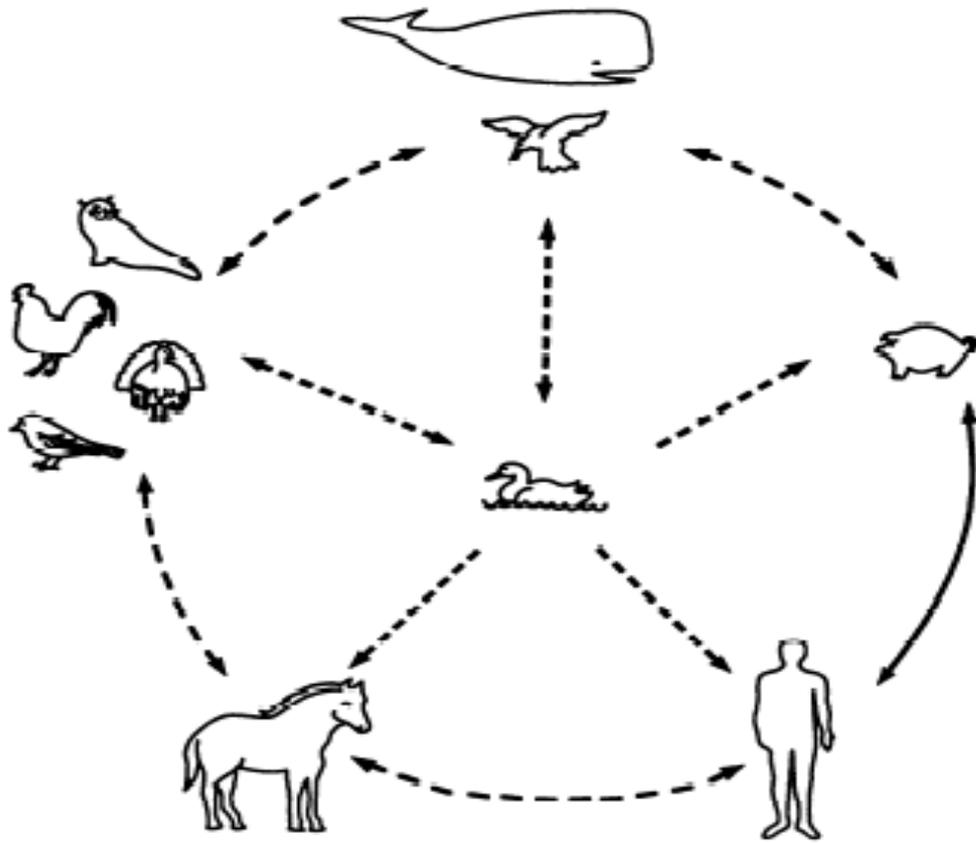
Dinamiche evolutive dell'Influenza



Shift Antigenici di Influenza A

Anno	Sottotipo	Gravità della Pandemia
1889	H3N2	Moderata
1918	H1N1	Severa
1957	H2N2	Severa
1968	H3N2	Moderata
1977	H1N1	Lieve
2009	H1N1pdm09	Lieve/moderata

Ecologia della Influenza A



Sottotipi dell'Emagglutinina di Influenza A

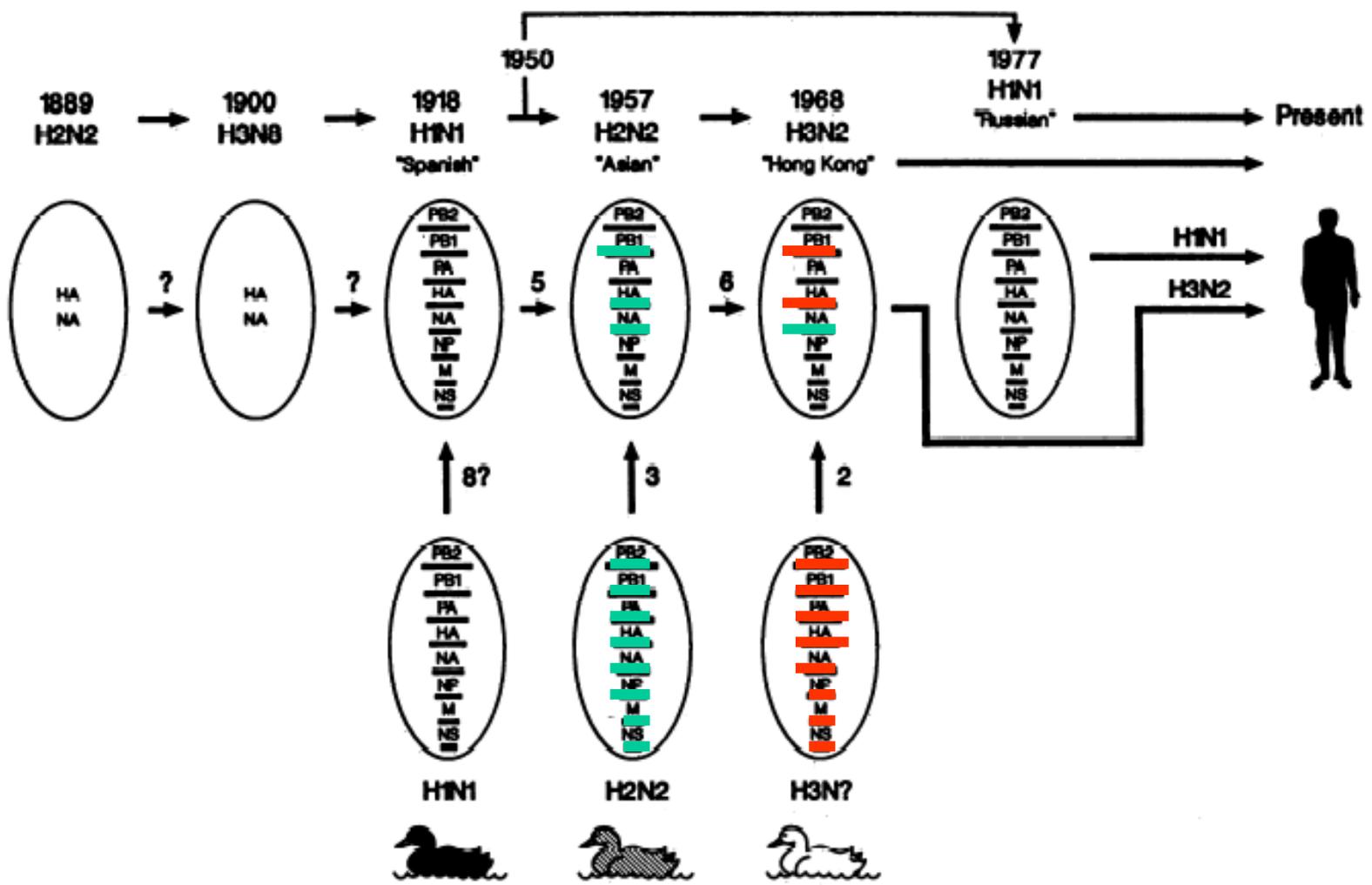
Subtype	Human	Swine	Horse	Bird
H1				
H2				
H3				
H4				
H5				
H6				
H7				
H8				
H9				
H10				
H11				
H12				
H13				
H14				
H15				
H16 (-18)				

Sottotipi della Neuraminidasi di Influenza A

Subtype	Human	Swine	Horse	Bird
N1				
N2				
N3				
N4				
N5				
N6				
N7				
N8				
N9				

Modificato da Levine AJ. *Viruses*. 1992;165,

Riassortimento genico e shift antigenico



Swine Influenza A (H1N1) Infection in Two Children – Southern California, March–April 2009

Case Reports

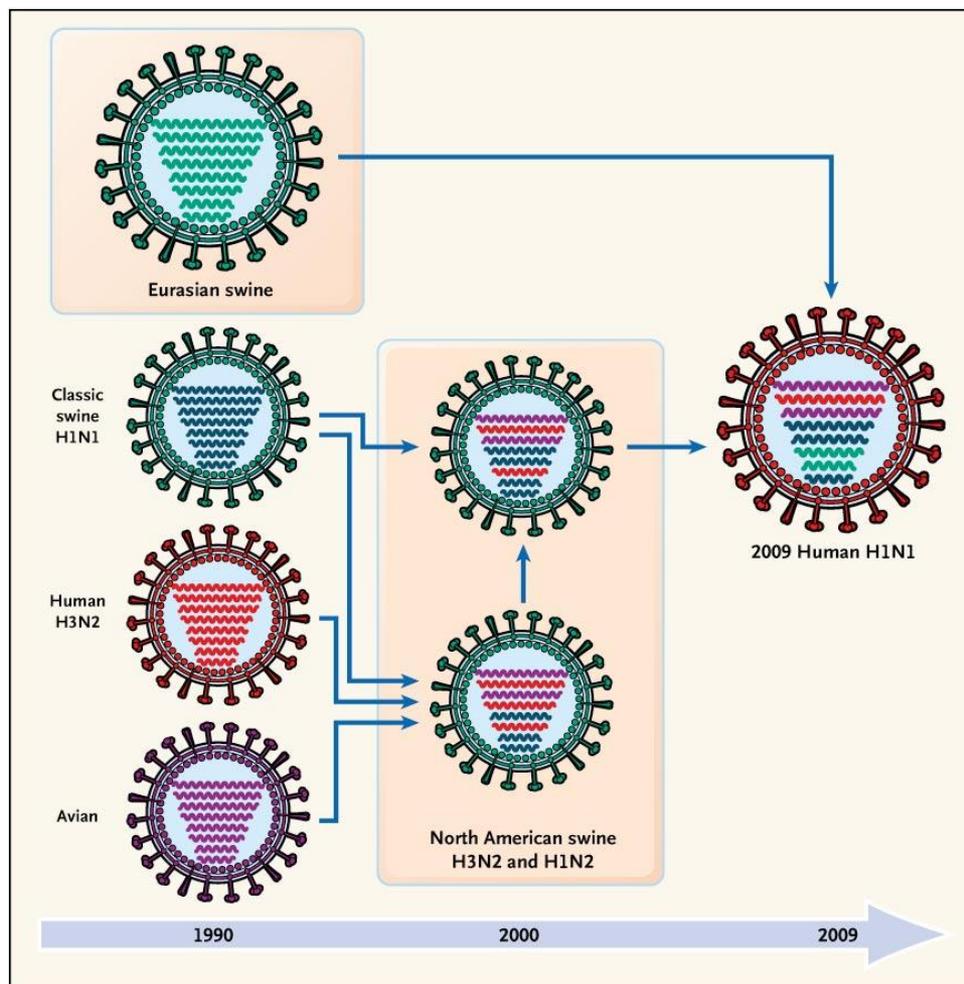
Patient A. On April 13, 2009, CDC was notified of a case of respiratory illness in a boy aged 10 years who lives in San Diego County, California. The patient had onset of fever,

Patient B. CDC received an influenza specimen on April 17, 2009, that had been forwarded as an unsubtypable influenza A virus from the Naval Health Research Center in San Diego, California. CDC identified this specimen as a swine influenza

CARATTERISTICHE FONDAMENTALI DI H1N1_v

- ASPETTI MOLECOLARI
 - Origine del virus
 - Fattori di virulenza

History of Reassortment Events in the Evolution of the 2009 Influenza A (H1N1) Virus



Trifonov V et al. N Engl J Med 2009;10.1056/NEJMp0904572



Triple-Reassortant Swine Influenza A (H1) in Humans in the United States, 2005–2009

Triple-Reassortant Swine H1N1 Influenza Virus (Patients 1–6 and 8–11)

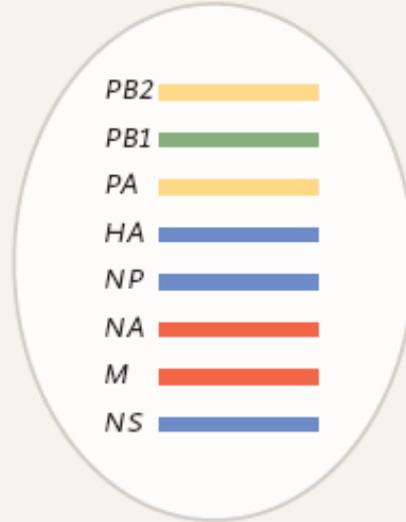
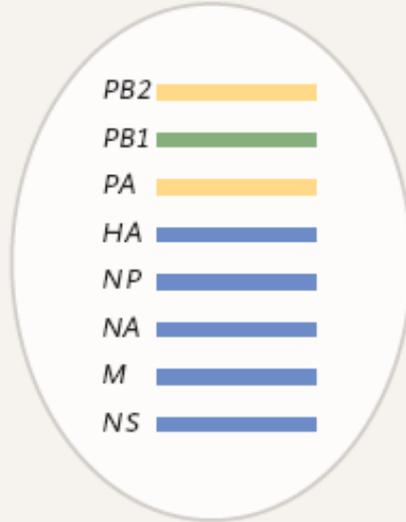
Triple-Reassortant Swine H1N2 Influenza Virus (Patient 7)



- Classic swine, North American lineage
- Avian, North American lineage
- Human (seasonal) H3N2
- Human (seasonal) H1N1

Human H1N1 Cases from Triple-Reassortant Swine

Human H1N1 Cases in California

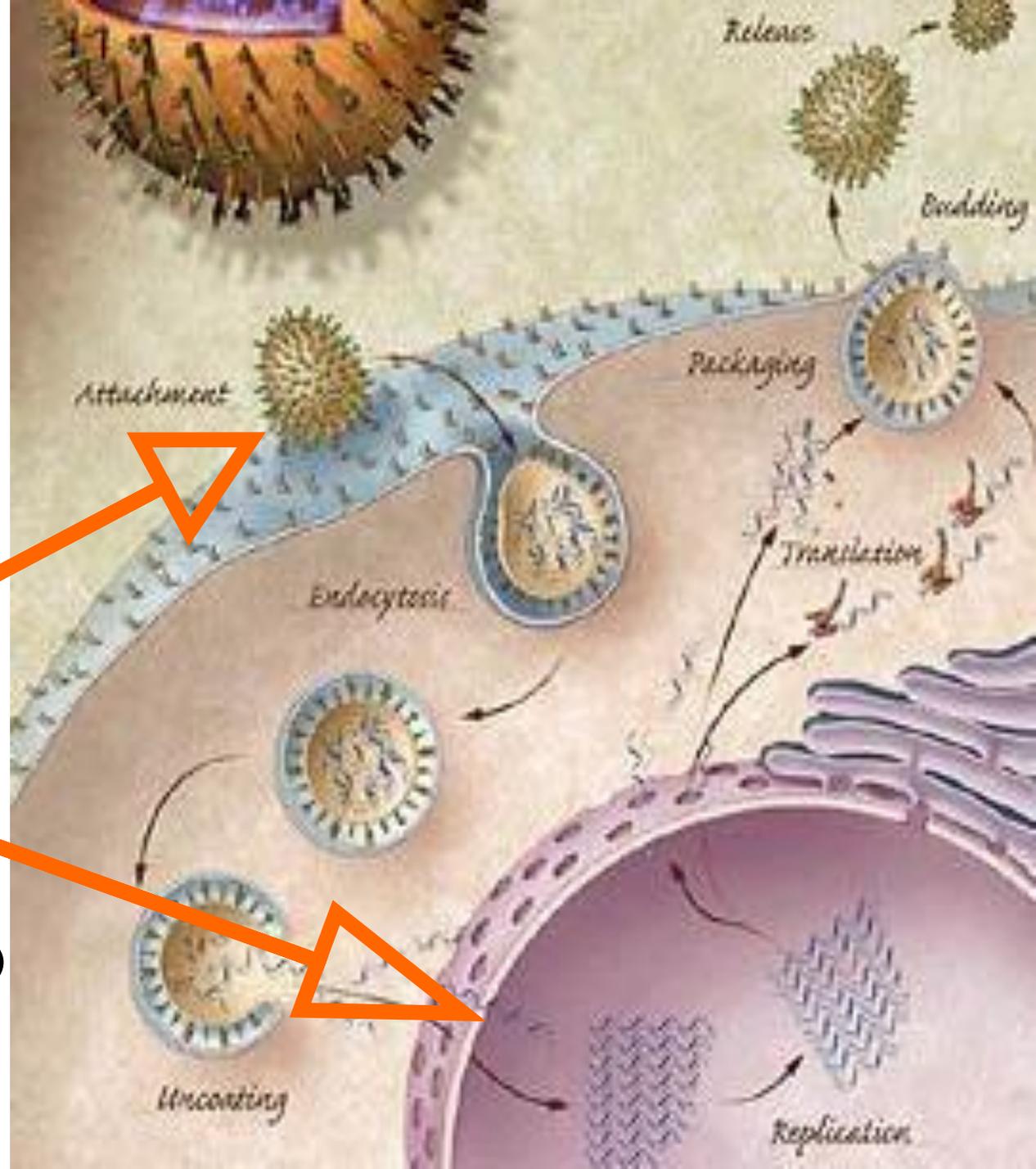


- Classic swine, North American lineage
- Avian, North American lineage
- Seasonal H3N2
- Eurasian swine lineage

**Come viene
superata la
barriera d'ospite**

Attachment
→ gene HA

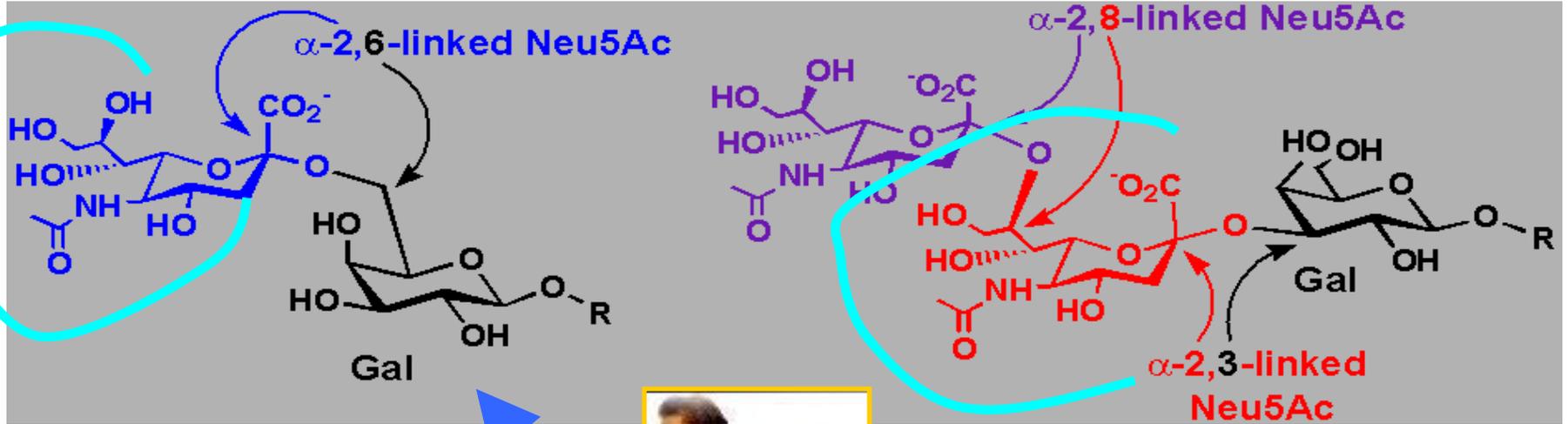
Replicazione
→ complesso Pol
(PB1, PB2, PA)



IL RECETTORE CELLULARE

Ac. N-glycolyl Neuraminico (Neu5Gc)

Ac. N-Acetyl Neuraminico (Neu5Ac)



- Uomo
 - trachea
- Maiale
 - Trachea
- Polli
 - intestino



- Uccelli
 - intestino
- Maiale
 - Trachea
- Cavallo
 - Trachea
- Uomo
 - Brochioli e alveoli

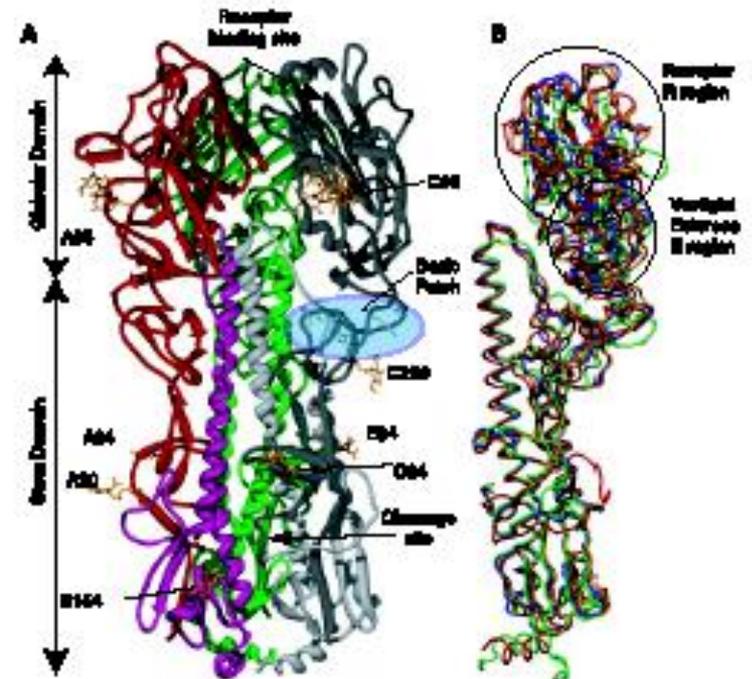
SITO DI LEGAME CON IL RECETTORE

- Gln 226 Leu 2-3 → 2-6
- Gly 228 Ser 2-3 → 2-6
- Gly 225 Asp 2-3 → 2-6
- Glu 190 Asp 2-3 = 2-6

Mutazioni H2 e H3

Mutazioni H1

- H1N1 pandemici
 - Asp in posizione 190 e 225 tropismo “umano”
 - Alcuni presentano in posizione 135 o 226 aminoacidi uguali a quelli di ceppi H5N1 isolati nell'uomo, (adattamento?)



RESIDUI AMINOACIDICI DI VIRUS UMANI ED AVIARI

Gene	N°	Residue	Avian	Human					
				Swine 1918	H2N2	H3N2	H5N1	H7N7	
PB2	(5)	199	A	S	S	S	S	A/S	
		475	L	M	M	M	M		
		567	D	D	N	N	N		
		627	E	K	K	K	K	E/K	K
		702	K	R	R	R	R	K/R	
PB1	(7)	375	N/S/T	S	S	S	S		
PA	(7)	55	D	N	N	N	N		
		100	V	V					
		382	E	D					
		552	T	S					



La mutazione 627 K è associata ad efficiente replicazione del virus a 33°C – alte vie aeree-trasmissibilità

K= Lisina, E= Ac Glutamico

Influenza H5N1 (agg. 03/2018)

- Casi : 860
- Morti: 454
- Letalità: 52,8%
- Segnalata per la prima volta in Asia (Cina, Vietnam, Thailandia)

Numero cumulativo di casi umani confermati di influenza aviaria A/H5N1 2003-17

Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003-2018

Country	2003-2009*		2010-2014**		2015		2016		2017		2018		Total	
	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths
Azerbaijan	8	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	5
Bangladesh	1	0	6	1	1	0	0	0	0	0	0	0	8	1
Cambodia	9	7	47	30	0	0	0	0	0	0	0	0	56	37
Canada	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
China	38	25	9	5	6	1	0	0	0	0	0	0	53	31
Djibouti	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Egypt	90	27	120	50	136	39	10	3	3	1	0	0	359	120
Indonesia	162	134	35	31	2	2	0	0	1	1	0	0	200	168
Iraq	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
Lao People's Democratic Republic	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Myanmar	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Nigeria	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Pakistan	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1
Thailand	25	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	17
Turkey	12	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	4
Viet Nam	112	57	15	7	0	0	0	0	0	0	0	0	127	64
Total	468	282	233	125	145	42	10	3	4	2	0	0	860	454

* 2003-2009 total figures. Breakdowns by year available on subsequent tables.

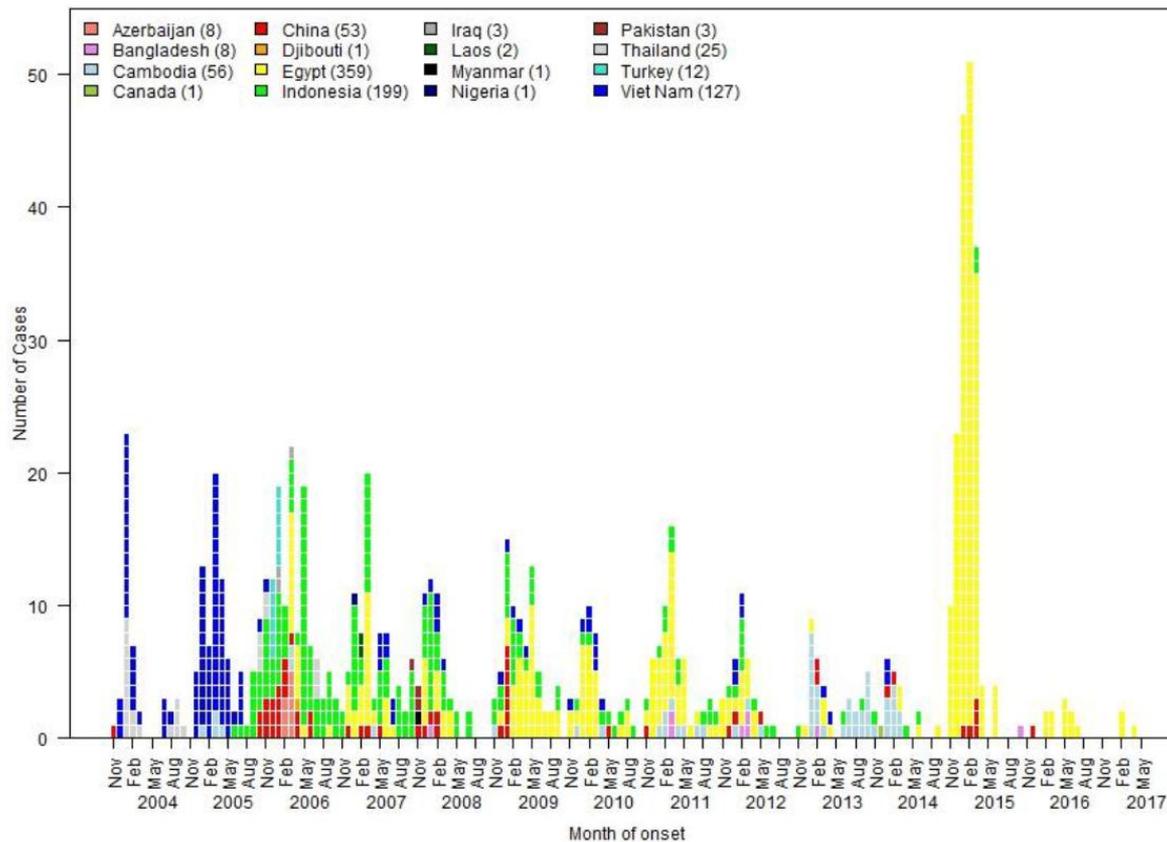
** 2010-2014 total figures. Breakdowns by year available on subsequent tables.

Total number of cases includes number of deaths. WHO reports only laboratory cases. All dates refer to onset of illness.

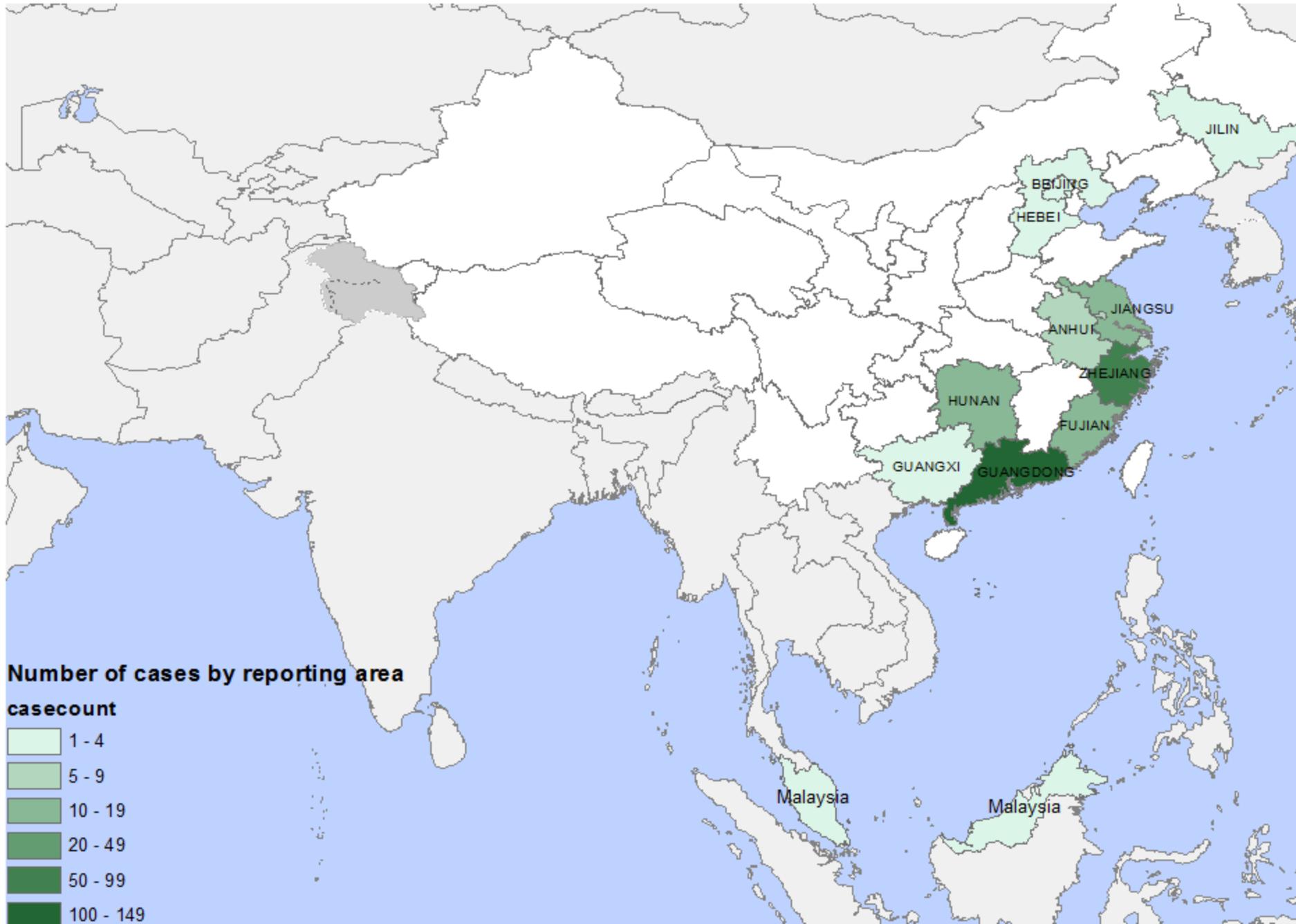
Source: WHO/GIP, data in HQ as of 2 March 2018



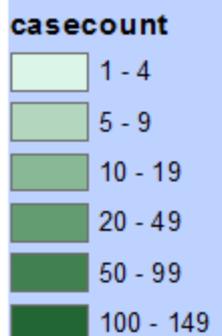
Curva epidemiologica dei casi umani di influenza aviaria A(H5N1) per settimana, 2004-2017



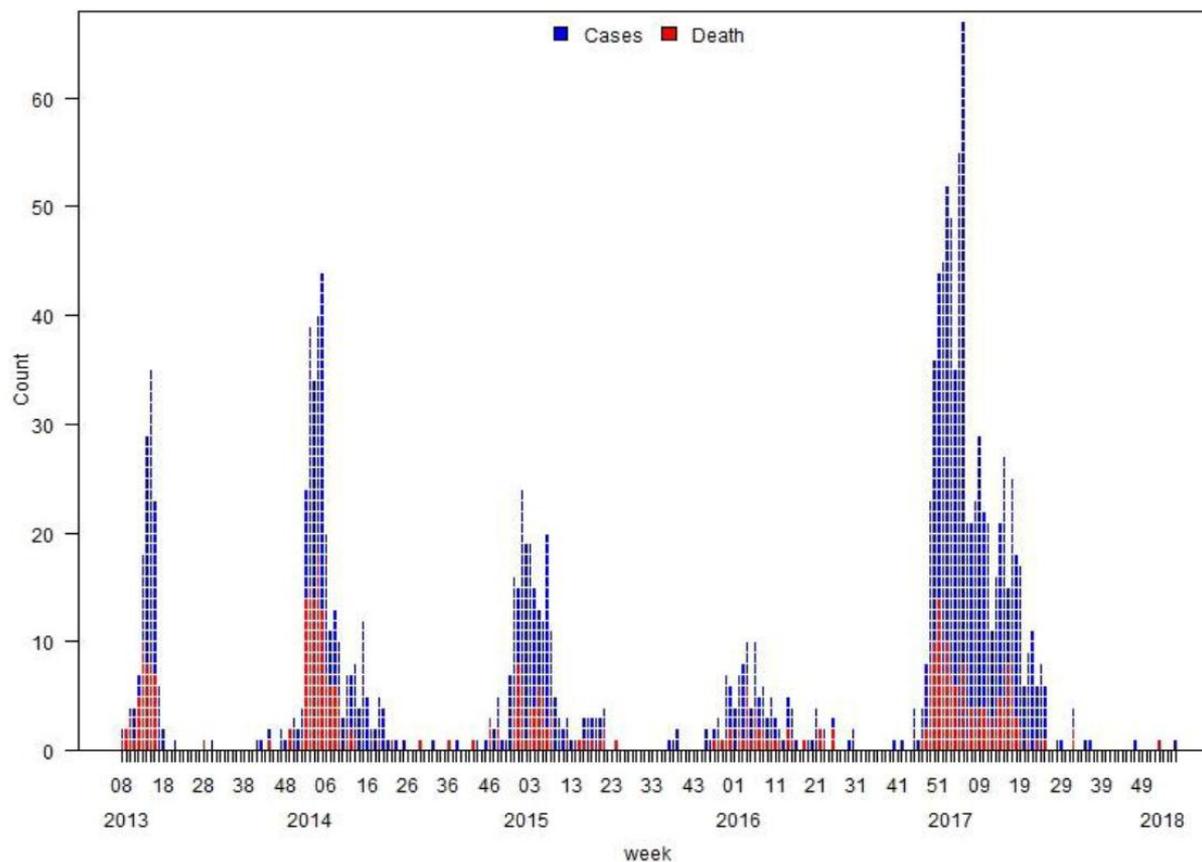
Areas reporting confirmed human cases for influenza A(H7N9) to WHO from 2013-06-01



Number of cases by reporting area



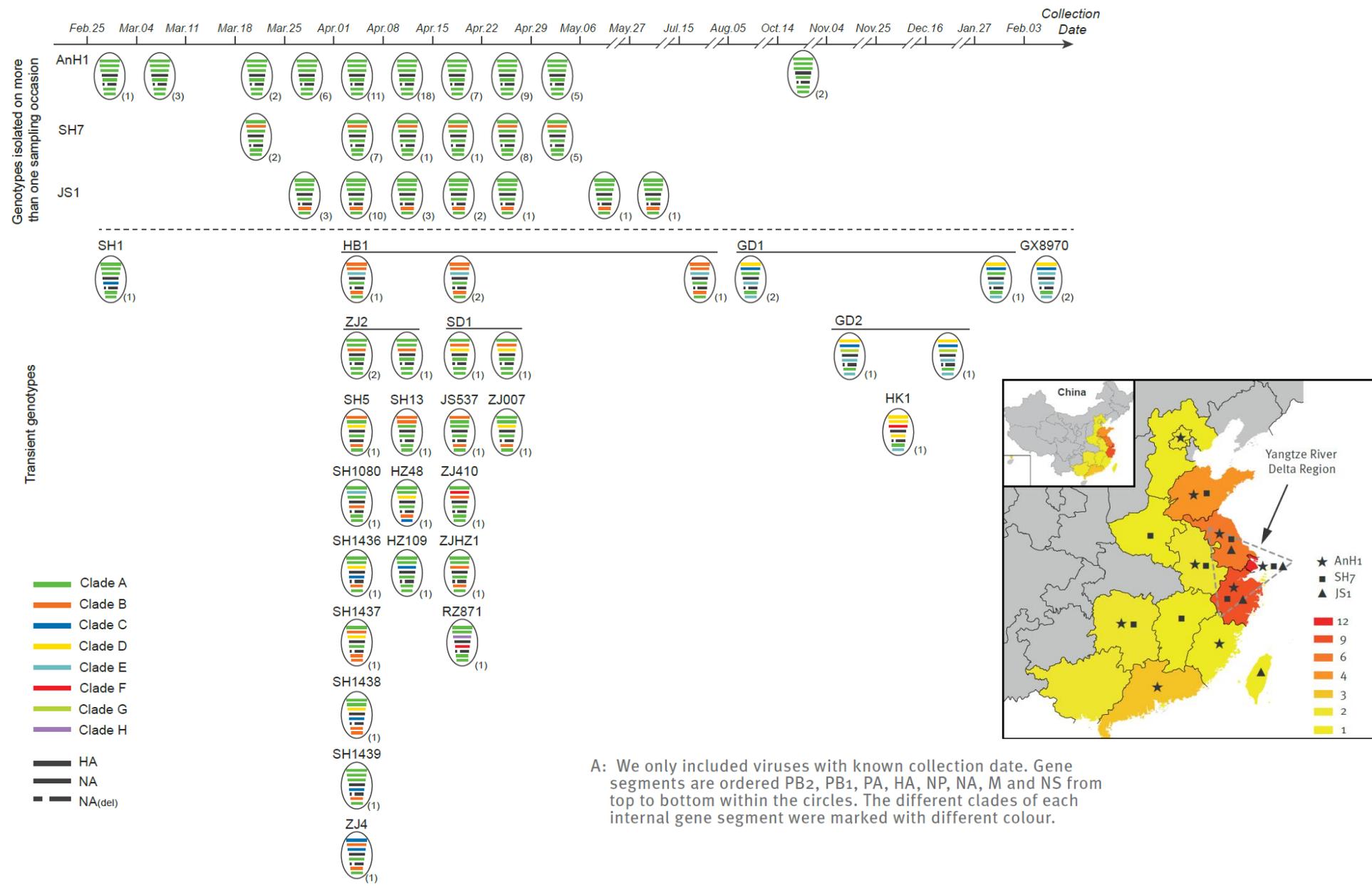
Curva epidemiologica dei casi umani di influenza aviaria A(H7N9) per settimana, 2004-2017



02/03/2018: 1567casi, 615 morti, letalità 39,2%

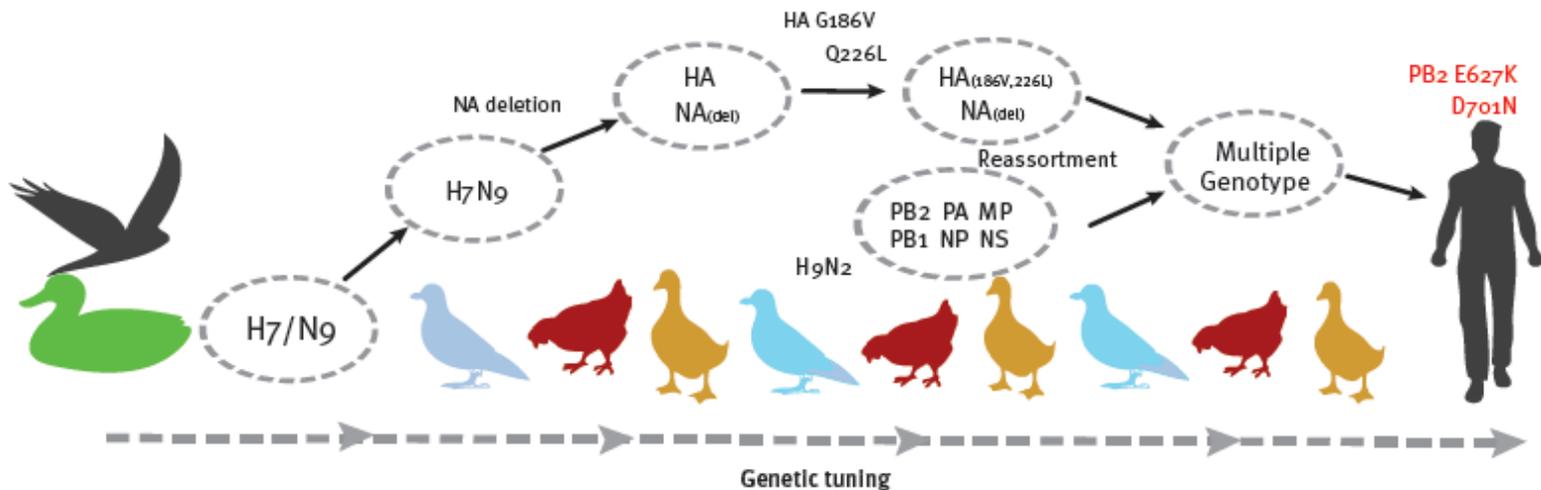
FIGURE 3

Multiple genotypes of influenza A(H7N9) viruses (A) and geographic distribution of different genotypes (B), China, 26 February 2013–5 February 2014 (n=142)

A

A: We only included viruses with known collection date. Gene segments are ordered PB₂, PB₁, PA, HA, NP, NA, M and NS from top to bottom within the circles. The different clades of each internal gene segment were marked with different colour.

Evoluzione di H7N9

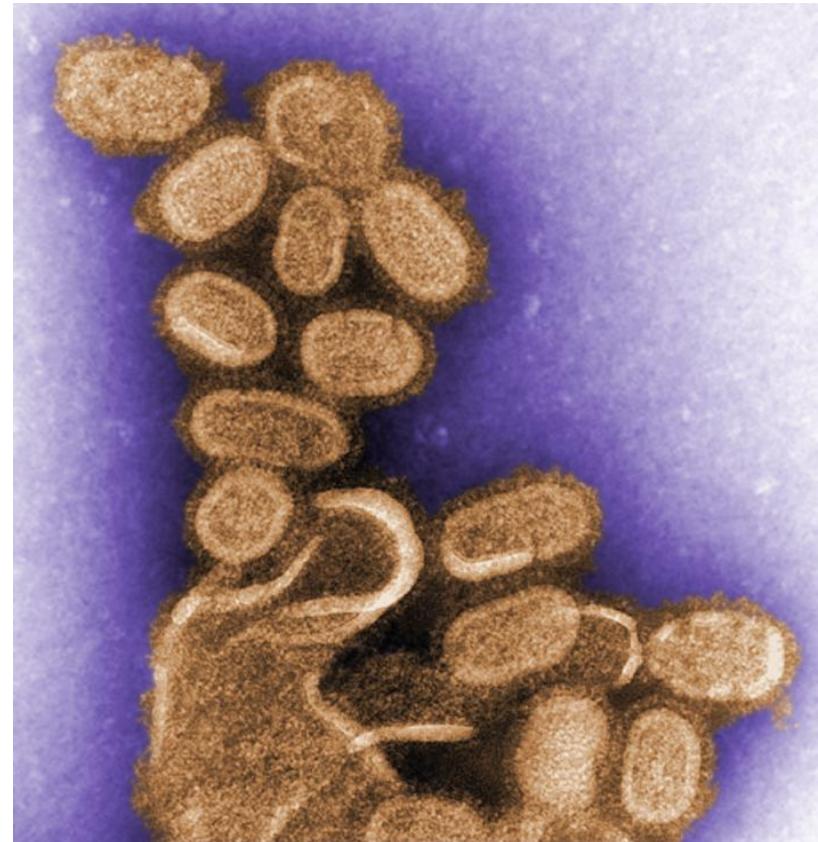


Caratteristiche del virus

- Patogenicità nei polli
 - L' HA non contiene sequenze multi basiche al sito di clivaggio, ma una singola arginina, caratteristica dei virus aviari a bassa patogenicità. Potrebbe quindi diffondersi nel pollame con pochi segni clinici, come un “silent spreader”, più difficile da identificare. Un virus LP non è detto che sia tale anche in un' altra specie.
- Adattamento ai mammiferi
 - Mutazione 627 E > K nella sequenza di PB2, indicativa di adattamento ai mammiferi.
 - HA: leucina in posizione 217 di HA1 (equivalente al residuo 226 dei virus H3): riconosce **il legame α 2-6** (recettori tratto respiratorio umano e di altri mammiferi)
 - NA stalk: presenta una delezione di 5 aa (nella neuraminidasi N1 delezioni dello stalk frequentemente osservata nell' adattamento e trasmissione di virus aviari “selvatici” al pollame domestico e ai mammiferi)
- Sensibilità agli antivirali
 - NA: R292K, mutazione associata, in altri sottotipi , a resistenza agli inibitori-NA. Tuttavia i saggi fenotipici hanno rivelato sensibilità sia all' oseltamivir che allo zanamivir.
 - Gene M: la mutazione S31N è associata a resistenza a amantadina e rimantadina. Deve essere ancora confermata da saggi fenotipici.

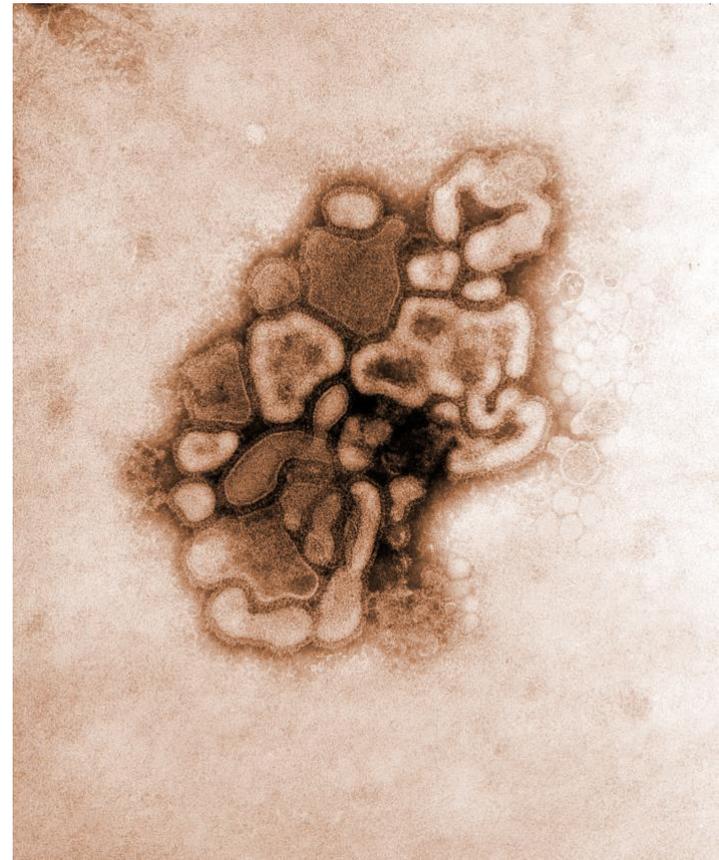
Diagnosi di Influenza

- **Metodi rapidi**
- **Metodi tradizionali**
 - Isolamento in colture cellulari/uova embrionate
 - Sierologia
- **Metodi molecolari**
- **Resistenze agli inibitori della Neuraminidasi**

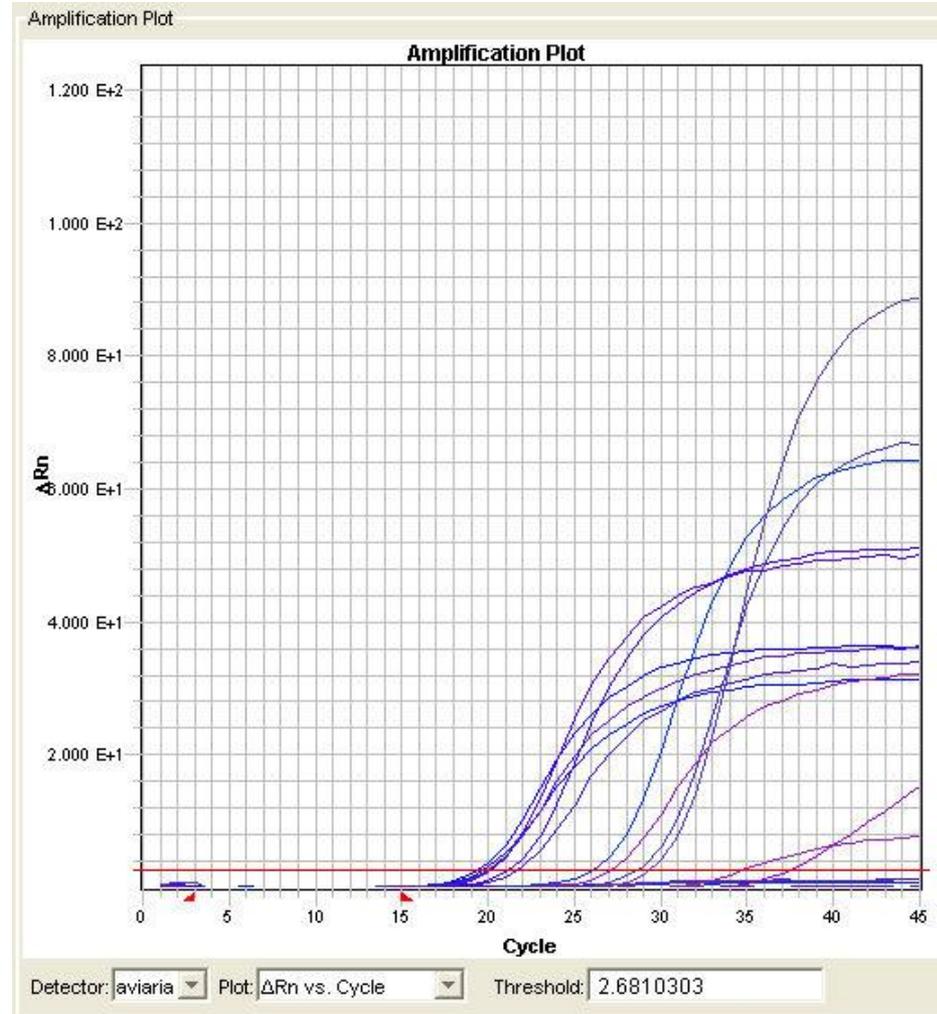
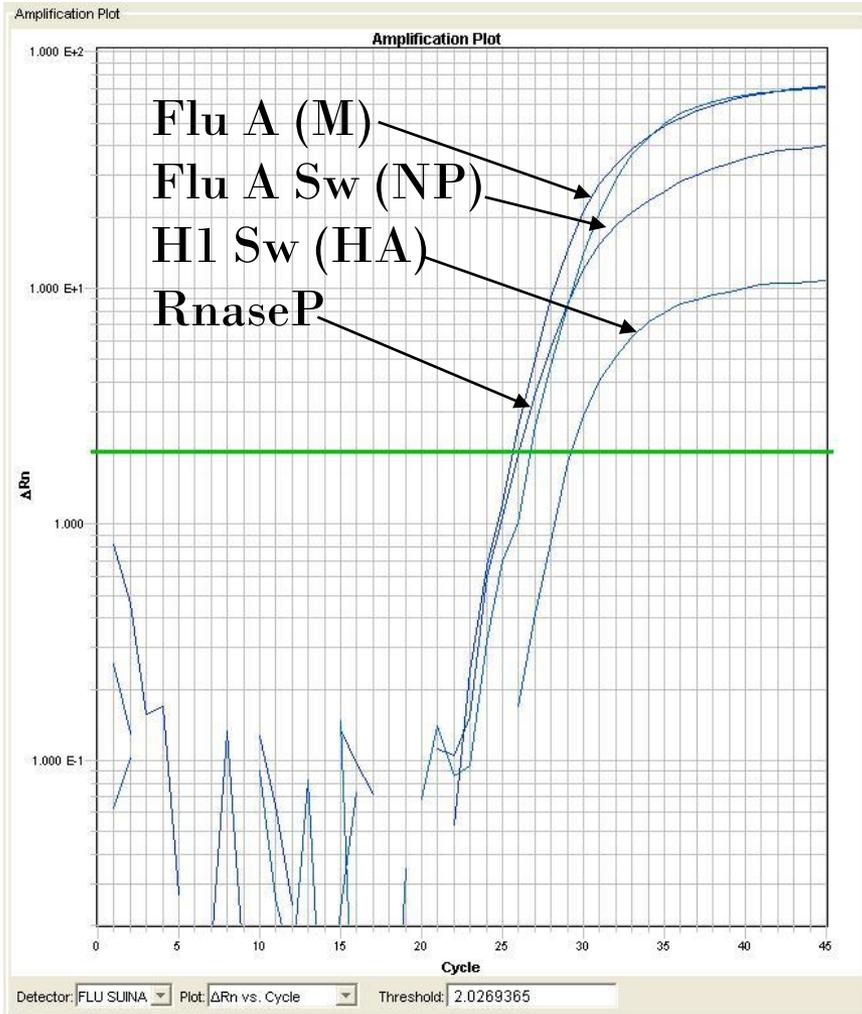


Metodi molecolari

- RT PCR
- Real time RT PCR
- (Microarray)

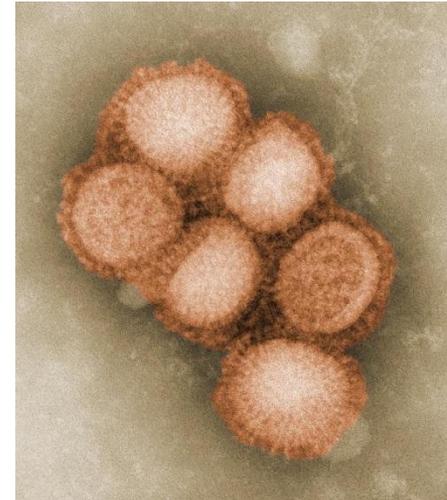


Diagnosi: real time PCR



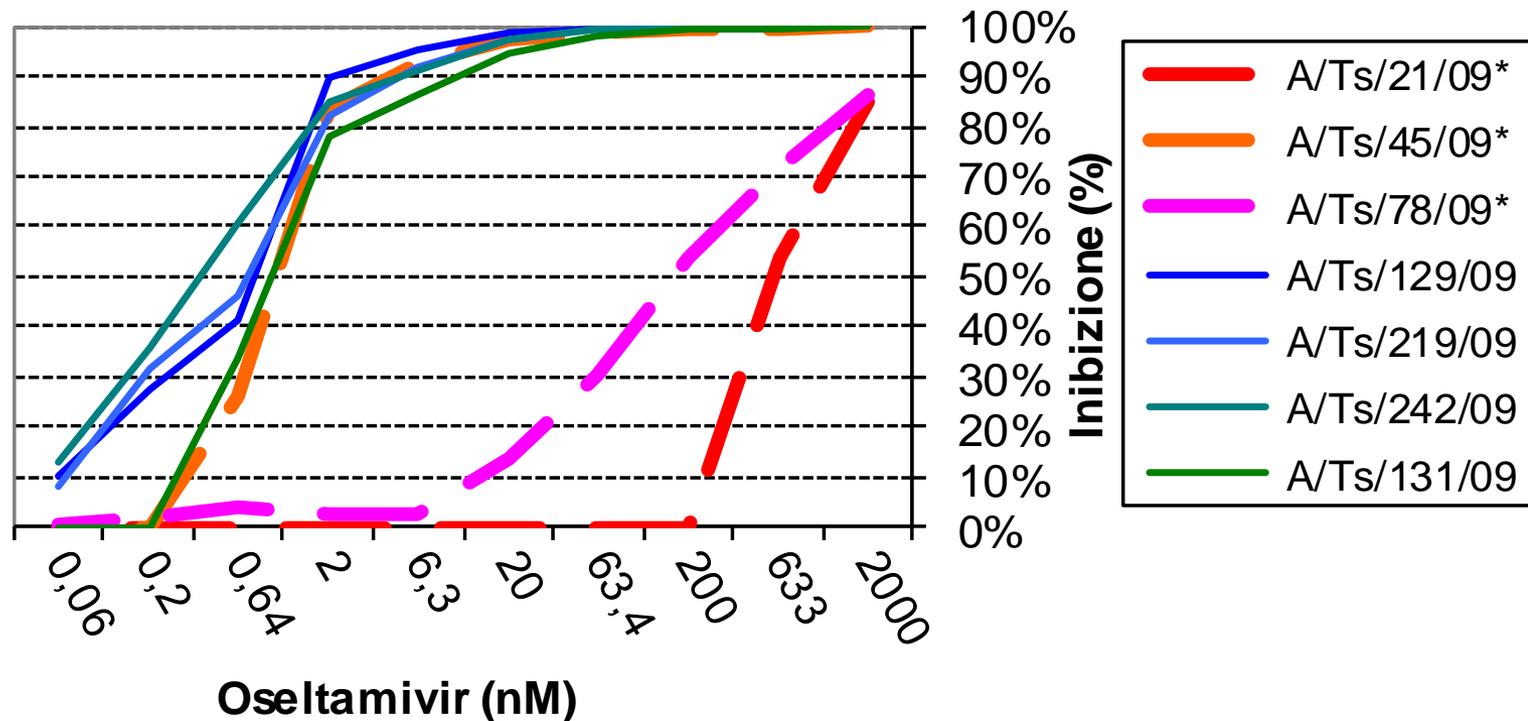
Resistenze agli inibitori della Neuraminidasi

- Mutazioni associate a resistenza:
 - H275Y (N1) resistenza a Oseltamivir ma non ad Zanamivir
 - Q136K (N1) resistenza a Zanamivir ma non ad Oseltamivir
 - N294Y (N1) bassa resistenza ad Oseltamivir
 - R292K (N2) resistenze ad entrambi
 - E119V (N2) resistenza a Oseltamivir ma non ad Zanamivir
 - N294Y (N2) bassa resistenza ad Oseltamivir
- Il 25% dei ceppi di Influenza stagionale H1N1 isolati nel 2008 in Europa presentavano mutazioni di resistenza
- 31 ceppi di H1N1 pandemico resistenti su più di 10000 campioni testati, tutti con la stessa mutazione H275Y che conferisce resistenza all'oseltamivir ma non al zanamivir)



Resistenze agli inibitori della Neuraminidasi

Curve di inibizione di ceppi H1N1pdm (linea continua) e H1N1 (l. tratteggiata) nella stagione 2009/10



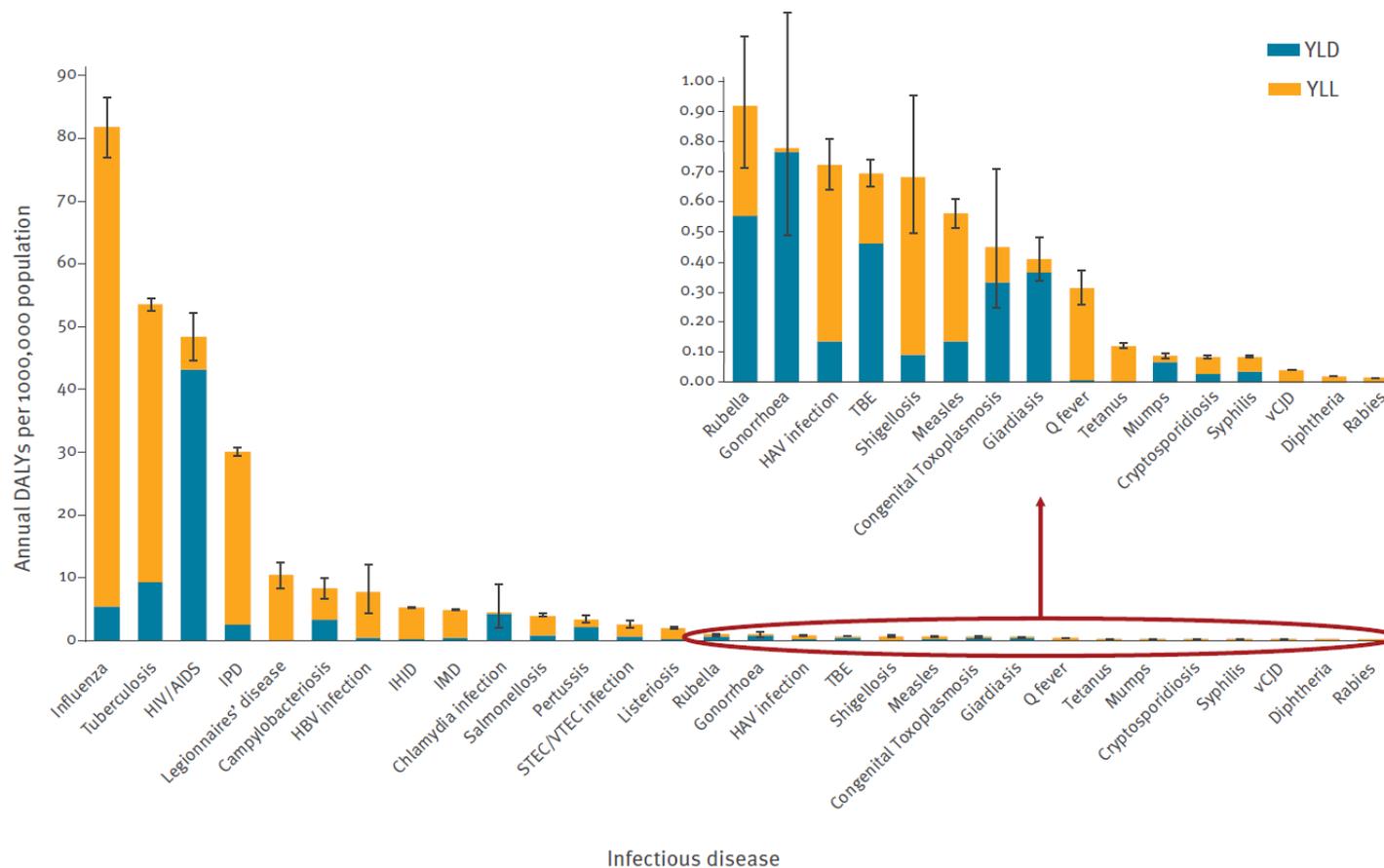
Prevenzione

- Sorveglianza epidemiologica/virologica
- Vaccinazione
 - Vaccini trivalenti
 - Vaccini quadrivalenti

Perché è importante sorvegliare l'Influenza?

Perché è una malattia con un impatto
importante sulla salute pubblica!

Impact of infectious diseases on population health using incidence-based disability-adjusted life years (DALYs): results from the Burden of Communicable Diseases in Europe study, European Union and European Economic Area countries, 2009 to 2013



Influenza virologic surveillance, vaccination, hospitalization and mortality in people ≥ 65 during 12 epidemic seasons between 2002 and 2015 in the Friuli Venezia Giulia Region.

Valent Francesca¹, Santon Daniela², Caracciolo Ilaria², Coppola Nora³, Gallo Tolinda³, Gobbato Michele¹, D'Agaro Pierlanfranco^{2,4}

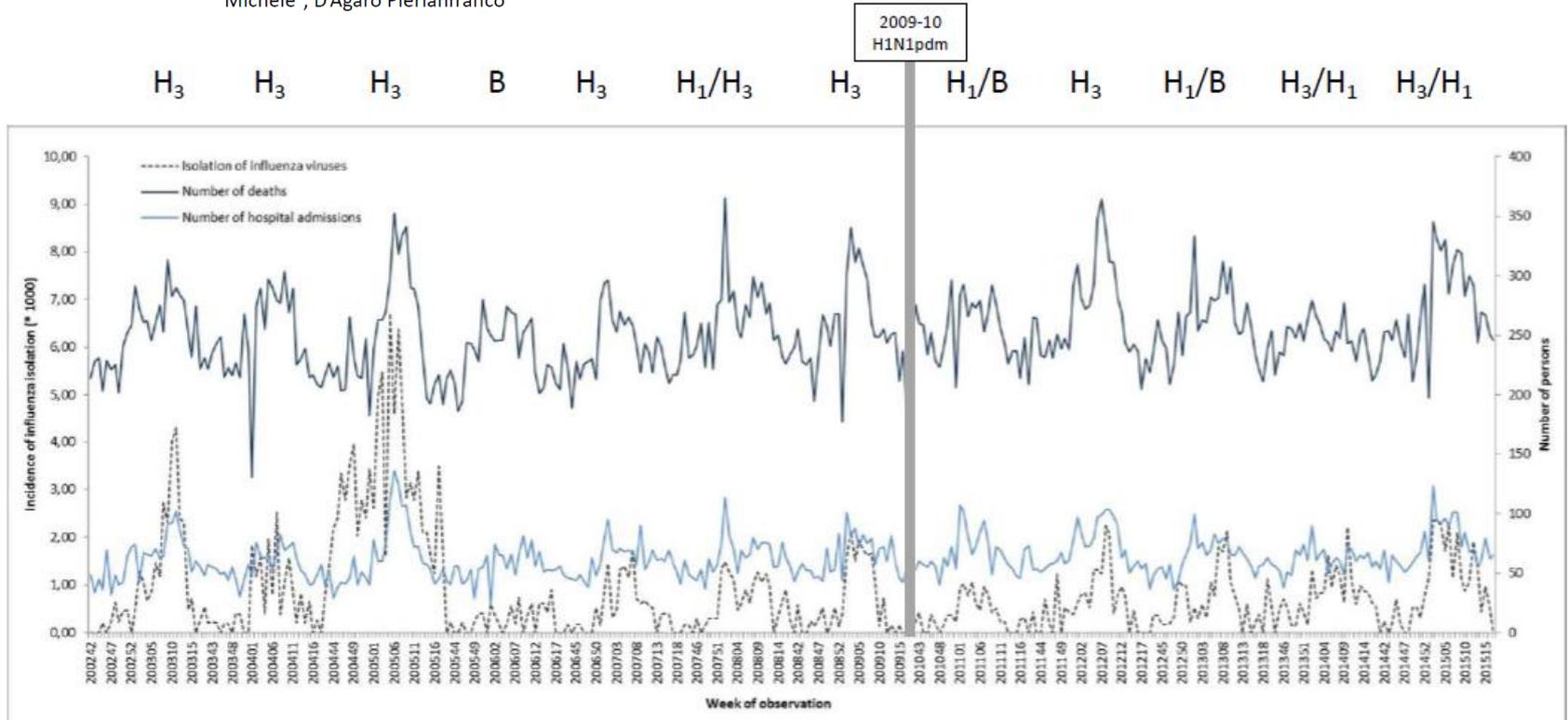


Fig. 2. Weekly time series of the virus identification rate per 1000 inhabitants ≥ 65 years of age, of the number of deaths, and of the number of hospital admissions. Influenza seasons 2002/2003-2014/2015, Friuli Venezia Giulia, Italy.

La mortalità e le ospedalizzazioni aumentano all'aumentare delle positività per Influenza nella sorveglianza virologica (5 morti e 3.5 ospedalizzazioni in più per incrementi di un punto del tasso di isolamento virale)

Tassi di ospedalizzazione per influenza (dati USA)

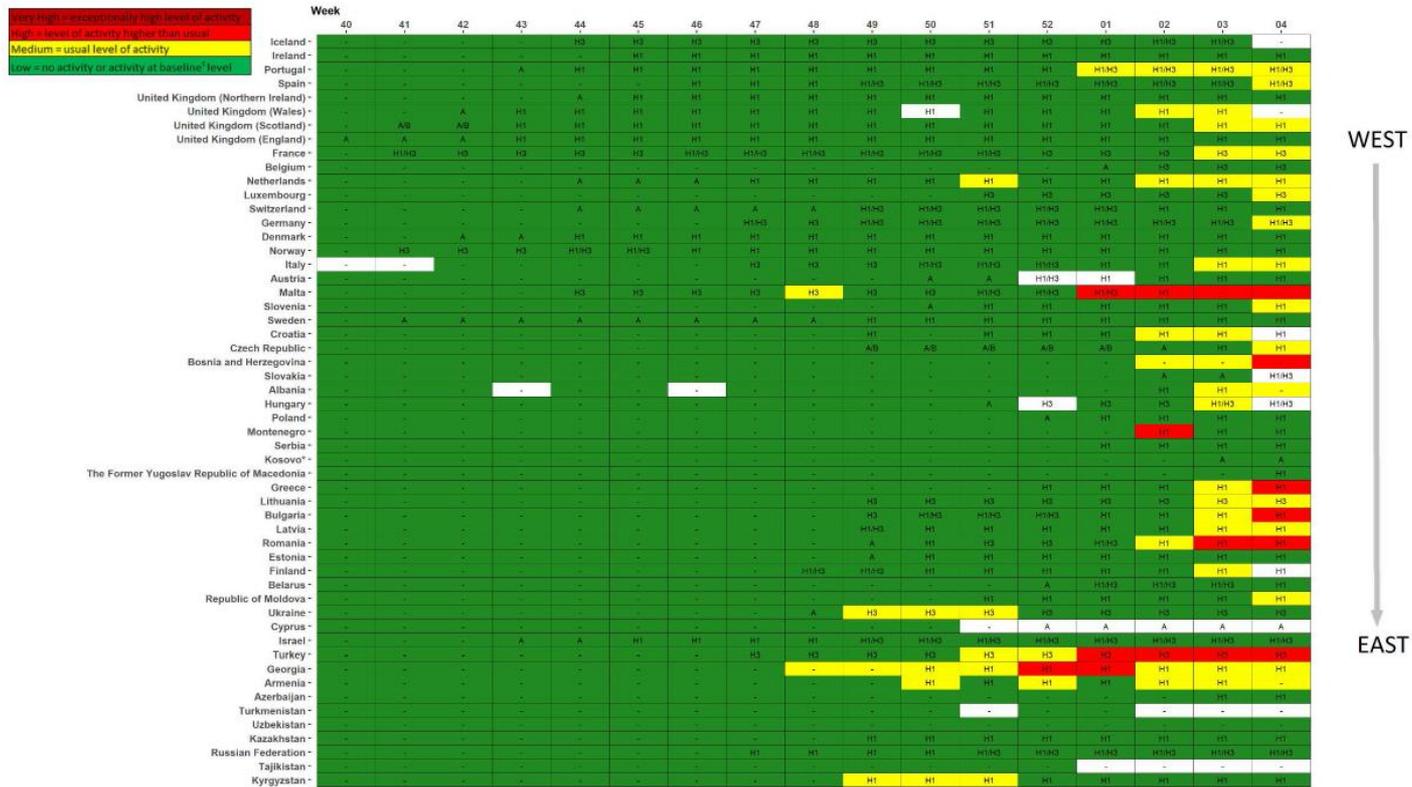
Classi di età	Tasso di ospedalizz. (x 100.000)	
	Pazienti a rischio	Popolazione normale
0-4	500	100
5-14	200	20
15-44	40-60	20-30
45-64	80-400	20-40
> 64	200->1000	

Sorveglianza epidemiologica dell'Influenza

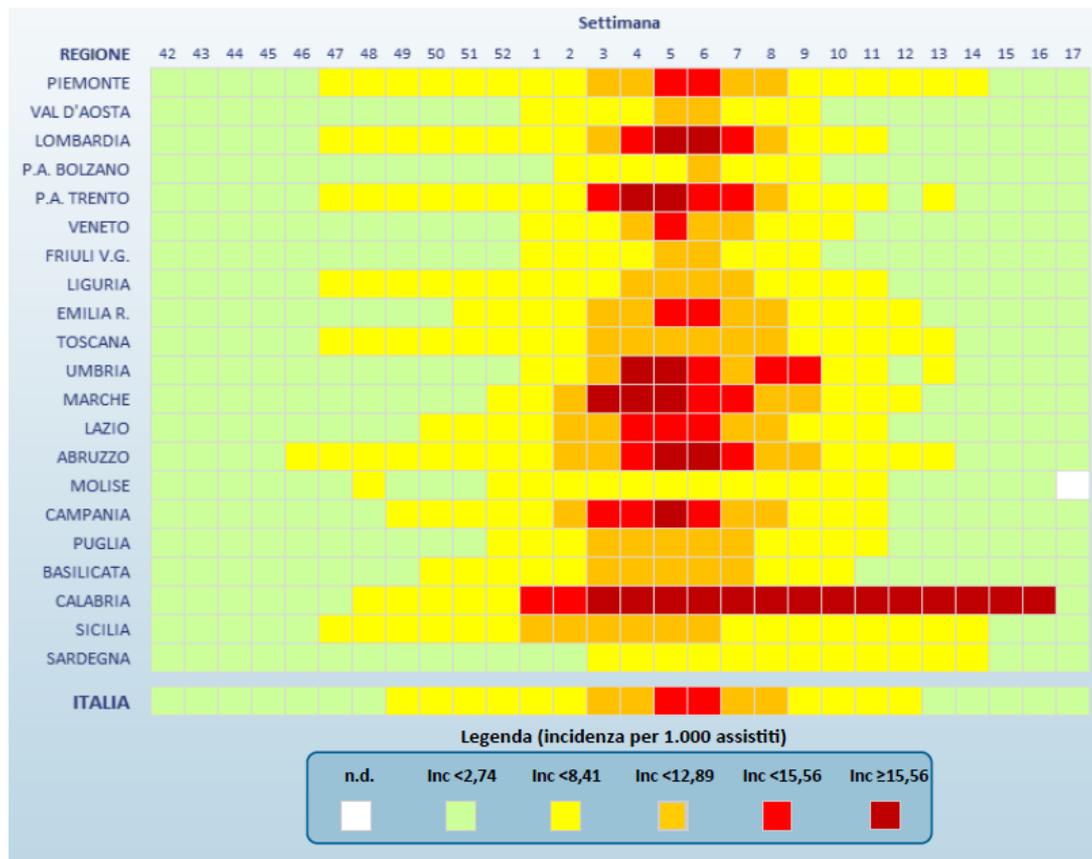
Quantifica l'impatto epidemiologico
dell'Influenza nella stagione
epidemica

.... Nella regione europea - 2018/19

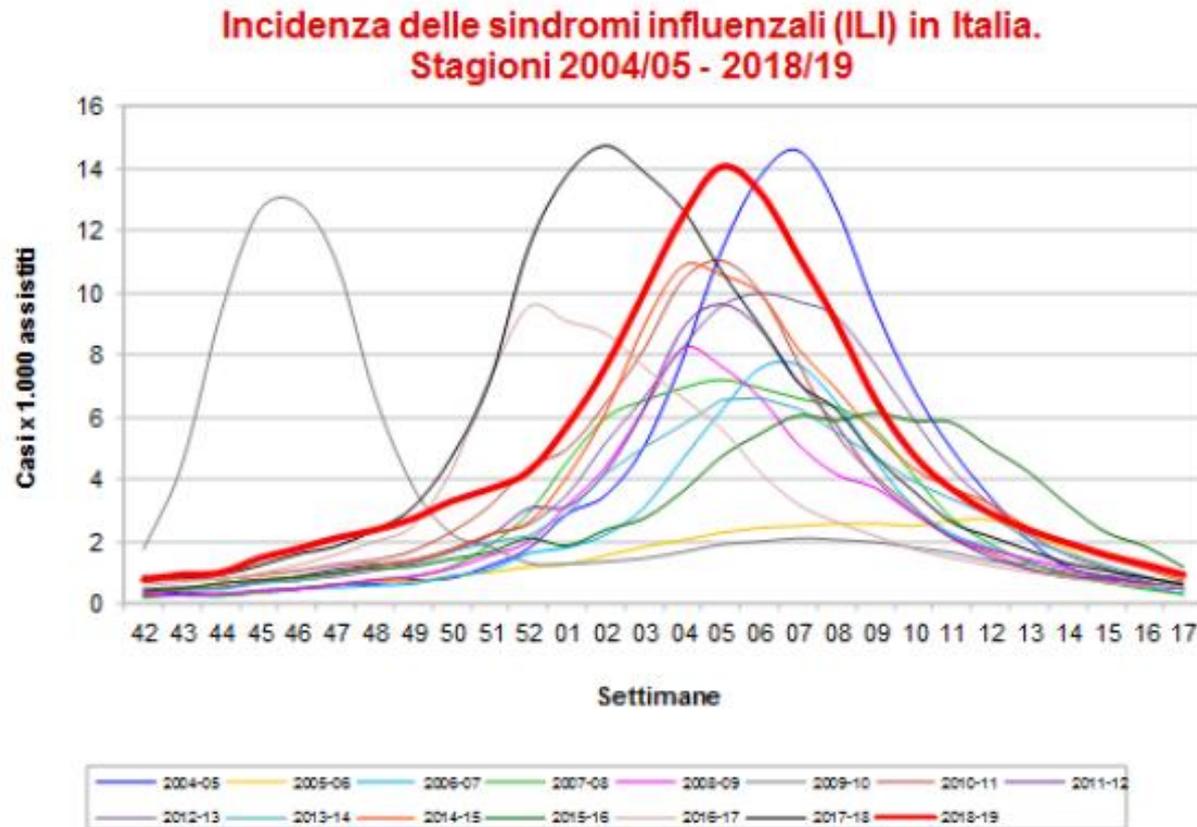
Country-Reported Intensity of Influenza Activity and Calculated Dominant Virus (sub)type (based on at least 60% of all cumulative [sentinel and non-sentinel] detections) by Week of the Influenza Season



.... In Italia – 2018/19

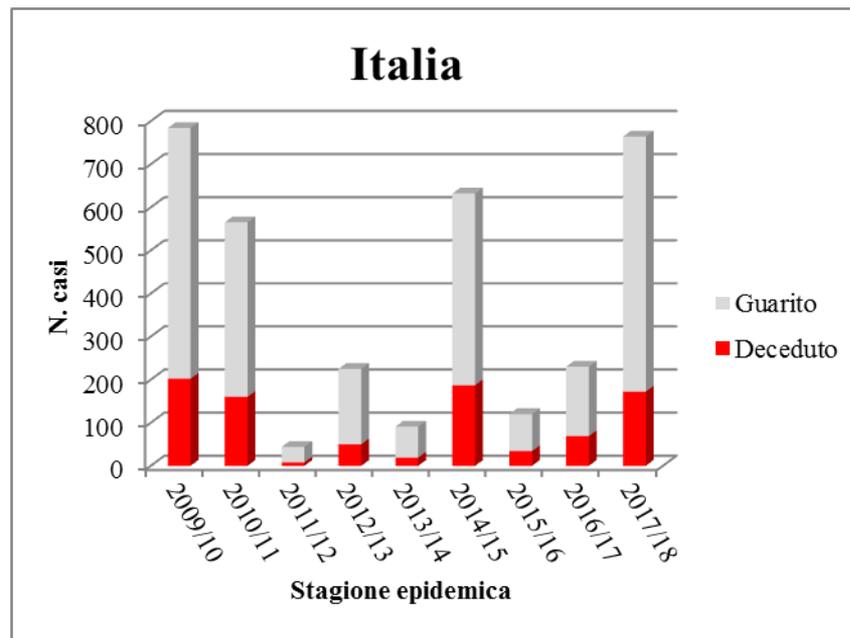
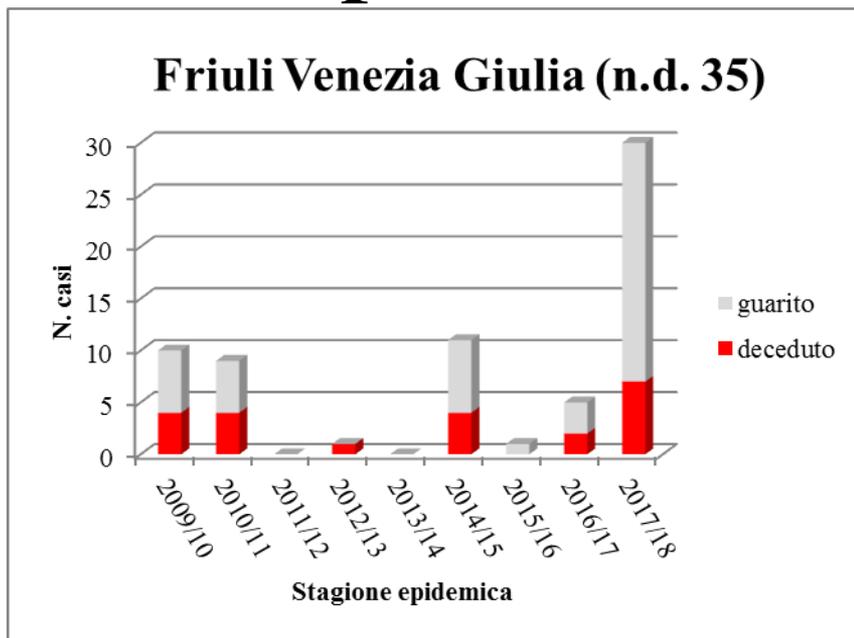


Sorveglianza epidemiologica 2018/19



Settimana	Casi stimati in Italia
2018-42	47.500
2018-43	57.200
2018-44	60.900
2018-45	88.900
2018-46	107.300
2018-47	128.500
2018-48	144.000
2018-49	166.300
2018-50	199.900
2018-51	224.400
2018-52	257.600
2019-01	346.100
2019-02	461.000
2019-03	607.200
2019-04	753.900
2019-05	850.200
2019-06	801.800
2019-07	677.300
2019-08	546.400
2019-09	397.400
2019-10	289.400
2019-11	223.000
2019-12	176.200
2019-13	144.200
2019-14	118.400
2019-15	95.300
2019-16	76.800
2019-17	57.100
Totale	8.104.200

Numero di casi gravi di Influenza nel periodo 2009-2018 con esito



Sorveglianza virologica dell'Influenza

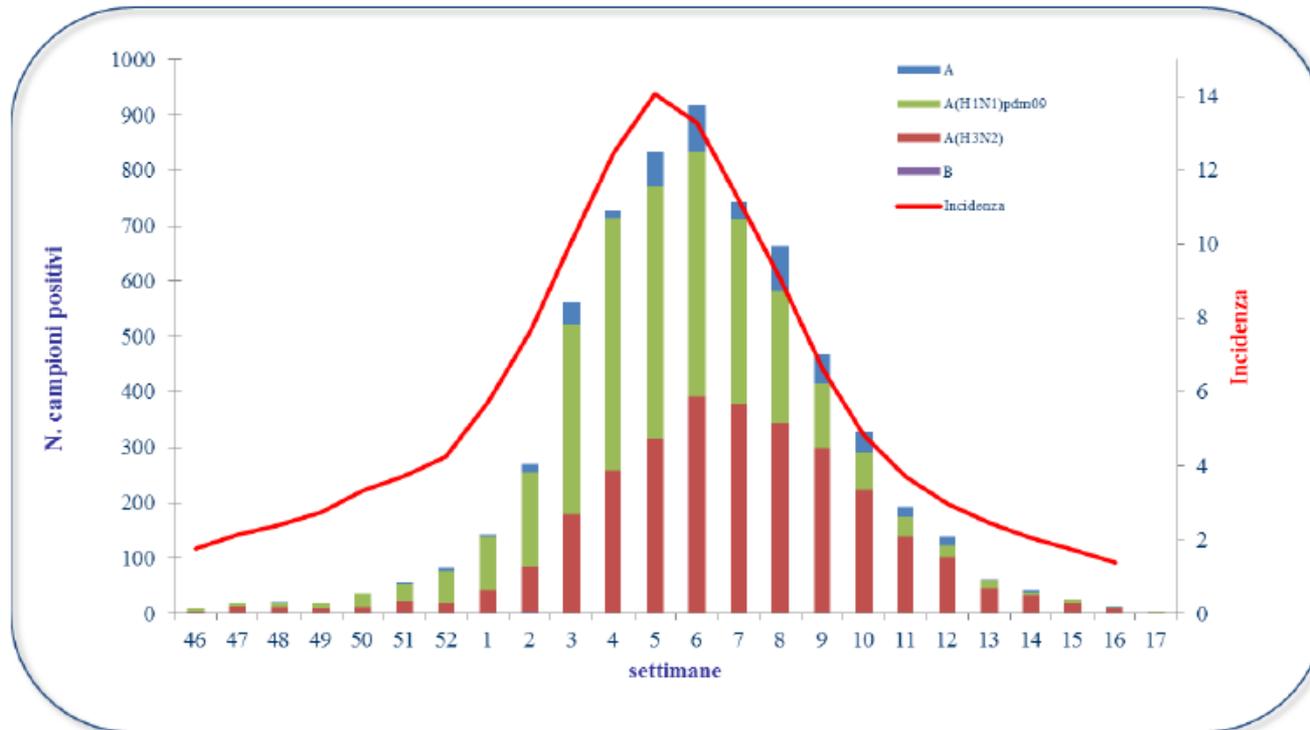
Individua le caratteristiche dei virus
circolanti

Valuta il loro matching con i ceppi vaccinali

Verifica la sensibilità agli antivirali

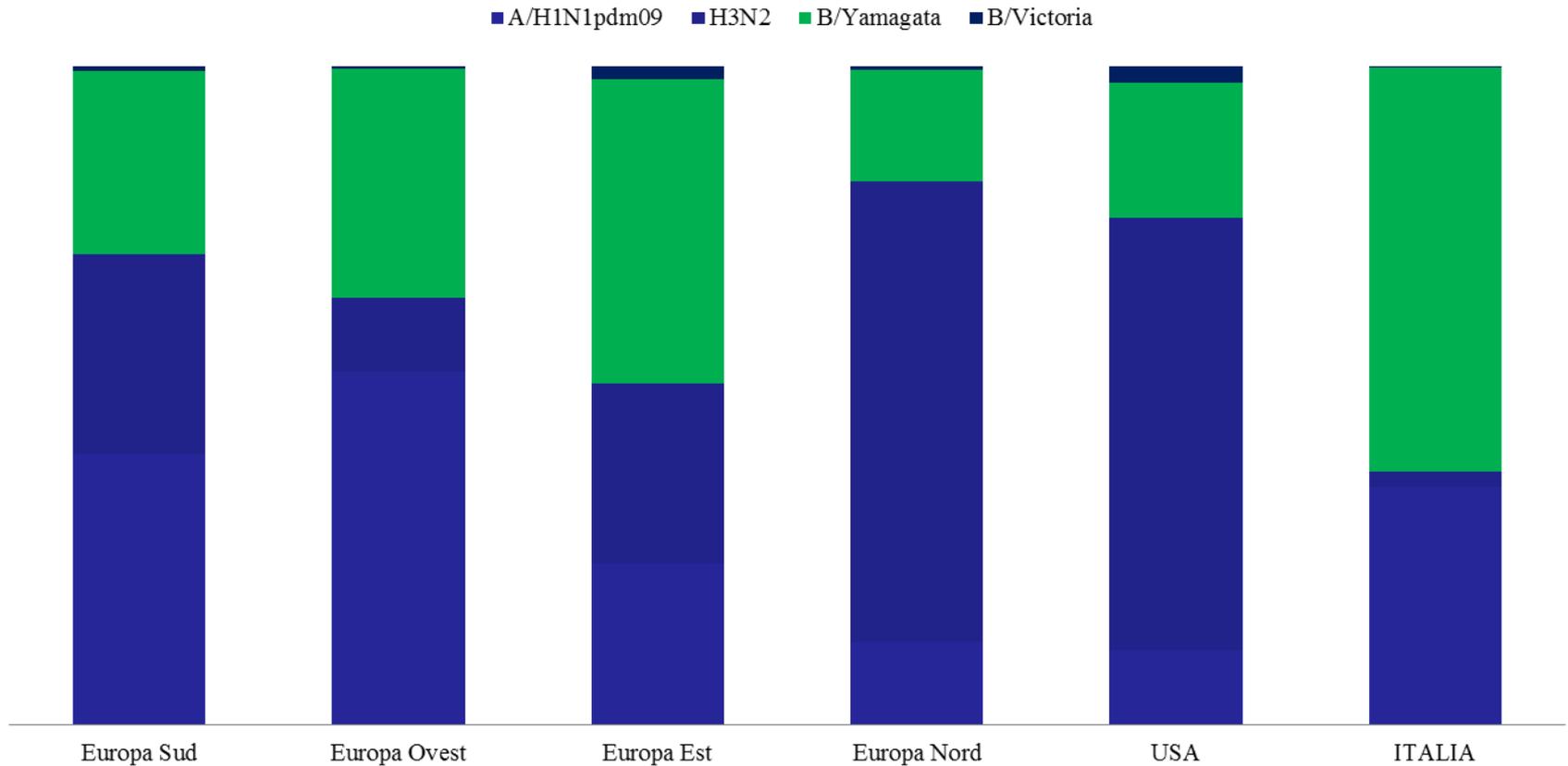
Sorveglianza virologica in Italia 2018/19

Figura 3 Andamento settimanale dei campioni positivi per tipo/sottotipo (stagione 2018/2019)



Sorveglianza virologica

Tipizzazione dei virus influenzali della stagione 2017/18



Analisi filogenetica e molecolare

Figure 8. H3 HA locations of amino acid substitutions defining subgroups of clade 3C.2a viruses

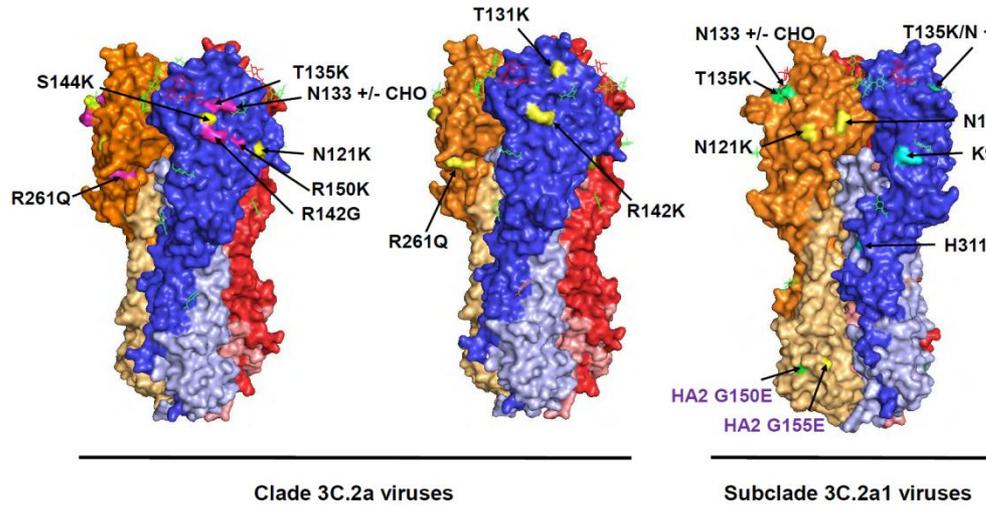
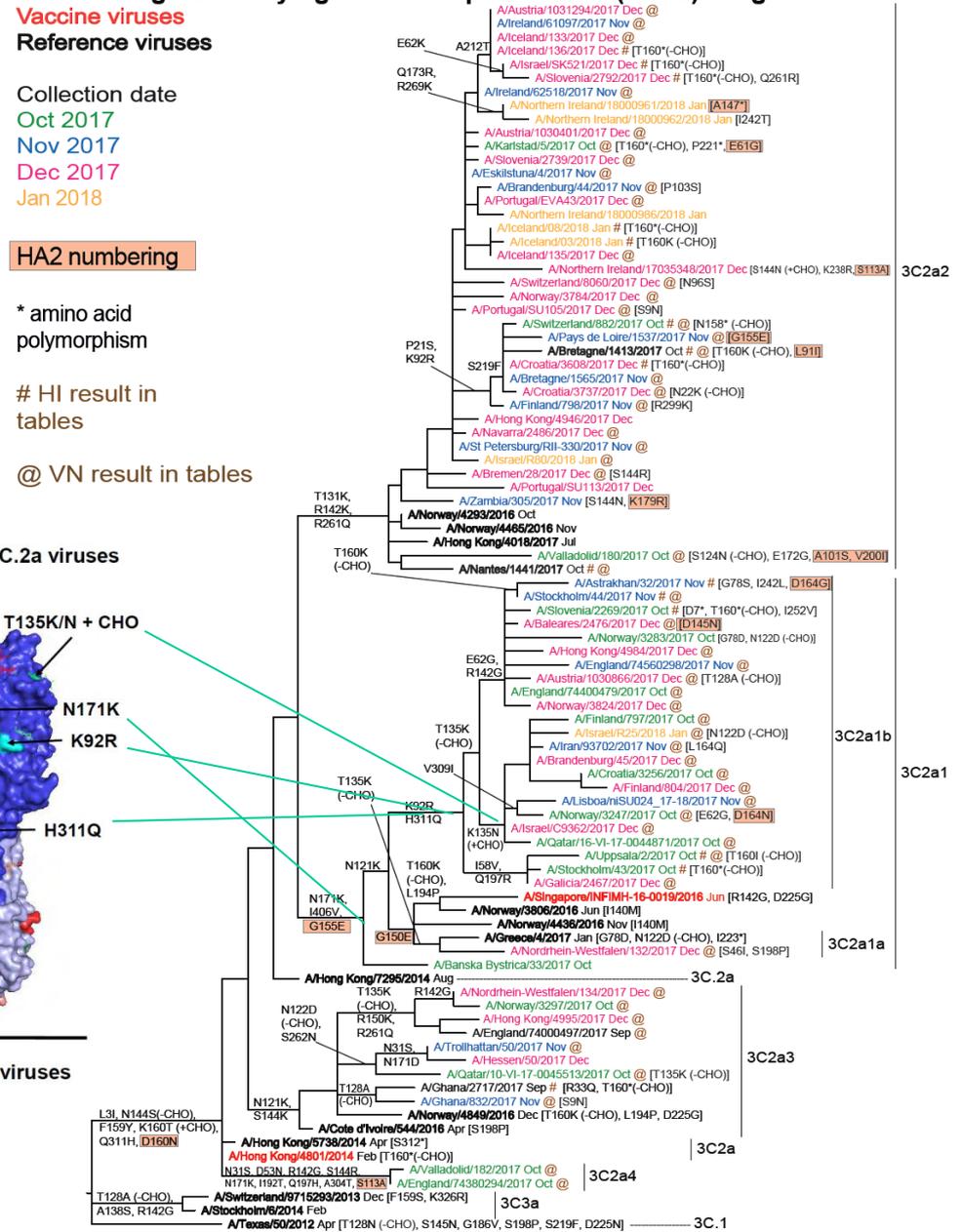


Figure 6. Phylogenetic comparison of A(H3N2) HA genes



Vaccine viruses
Reference viruses

Collection date
Oct 2017
Nov 2017
Dec 2017
Jan 2018

HA2 numbering

* amino acid polymorphism

HI result in tables

@ VN result in tables

Analisi antigenica

Table 8-6. Antigenic analyses of influenza A(H3N2) viruses (Guinea Pig RBC with 20nM Oseltamivir) 2017-12-15

Viruses	Other information	Passage history	Collection date	Passage history	Haemagglutination inhibition titre								
					Post-infection ferret antisera								
					A/Stock	A/Switz	A/HK	A/HK	A/Oman	A/Nor	A/Greece	A/Sing	
					6/14	9715293/13	5738/14	4801/14	2585/16	4436/16	4/17	0019/16	
					SIAT	MDCK	Egg	SIAT	SIAT	SIAT	Egg 10 ⁻⁴		
					F14/14 ^{†1}	F18/15 ^{†1}	F30/14 ^{†1}	F42/15 ^{†1}	NIB F50/16 ^{†1}	F03/17 ^{†1}	F27/17 ^{†1}	F41/17 ^{†1}	
					3C.3a	3C.3a	3C.2a	3C.2a	3C.2a1	3C.2a1	3C.2a1	3C.2a1	
REFERENCE VIRUSES													
A/Stockholm/6/2014			2014-02-06	SIAT1/SIAT2	320	160	160	80	160	320	160	160	
A/Switzerland/9715293/2013			2013-12-06	SIAT1/SIAT3	320	160	80	40	160	160	160	80	
A/Hong Kong/5738/2014			2014-04-30	CK1/MDCK2/SIAT3	160	80	160	80	160	320	160	320	
A/Hong Kong/4801/2014	isolate 1		2014-02-26	E6/E2	80	40	320	1280	640	320	640	2560	
A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016			2016-06-14	E5/E2	40	40	40	320	160	80	160	640	
TEST VIRUSES													
A/Iran/75924/2017			2017-01-22	SIAT2/SIAT1	80	80	80	40	80	160	160	160	
A/Iran/78090/2017			2017-02-12	SIAT2/SIAT2	<	<	40	<	80	80	160	<	
A/Bretagne/1413/2017			2017-10-09	MDCK1/SIAT1	160	80	160	40	160	160	160	160	
A/Nantes/1441/2017			2017-10-10	MDCK2/SIAT1	80	80	80	40	160	160	160	160	

* Superscripts refer to antiserum properties (< relates to the lowest dilution of antiserum used) [†] < = <40

ND = Not Done

Sequences in phylogenetic trees

Vaccine
NH 2017-18

Vaccine
SH 2018

- La caratterizzazione antigenica dei virus A/H3N2 è diventata complessa negli ultimi anni per la significativa riduzione della loro attività emo-agglutinante i globuli rossi tradizionalmente utilizzati per questa analisi (uomo, pollo, cavia, tacchino...).
- Anche con accorgimenti tecnici particolari è stato possibile analizzare solo il 25% dei ceppi propagati presso il centro di riferimento internazionale di Londra nella stagione 2017/18

Analisi antigenica con PRNT

Table 9-1. Antigenic analysis of influenza A(H3N2) viruses - Plaque Reduction Neutralisation (MDCK-SIAT) 2018-01-11 + 2018-01-15

Viruses	Collection Date	Passage History	Neutralisation titre ¹																HA1 substitutions for 3C.2a(1) viruses compared to A/Hong Kong/4801/2014. Egg adaptation HA substitutions compared to the corresponding cell isolate					
			Post-infection ferret antisera																					
			A/HK 4801/14		A/HK 7295/14		A/Cote d'Ivoire 544/16		A/Norway 4849/16		A/Norway 4465/16		A/Norway 4465/16		A/Singapore INFIMH-16-0019/16		A/Singapore INFIMH-16-0019/16			A/Greece 4/17		A/Norway 3806/16		
			Egg	F42/15	SIAT	F02/15	SIAT	NIB F54/16	Egg	F23/17	SIAT	F11/17	Egg	F12/17	Egg	F41/17	SIAT	F45/17		SIAT	F27/17	Egg	NIB F45/16	
3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a1	3C.2a1	3C.2a1	3C.2a1	3C.2a1	3C.2a1	3C.2a1	3C.2a1					
2-fold		Read		2-fold		Read		2-fold		Read		2-fold		Read		2-fold		Read		2-fold		Read		
REFERENCE VIRUSES																								
A/Hong Kong/4801/2014	3C.2a	2014-02-26	E7	320	469	320	306	160	170	640	900	640	501	2560	3525	5120	4838	640	888	640	535	640	619	N96S, T160K (-CHO), L194P
A/Hong Kong/7295/2014	3C.2a	2014-08-07	SIAT2	40	55	640	484	320	451	80	100	640	696	80	62	320	262	2560	2055	1280	1695	80	115	NONE
A/Cote d'Ivoire/544/2016	3C.2a	2016-04-06	P1/SIAT3	40	40	640	676	640	938	320	364	640	900	80	67	160	195	1280	1539	1280	1797	160	129	N121K, S144K, T160K, L194P, D225G
A/Norway/4849/2016 (cl29)	3C.2a	2016-12-02	E7	40	44	40	41	40	54	160	132	40	20	160	148	640	524	40	50	80	66	80	67	T131K, R142K, R261Q
A/Norway/4465/2016	3C.2a	2016-11-07	SIAT2	80	109	320	409	320	470	80	75	5120	6662	2560	1982	80	73	1280	1173	1280	1024	80	94	T131K, R142K, R261Q
A/Norway/4465/2016	3C.2a	2016-11-07	E6	160	235	320	272	160	134	320	378	2560	2149	2560	2642	1280	1124	320	242	320	311	160	205	T131K, R142K, T160K (-CHO), L194P, T203I, R261Q
A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (10 ⁺)	3C.2a1	2016-06-14	ES/E2	80	80	80	72	40	34	160	135	40	40	640	737	1280	1676	320	268	320	247	160	238	N121K, R142G, T160K (-CHO), N171K, L194P, D225G
A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016	3C.2a1	2016-06-14	MDCK1/SIAT6	<	7	640	501	160	157	40	40	640	742	40	40	80	95	2560	2429	2560	2067	80	72	N121K, R142G, N171K
A/Greece/4/2017	3C.2a1	2017-01-02	SIAT4	40	40	160	215	80	102	40	40	640	795	40	41	80	77	1280	1173	1280	1632	80	75	G78D, N121K, N122D (-CHO), T135K, N171K
A/Norway/3806/2016	3C.2a1	2016-06-13	E9	640	504	320	386	160	230	320	445	320	243	2560	2448	5120	4937	1280	1109	640	579	640	612	N121K, I140M, T160K (-CHO), N171K, L194P
TEST VIRUSES																								
A/Norway/3375/2017		2017-11-01	SIAT1	40	20	640	663	640	704	80	96	1280	1545	160	129	640	576	2560	2723	2560	2194	160	154	
A/Skovde/2/2017	3C.2a	2017-09-29	MDCK0/SIAT1	40	59	320	377	160	211	80	65	5120	6737	1280	1493	80	73	1280	1474	640	556	80	67	T131K, R142K, R261Q
A/Norway/3242/2017	3C.2a	2017-10-06	SIAT1/SIAT1	80	66	320	297	160	231	40	40	2560	3751	640	930	80	80	1280	1009	640	640	40	40	T131K, R142K, R261Q
A/Nantes/1441/2017	3C.2a	2017-10-10	MDCK2/SIAT2	40	20	80	78	40	57	40	40	1280	1002	320	289	80	72	320	314	80	115	40	49	T131K, R142K, R261Q
A/Karlstad/5/2017	3C.2a	2017-10-10	MDCK1/SIAT1	40	20	80	93	40	52	40	40	1280	1193	640	488	80	101	320	384	160	124	40	51	T131K, R142K, R261Q
A/Norway/3278/2017	3C.2a	2017-10-15	SIAT1	40	57	320	304	320	291	40	51	2560	3470	640	687	80	68	1280	1128	640	747	40	40	T131K, R142K, R261Q
A/Norway/3353/2017	3C.2a	2017-10-23	SIAT1	80	68	160	236	320	264	40	40	2560	3712	640	864	80	79	1280	1152	1280	1376	40	40	T131K, R142K, R261Q
A/Norway/3305/2017	3C.2a	2017-10-25	SIAT1	80	76	640	610	640	853	80	60	5120	4960	1280	1047	80	73	2560	2184	2560	2095	40	43	T131K, R142K, R261Q
A/Eskestun/1/2017	3C.2a	2017-11-19	MDCK0/SIAT1	40	47	320	254	160	157	40	55	2560	3632	640	800	80	98	1280	1358	640	491	80	69	T131K, R142K, R261Q
A/Eskestun/2/2017	3C.2a	2017-11-20	MDCK0/SIAT1	80	74	320	450	320	256	40	56	5120	4459	2560	2133	160	154	1280	1506	640	800	80	64	T131K, R142K, R261Q
A/Bretagne/1487/2017	3C.2a	2017-11-06	MDCK2/SIAT2	80	74	80	112	160	134	80	67	1280	1707	640	524	80	86	640	640	320	386	80	70	P21S, K92R, T131K, R142K, S219F, R261Q
A/Bretagne/1413/2017	3C.2a	2017-10-09	MDCK2/SIAT2	40	40	80	60	40	57	40	48	1280	1219	320	283	80	102	320	250	80	60	40	58	P21S, K92R, T131K, R142K, T160K (-CHO), S219F, R261Q
A/Switzerland/882/2017	3C.2a	2017-10-11	SIAT1	40	49	80	94	80	76	40	56	2560	2038	640	585	80	77	640	500	320	434	80	68	P21S, K92R, T131K, R142K, N158X (-CHO), S219F, R261Q
A/Qatar/10-VI-17-0044907/2017	3C.2a	2017-10-15	SIAT1	40	20	320	251	320	453	<	5	1280	996	40	57	80	117	1280	1387	1280	1067	160	146	N121K, N122D (-CHO), S144K, S262N
A/Qatar/10-VI-17-0045513/2017	3C.2a	2017-10-17	SIAT2	80	71	320	270	640	715	160	140	640	720	40	58	80	72	640	853	640	924	160	120	N121K, N122D (-CHO), T135K (-CHO), S144K, S262N
A/Norway/3297/2017	3C.2a	2017-10-17	SIAT1	40	40	320	247	1280	989	80	76	1280	960	<	10	80	80	1280	1391	1280	1873	160	180	N121K, T135K (-CHO), R142G, S144K, R150K, R261Q
A/Qatar/16-VI-17-0044877/2017	3C.2a1	2017-10-14	SIAT1	40	40	320	293	640	615	<	10	640	788	40	57	80	79	2560	1984	1280	1886	160	125	K92R, N121K, T135N (-/+CHO), N171K, H311Q
A/Qatar/10-VI-17-0044920/2017	3C.2a1	2017-10-15	SIAT2	40	20	160	130	160	215	<	5	640	568	40	53	80	77	1280	1391	640	711	160	129	K92R, N121K, T135N (-/+CHO), N171K, H311Q
A/Norway/3318/2017	3C.2a1	2017-10-23	SIAT1	40	41	320	252	640	823	<	10	640	614	40	56	320	256	1280	1694	1280	1501	160	151	K92R, N121K, T135N (-/+CHO), N171K, H311Q
A/Norway/3241/2017	3C.2a1	2017-10-06	SIAT1/SIAT1	40	40	320	267	640	608	160	153	1280	1336	40	53	160	221	1280	1590	1280	1457	320	391	K92R, N121K, T135N (-/+CHO), N171K, V309I, H311Q
A/Iran/90998/2017	3C.2a1	2017-11-04	SIAT2/SIAT1	40	40	320	257	640	528	40	20	1280	1031	40	58	80	65	1280	1646	1280	1159	80	102	K92R, N121K, T135N (-/+CHO), N171K, V309I, H311Q
A/Iran/91529/2017	3C.2a1	2017-11-06	SIAT2/SIAT1	40	40	320	255	1280	1024	<	1	1280	1501	40	42	320	253	2560	1920	2560	2414	640	587	K92R, N121K, T135N (-/+CHO), L164Q, N171K, H311Q
A/Iran/93702/2017	3C.2a1	2017-11-15	SIAT1/SIAT1	40	55	320	347	1280	1030	<	3	1280	1227	80	77	320	293	2560	2286	2560	2251	320	262	K92R, N121K, T135N (-/+CHO), L164Q, N171K, H311Q

Migliorare la predittività

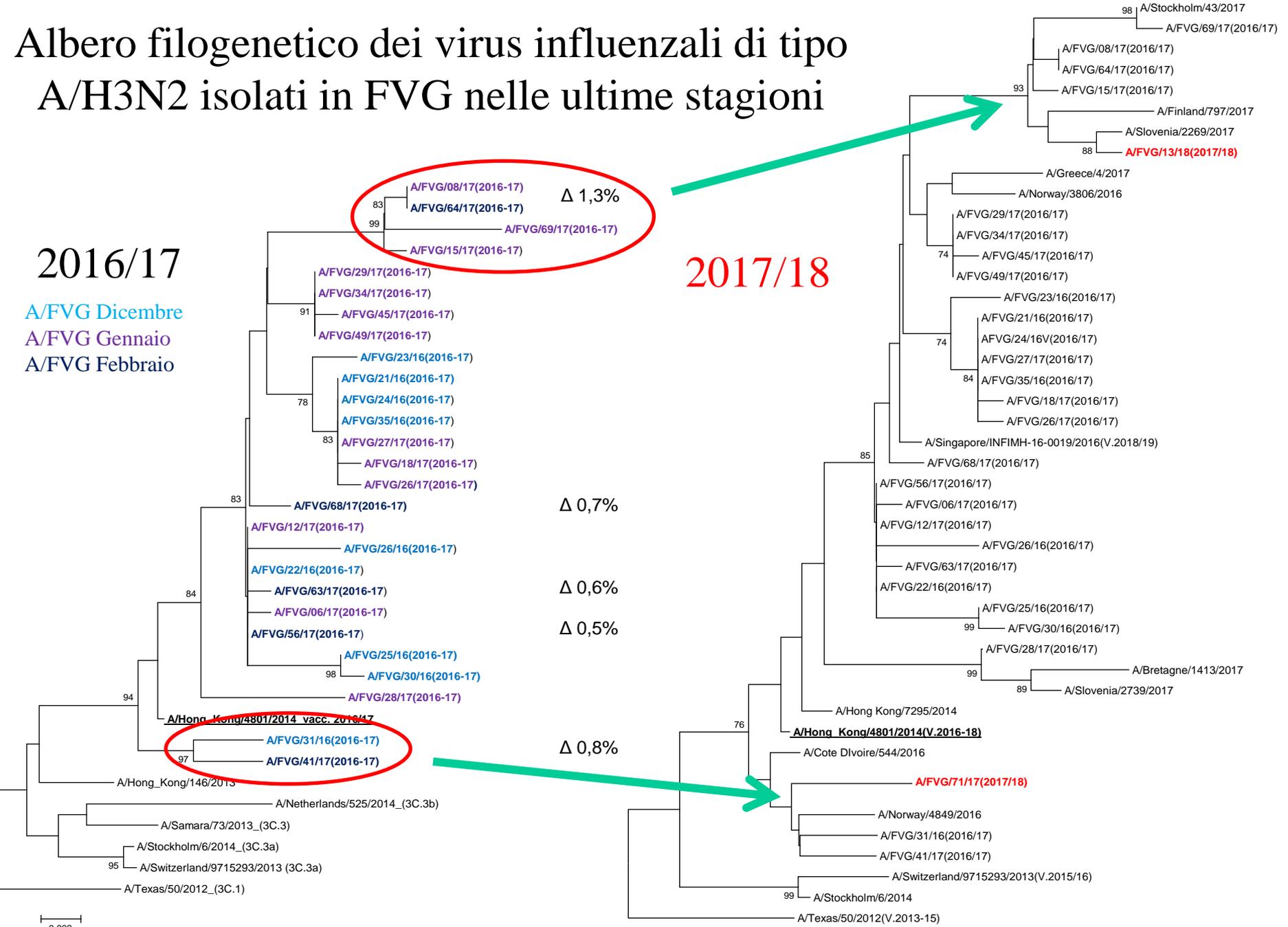
Albero filogenetico dei virus influenzali di tipo A/H3N2 isolati in FVG nelle ultime stagioni

2016/17

A/FVG Dicembre
A/FVG Gennaio
A/FVG Febbraio

A/FVG/08/17(2016-17) Δ 1,3%
A/FVG/64/17(2016-17)
A/FVG/69/17(2016-17)
A/FVG/15/17(2016-17)

2017/18



A/Hong_Kong/4801/2014 vacc. 2016/17
A/FVG/31/16(2016-17)
A/FVG/41/17(2016-17)

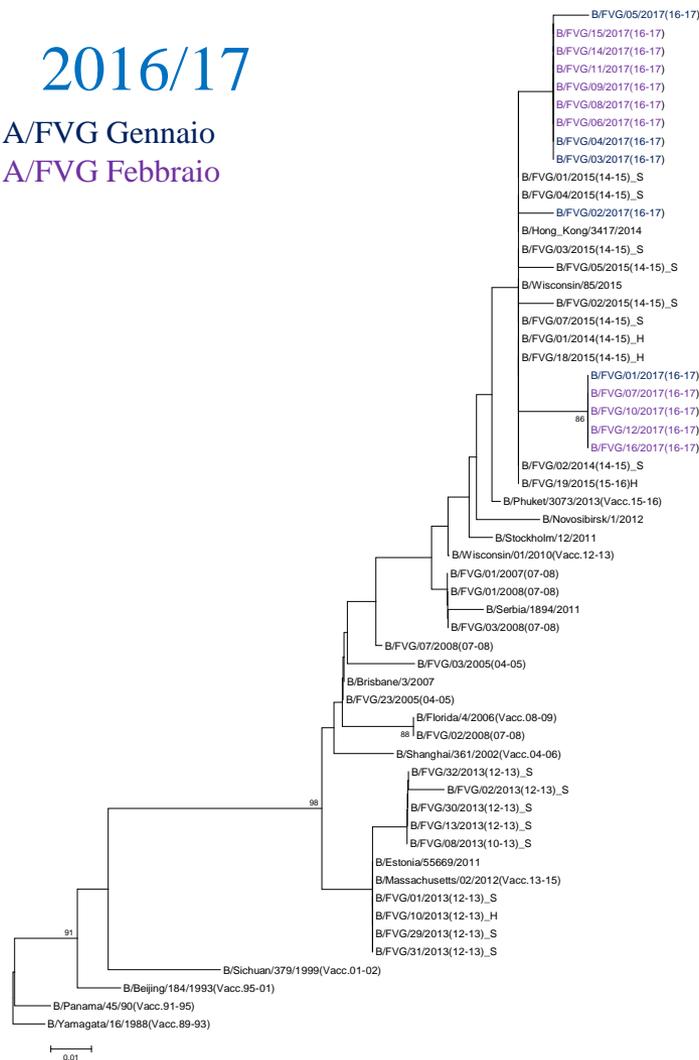
Δ 0,7%
 Δ 0,6%
 Δ 0,5%
 Δ 0,8%

0.002

0.002

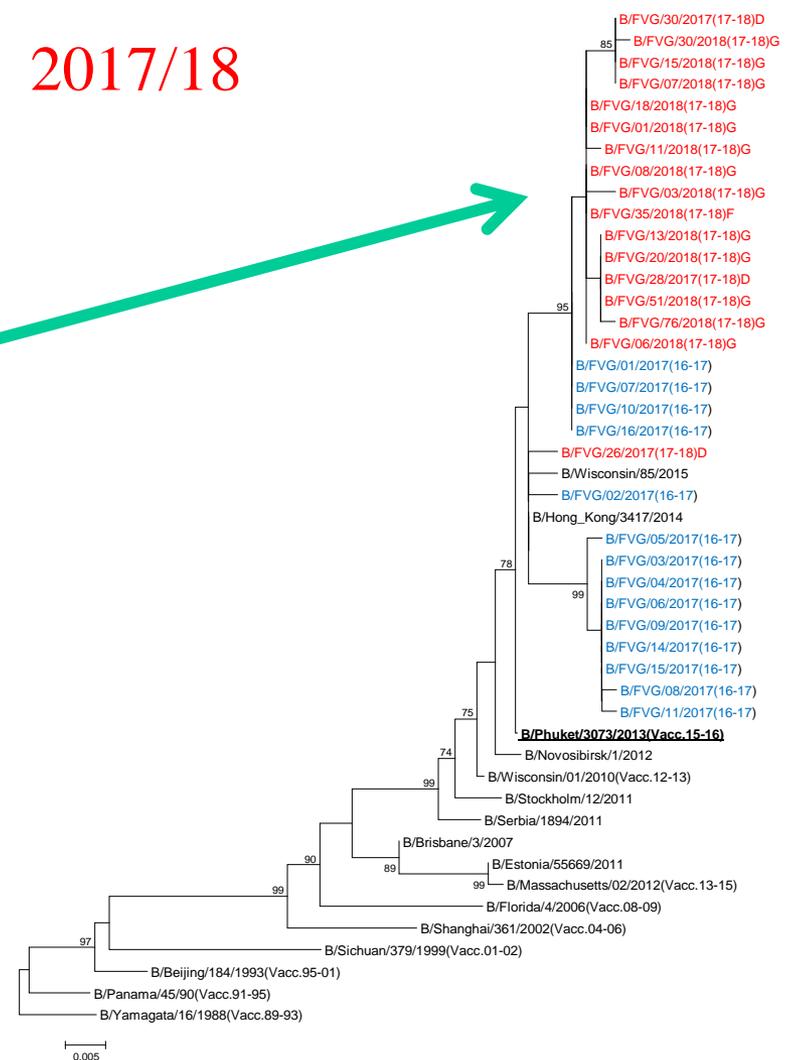
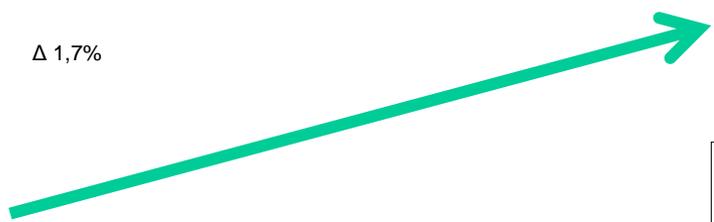
Albero filogenetico dei virus influenzali di tipo B isolati in FVG nelle ultime stagioni

2016/17
A/FVG Gennaio
A/FVG Febbraio

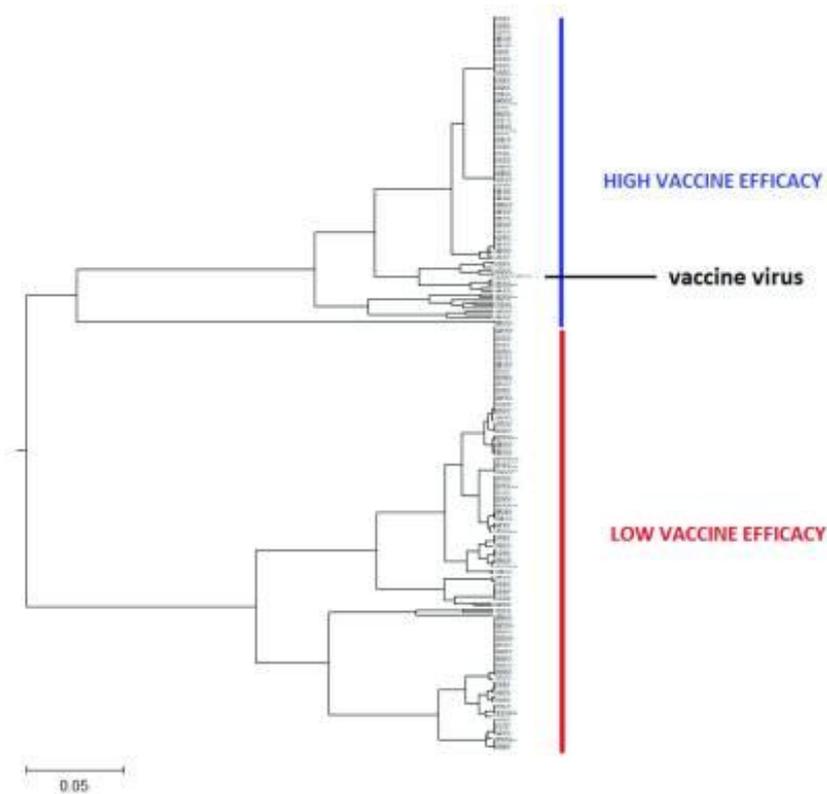


Δ 2,6%
 Δ 1,7%
 Δ 1,7%
 Δ 2,6%

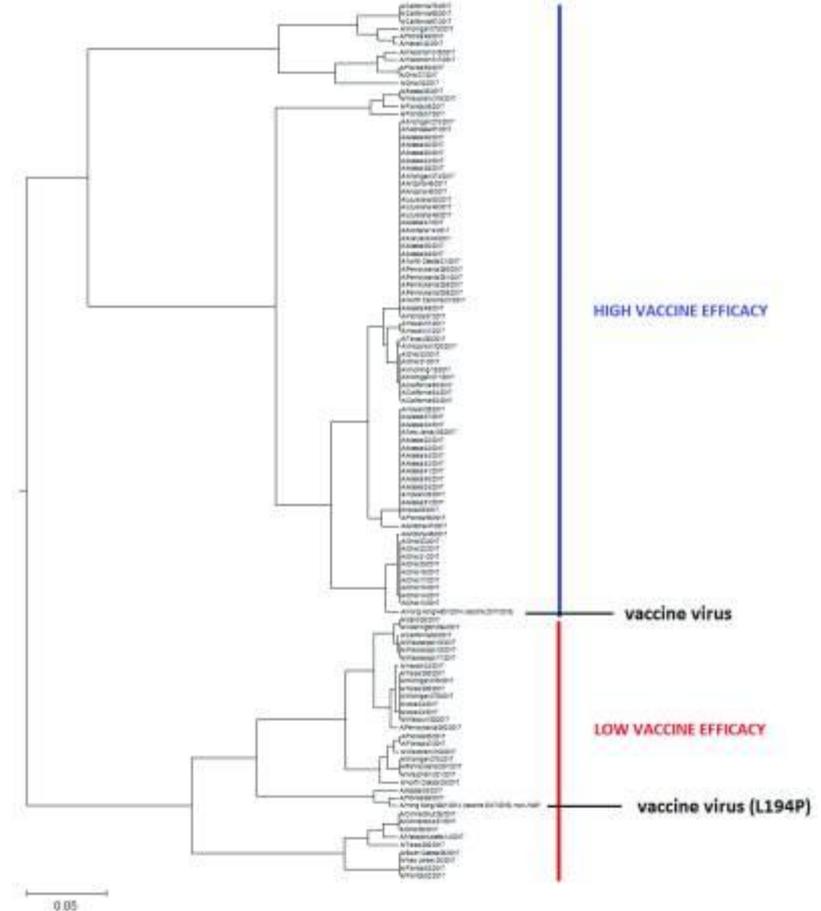
2017/18



Nuovi approcci bioinformatici: ISM (Informational Spectrum Method)



Albero filogenetico basato su ISM di virus H3N2 isolati in Australia nel periodo luglio-settembre 2017. L'efficacia vaccinale in Australia nel 2017 è stata stimata nel 10%.

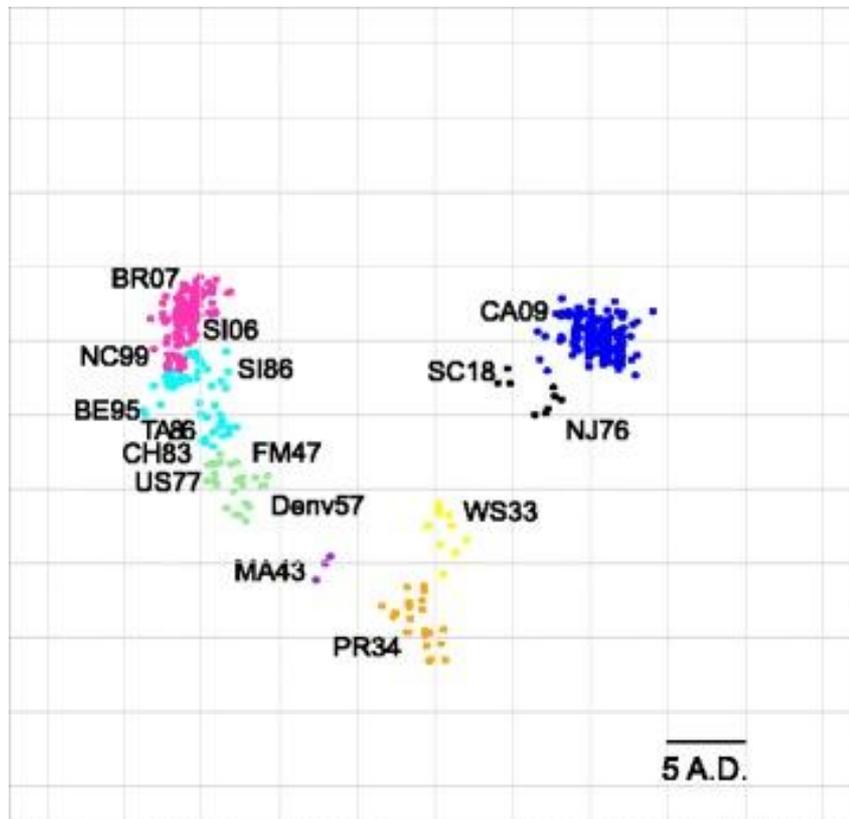


Albero filogenetico basato su ISM di virus H3N2 isolati in USA nel periodo luglio-settembre 2017. (L'efficacia vaccinale nella stagione 2017/18 negli USA è stata stimata nel 36%)



Antigenic cartography of H1N1 influenza viruses using sequence-based antigenic distance calculation

Christopher S. Anderson¹, Patrick R. McCall¹, Harry A. Stern², Hongmei Yang³ and David J. Topham^{1*}



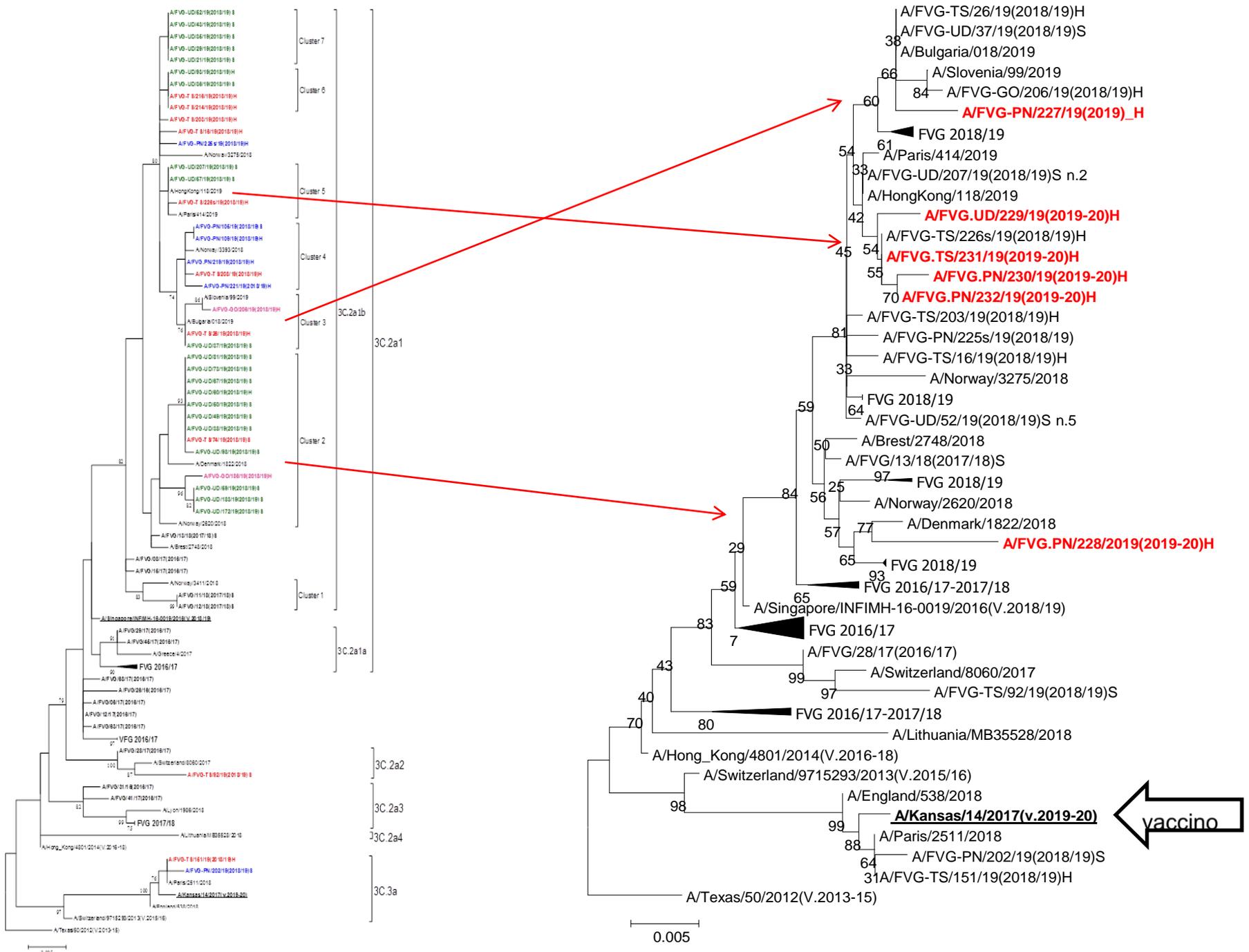
- A/Brisbane/59/2007 (BR07)
- A/Solomon Islands/3/2006 (SI06)
- A/New Caledonia/20/1999 (NC99)
- A/Singapore/6/1986 (SI86)
- A/Beijing/262/95 (BE95)
- A/Taiwan/1/86 (TA86)
- A/Chile/1/83 (CH83)
- A/USSR/90/77 (US77)
- A/Fort Monmouth/1/1947 (FM47)
- A/Denver/1/1957 (Denv57)
- A/Marton/43 (MA43)
- A/Puerto Rico/8/34 (PR34)
- A/NWS/33 (WS33)
- A/South Carolina/1/1918 (SC18)
- A/New Jersey/76 (NJ76)
- A/California/04/2009 (CA09).

Composizione vaccini per la stagione 2019/20

ceppi	2018/19	2019/20
Virus A/H3N2	A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016	A/Kansas/14/2017
Virus A/H1N1pdm09	A/Michigan/45/2015	A/Brisbane/02/2018
Virus B/Victoria	B/Colorado/06/2017	B/Colorado/06/2017
Virus B/Yamagata	<i>B/Phuket/3073/2013</i>	<i>B/Phuket/3073/2013</i>

Vaccino trivalente

It is recommended that the influenza B virus component of trivalent vaccines for use in the 2019-2020 northern hemisphere influenza season be a B/Colorado/06/2017-like virus of the B/Victoria/2/87-lineage.



Vaccini anti-influenzali

- Vaccino split, contenente virus influenzali frammentati;
- Vaccino a subunità, contenente solo gli antigeni di superficie, emoagglutinina e neuraminidasi;
- Vaccino adiuvato, contenente gli antigeni di superficie emulsionati ad adiuvante oleoso metabolizzabile (MF59)

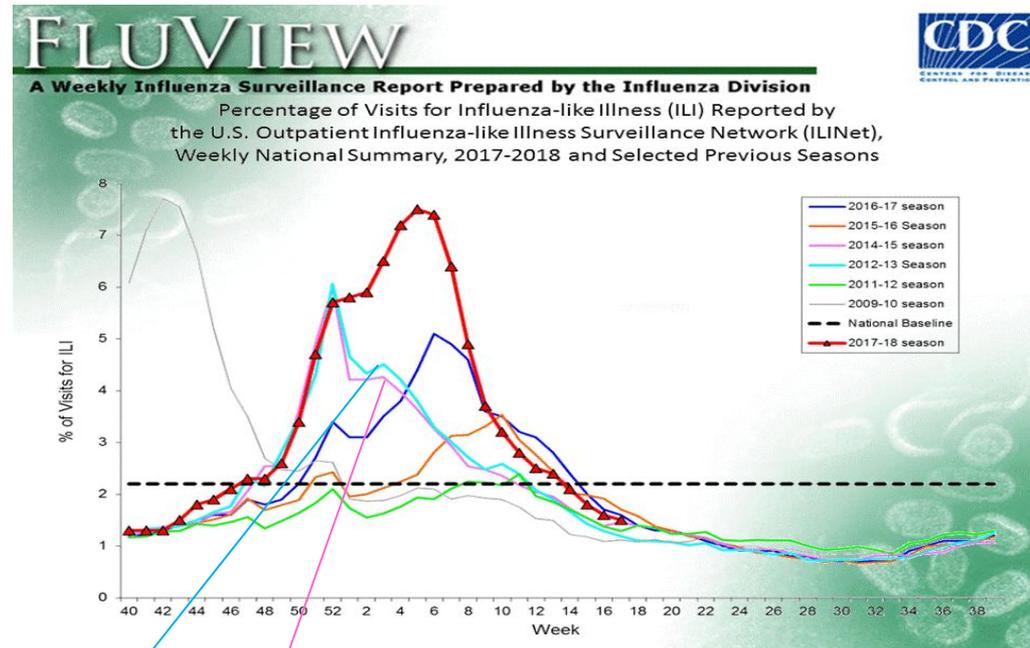
E l'efficacia vaccinale?

Dipende....

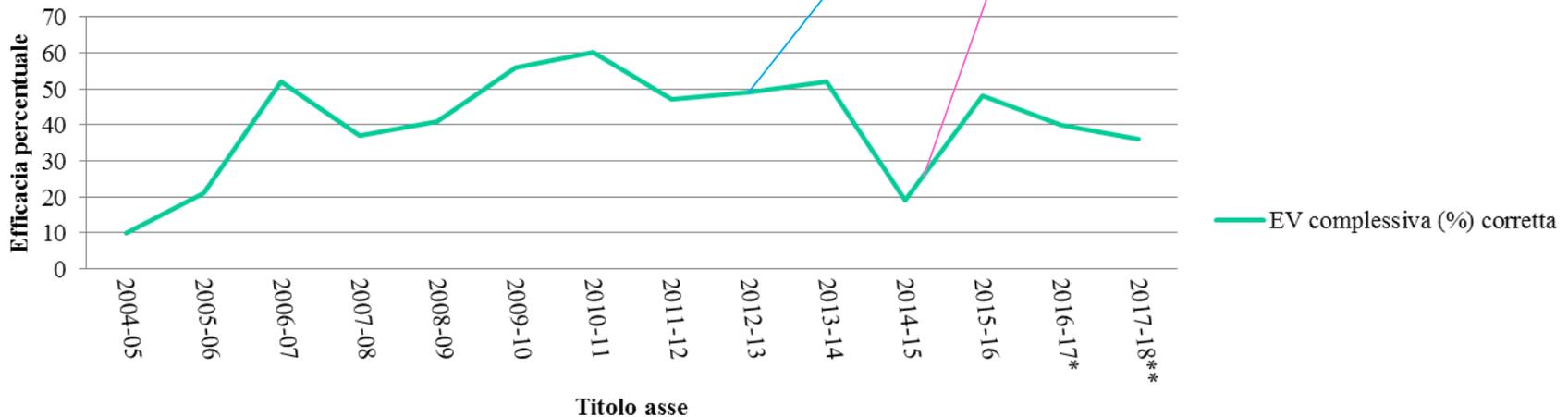
Efficacia della vaccinazione

- Previene la malattia nel 70-90% dei soggetti con età <65 anni
- Previene la malattia nel 30-40% dei soggetti con età >65 anni
- previene l'ospedalizzazione per complicanze respiratorie nel 30-70% dei soggetti con età >65 anni
- previene la morte nel 80% degli anziani in case di riposo

Efficiacia vaccinale negli USA

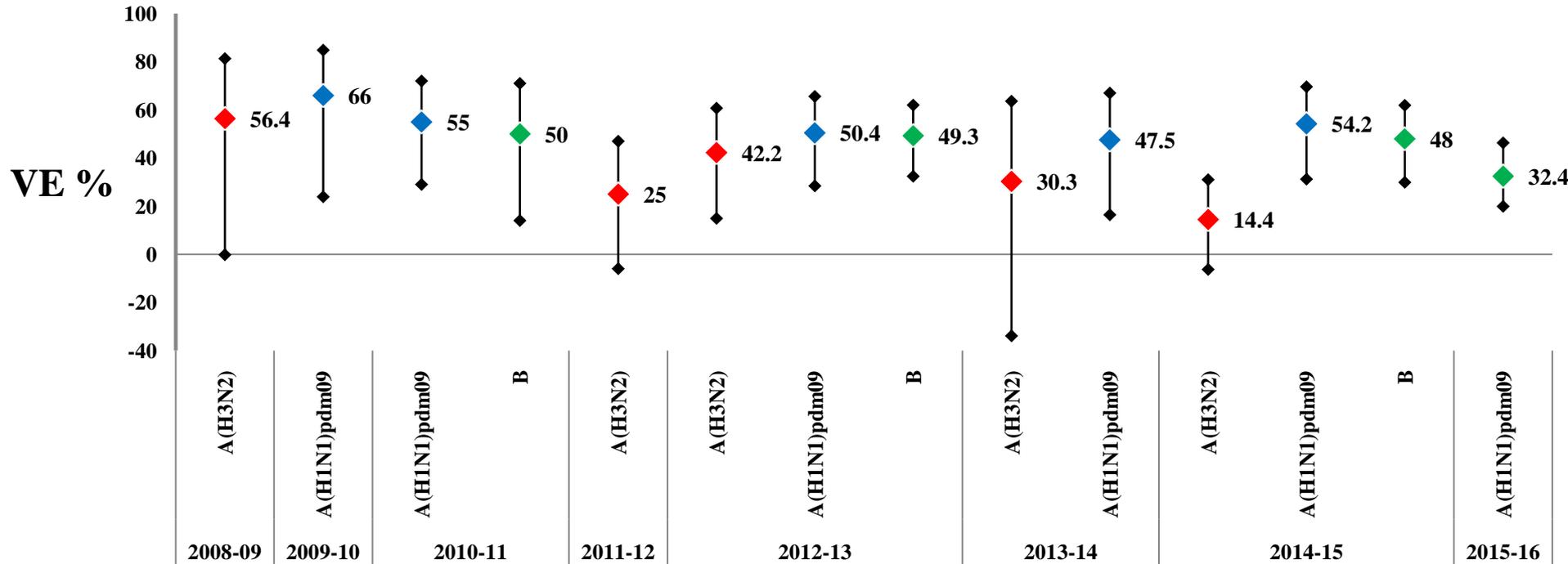


Efficiacia Vaccinale complessiva (%) 2004-2018





Efficacia vaccinale in Europa, stagioni 2008-2015



Matching con i ceppi vaccinali

Virus type/subtype	Number tested	≤2-fold ^a	4-fold ^a	≥8-fold ^a
H1 ¹	158	157 (99.4%)	1 (0.6%)	0 (0%)
H3 ^{2a}	30	25 (83.3%)	5 (16.7%)	0 (0%)
H3 ^{2b}	30	0 (0%)	0 (0%)	30 (100%)
H3 ^{2c}	30	5 (16.7%)	14 (46.7%)	11 (36.6%)
H3 ^{3a}	100	63 (63.0%)	25 (25.0%)	12 (12.0%)
H3 ^{3b}	100	11 (11.0%)	29 (29.0%)	60 (60.0%)
H3 ^{3c}	100	2 (2.0%)	15 (15.0%)	83 (83.0%)
B/Victoria ⁴	58	27 (46.6%)	2 (3.4%)	29 (50%)
B/Yamagata ⁵	134	84 (62.7%)	31 (23.1%)	19 (14.2%)

a. Reduction in titre, compared to the homologous titre with post-infection ferret antisera indicated below:

1. Compared to homologous titres for ferret antiserum raised against vaccine virus A/Michigan/45/2015

2a. Compared to homologous titres for ferret antiserum raised against tissue culture-propagated A/Hong Kong/5738/2014 (genetic subgroup 3C.2a)

2b. Compared to homologous titres for ferret antiserum raised against egg-propagated A/Hong Kong/4801/2014 (genetic subgroup 3C.2a [NYK])

2c. Compared to homologous titres for ferret antiserum raised against egg-propagated A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (genetic subgroup 3C.2a1)

3a. Compared to homologous titres for ferret antiserum raised against tissue culture-propagated A/Hong Kong/7295/2014 (genetic subgroup 3C.2a) in plaque-reduction neutralisation assays

3b. Compared to homologous titres for ferret antiserum raised against egg-propagated A/Hong Kong/4801/2014 (genetic subgroup 3C.2a [NYK]) in plaque-reduction neutralisation assays

3c. Compared to homologous titres for ferret antiserum raised against egg-propagated A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (genetic subgroup 3C.2a1) in plaque-reduction neutralisation assays

4. Compared to homologous titres for ferret antisera raised against at least one of three tissue-culture propagated B/Brisbane/60/2008-like equivalents (B/Hong Kong/514/2009, B/Ireland/3154/2016 &

5. Compared to homologous titres for ferret antiserum raised against egg-propagated vaccine virus B/Phuket/3073/2013

L'Influenza B non è l'influenza dei bambini!

classe di età	A/H1N1	A/H3N2	A/H3N2		Totale
			B/YAMAGATA	B/YAMAGATA	
0 - 4	13 (42%)		18 (58%)		46
5 - 14	10 (20%)	2 (4%)	38 (76%)		71
15-24	2 (40%)		3 (60%)		14
25-44	8 (21%)		27 (71%)	1 (3%)	68
45-64	9 (17%)		41 (79%)		88
>64	4 (44%)		5 (56%)		22
Totale	46 (25%)	2 (1%)	132 (71%)	1 (1%)	309

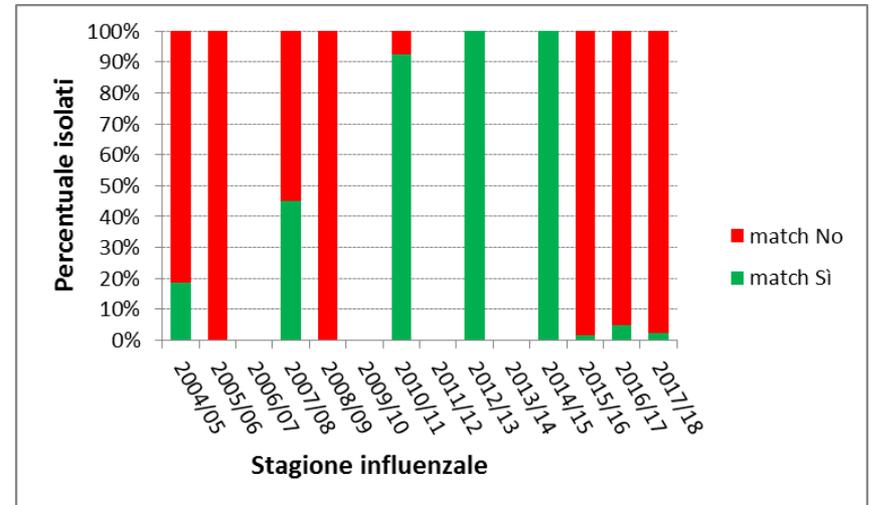
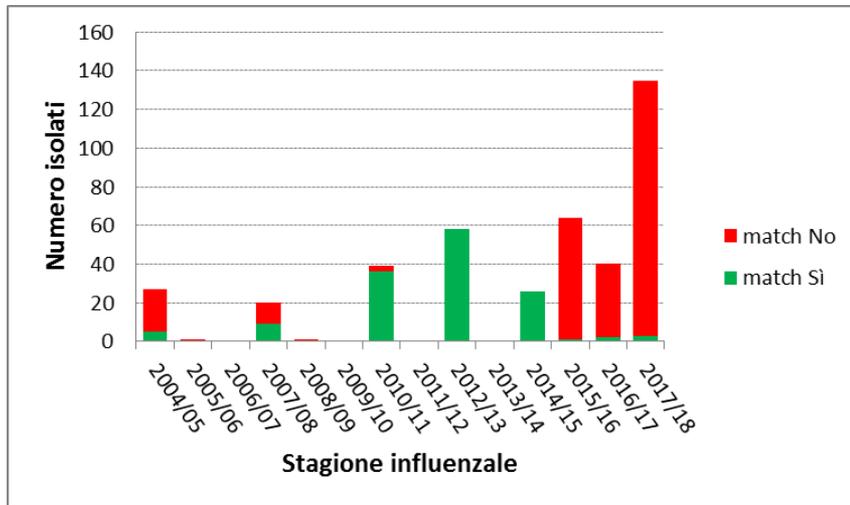
Distribuzione per classe di età dei casi positivi e tipizzati per Influenza nella stagione 2017/18; sorveglianza virologica nel FVG (in parentesi la percentuale sui positivi totali per fascia di età)

Ed è grave!

Influenza	'A/H1N1pdm09'	'A/H3N2'	'A/non tipizzabile'	'B'	Totale
casi gravi	57	6	9	30	102

Tipizzazione dei casi gravi di Influenza in FVG nel periodo 2009-2018

Matching lineaggi Influenza B



Matching tra il lineaggio dei virus isolati nella sorveglianza virologica in FVG e quello presente nel vaccino trivalente nelle stagioni epidemiche 2004/05-2017-18

Indicazioni per la vaccinazione: persone a rischio

- Persone con età >65 anni
- Pazienti di tutte le età residenti in strutture per lungodegenti e cronici
- Adulti e bambini affetti da:
 - patologie respiratorie, cardiovascolari o renali croniche
 - Patologie organi emopoietici
 - Diabete e patologie dismetaboliche
 - Sindromi da malassorbimento intestinale
 - Fibrosi cistica
 - Immunodeficienze congenite e acquisite
 - Condizioni che riducono la mobilità respiratoria
 - Obesità (BMI > 40)
- bambini ed adolescenti in trattamento cronico con aspirina

Indicazioni per la vaccinazione: potenziali sorgenti d'infezione per soggetti a rischio

- medici, infermieri ed altro personale appartenente a strutture ospedaliere e a strutture territoriali.
- personale di case di riposo e strutture per malati lungodegenti e cronici a contatto con i pazienti
- personale addetto all'assistenza domiciliare di soggetti a rischio
- familiari e/o conviventi di soggetti a rischio

Indicazioni per la vaccinazione: potenziali sorgenti d'infezione con ceppi ricombinanti

- Personale che, per motivi occupazionali, è a contatto con animali che potrebbero costituire fonte di infezione da virus influenzali (polli, maiali, ecc.)

Vaccino anti-influenzale

- Via di somministrazione : intramuscolo
- Età: Qualsiasi, a partire dall'età di 6 mesi
- Durata dell'immunità: inferiore all'anno
- Rivaccinazioni: ogni anno, preferibilmente prima dell'inizio della stagione epidemica

Controindicazioni alla vaccinazione anti-influenzale

- Malattia febbrile con temperatura $> 38^{\circ}\text{C}$
 - Dilazionare la vaccinazione
- Ipersensibilità accertata alle proteine dell'uovo
 - Procedere con vaccinazione frazionata
 - chemioprolassi
- Ipersensibilità immediata o reazioni di tipo neurologico a una precedente somministrazione del vaccino

Vaccino anti-influenzale

- **Reazioni e complicanze:**

- ◆ reazioni locali: (indurimento, eritema, dolorabilità) nel 20% dei vaccinati con virus intero
- ◆ generali: (malessere, cefalea, mialgie, febbre) nel 5-10% degli adulti vaccinati con virus intero, più frequente nei bambini.
- ◆ reazioni allergiche: rare
- ◆ Il vaccino a subunità produce una percentuale di reazioni locali e generali estremamente più ridotta anche nei bambini.

Chemioprofilassi e Terapia:

- Amantadina (*Mantadan*)
- Rimantadina (*Flumadine*)
- Inibitori della Neuraminidasi
 - ◆ Zanamivir
 - ◆ Oseltamivir

Indicazioni alla chemioprolifassi

- Soggetti a rischio elevato vaccinati dopo l'inizio dell'epidemia
- personale di assistenza di soggetti a rischio elevato durante l'epidemia influenzale
- persone con immunodeficienze

Inibitori della Neuraminidasi

- Il trattamento deve iniziare entro due giorni dall'insorgenza dei sintomi
- Riducono di un terzo la durata dell'Influenza
- **Non sostituiscono il vaccino!!**