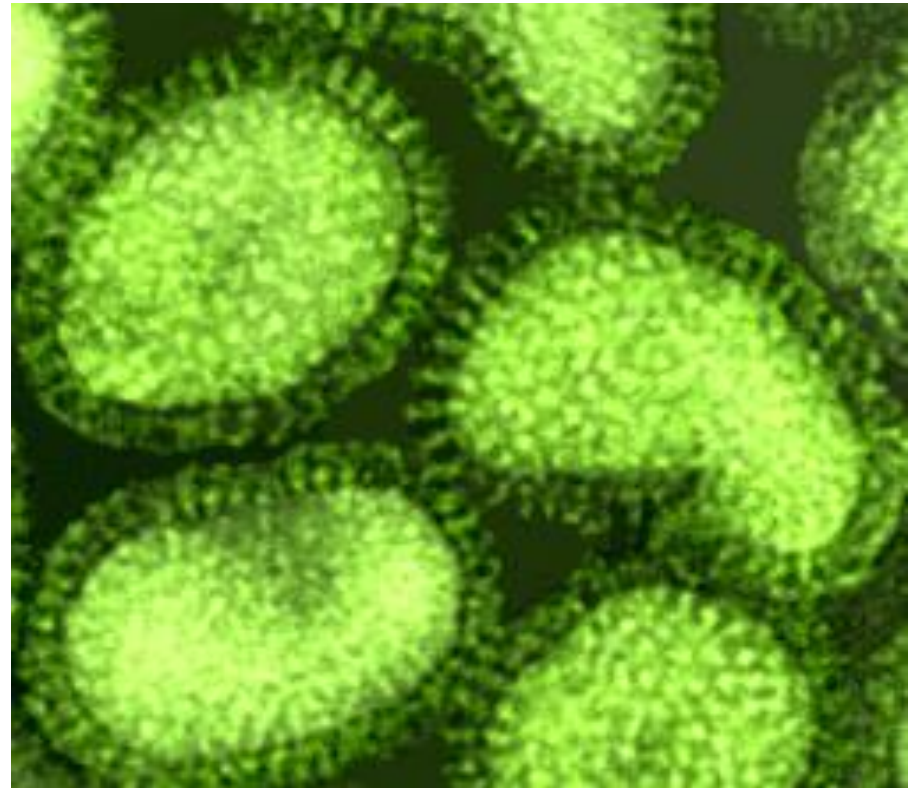
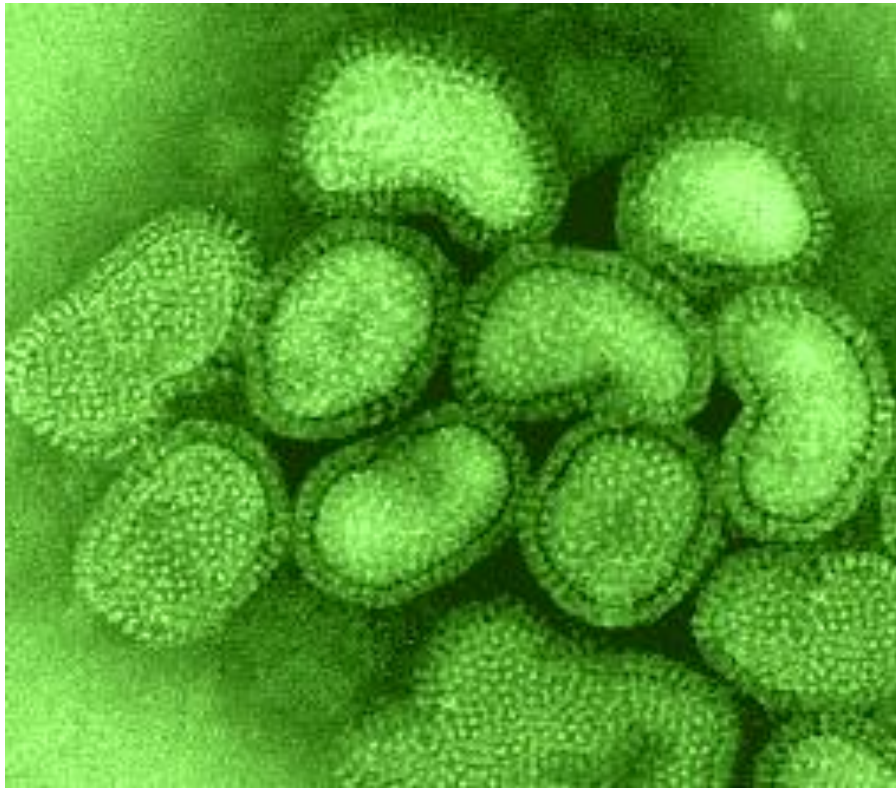
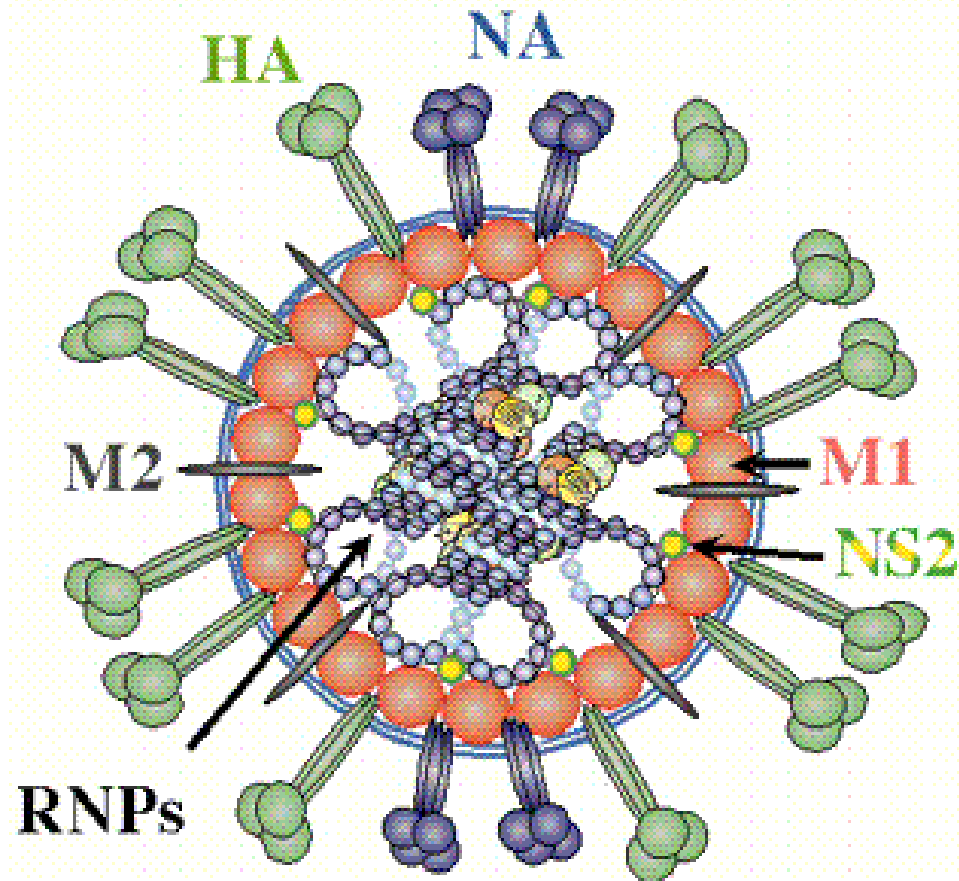


Influenza – i virus



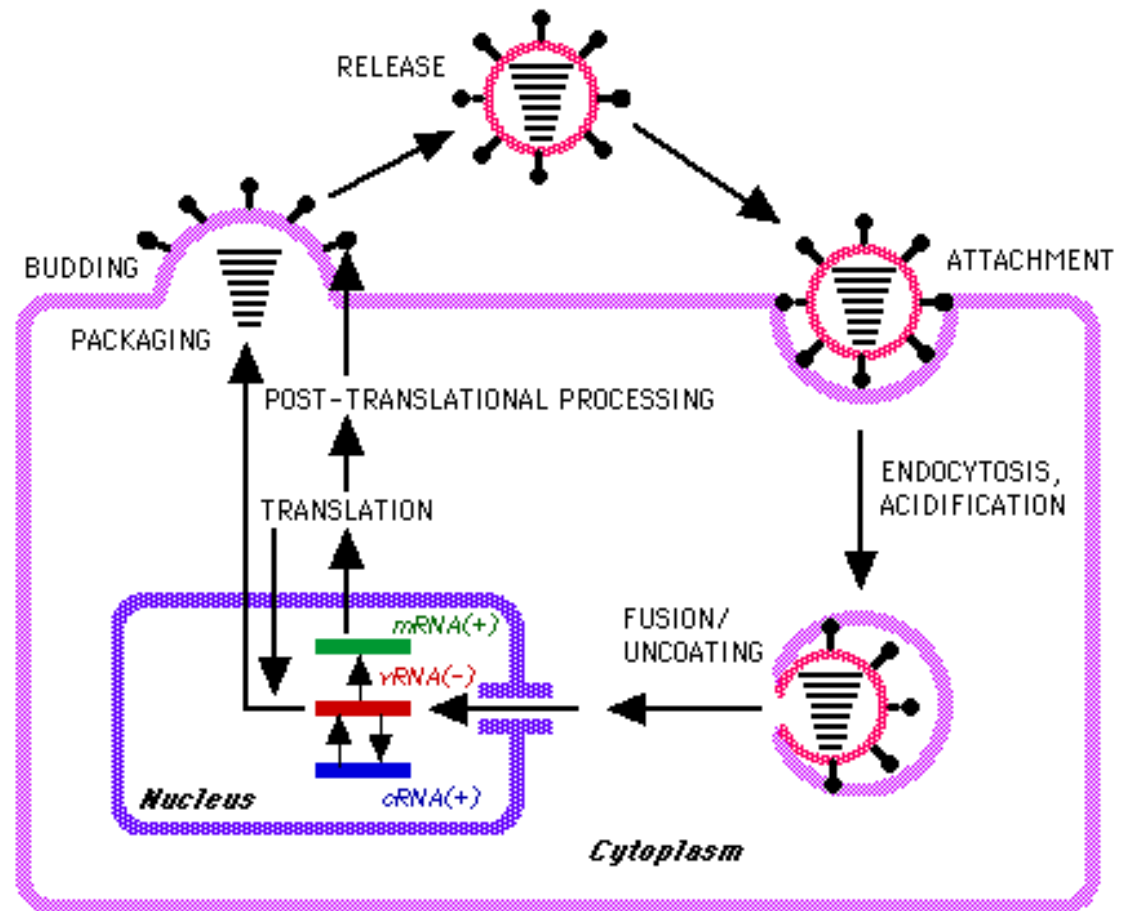
Influenza Virus

- 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



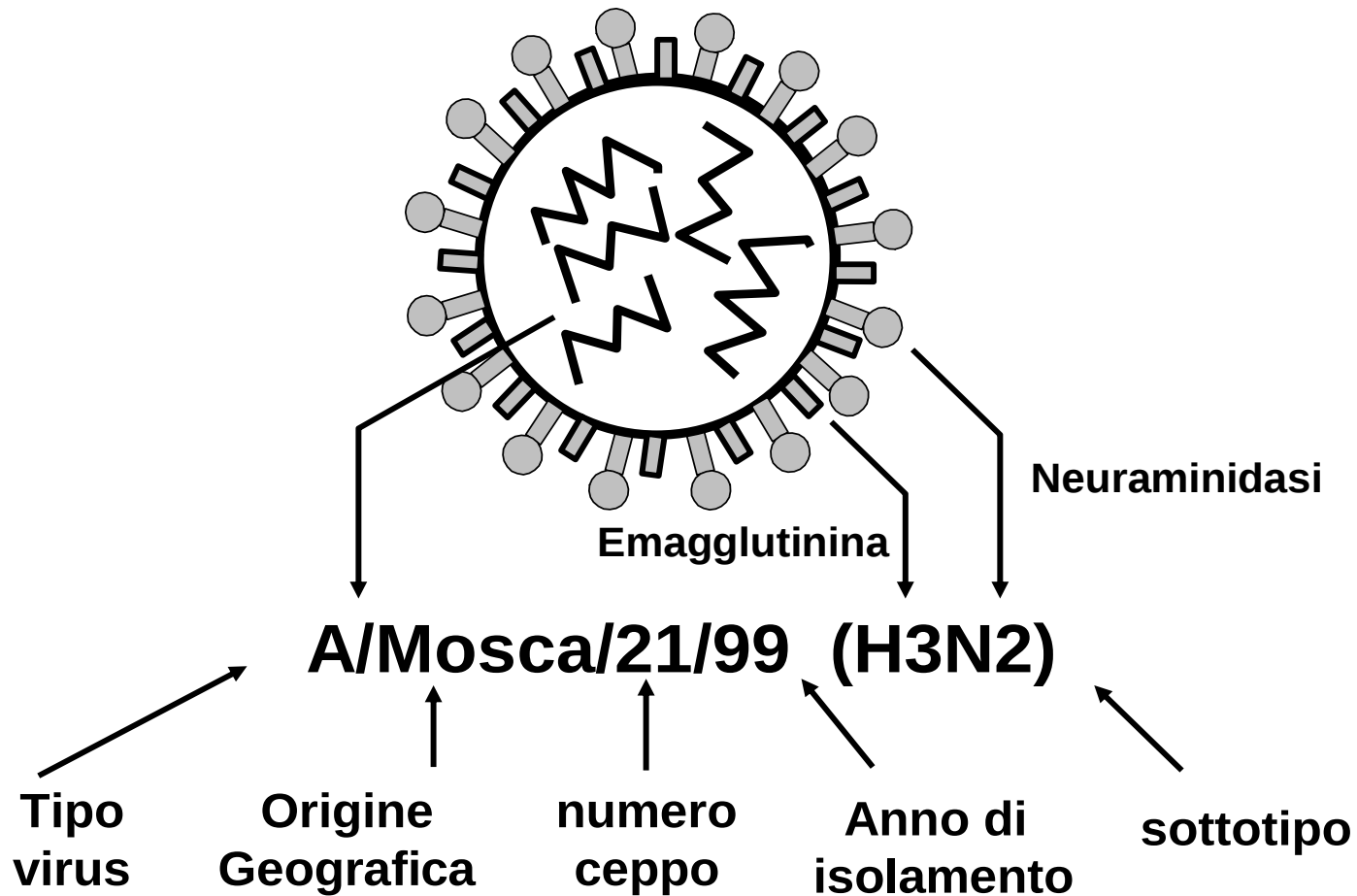
GENOMA VIRALE E PROTEINE

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

Virus Influenzale

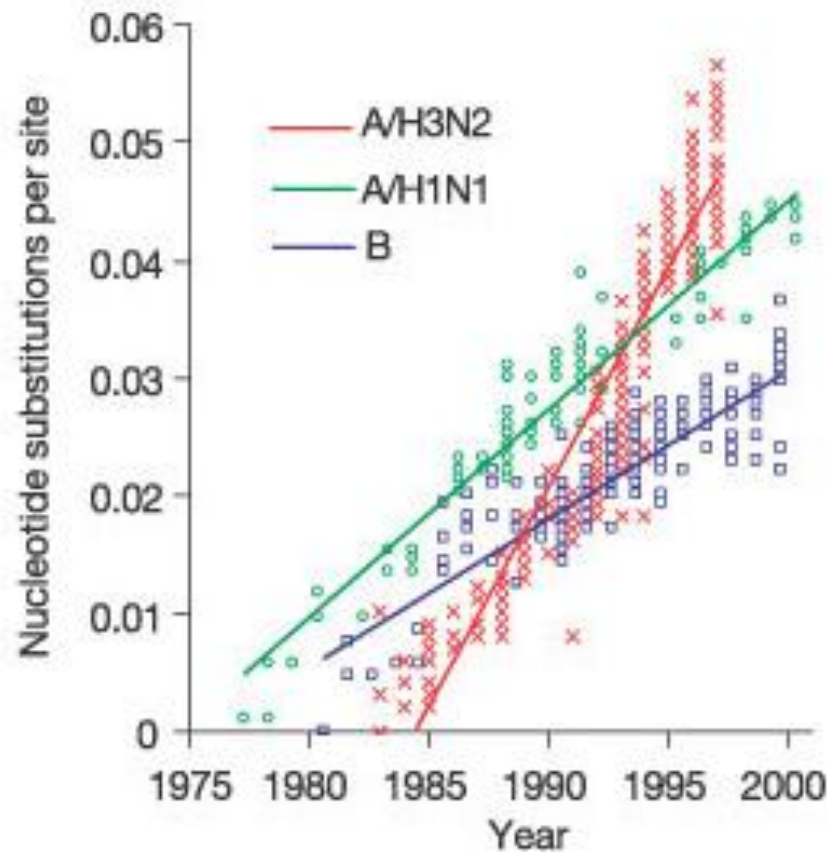


Influenza - modificazioni antigeniche

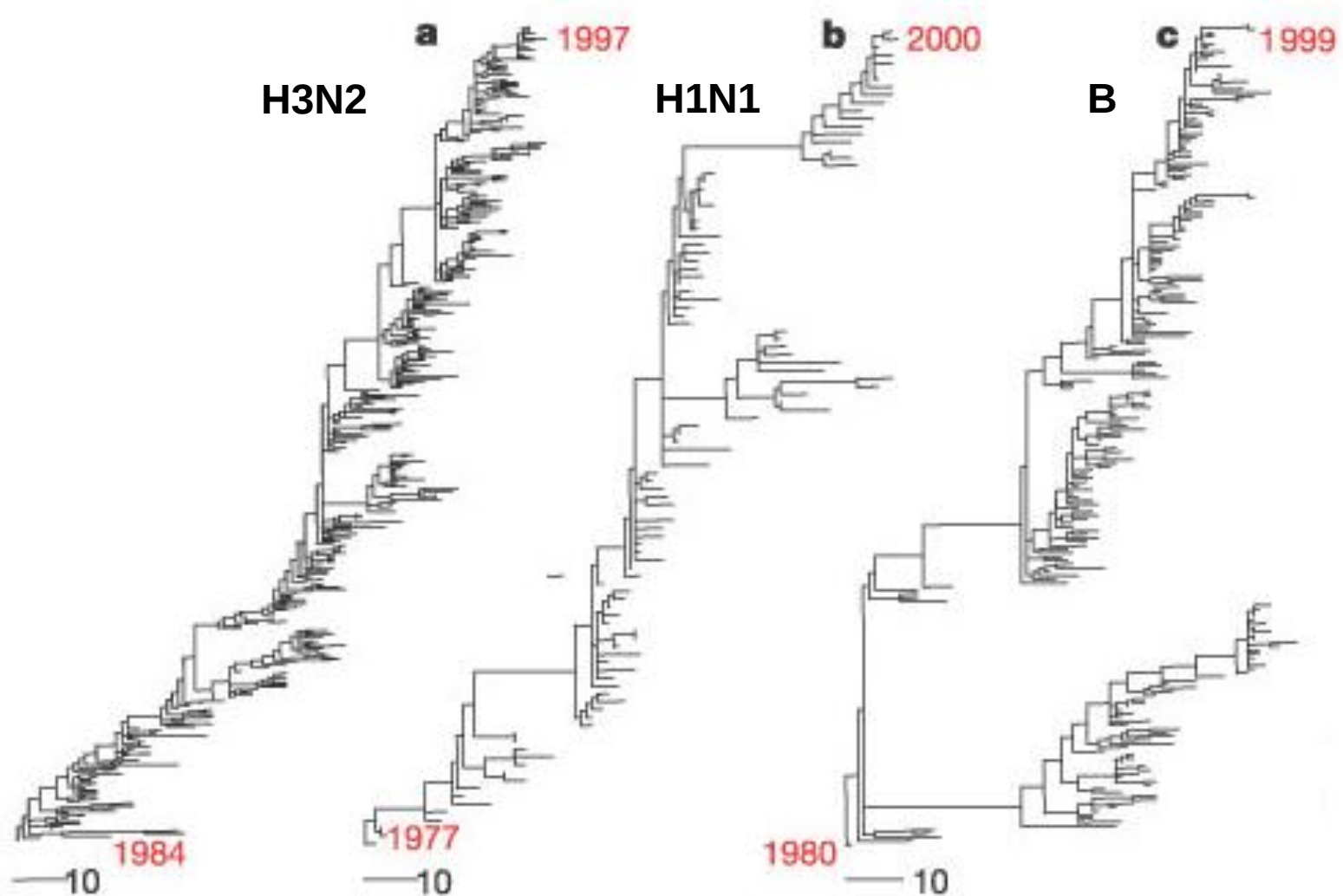
- La struttura dell'emagglutinina (H) e della neuraminidasi (N) cambiano periodicamente
- Drift modificazioni minori, stesso sottotipo
 - » mutazioni puntiformi nei geni HA e NA
 - » può causare epidemie
- Shift modificazione maggiore, nuovo sottotipo
 - » Ricombinazione/riassortimento di segmenti genomici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

•

Tassi di mutazione per i virus A e B



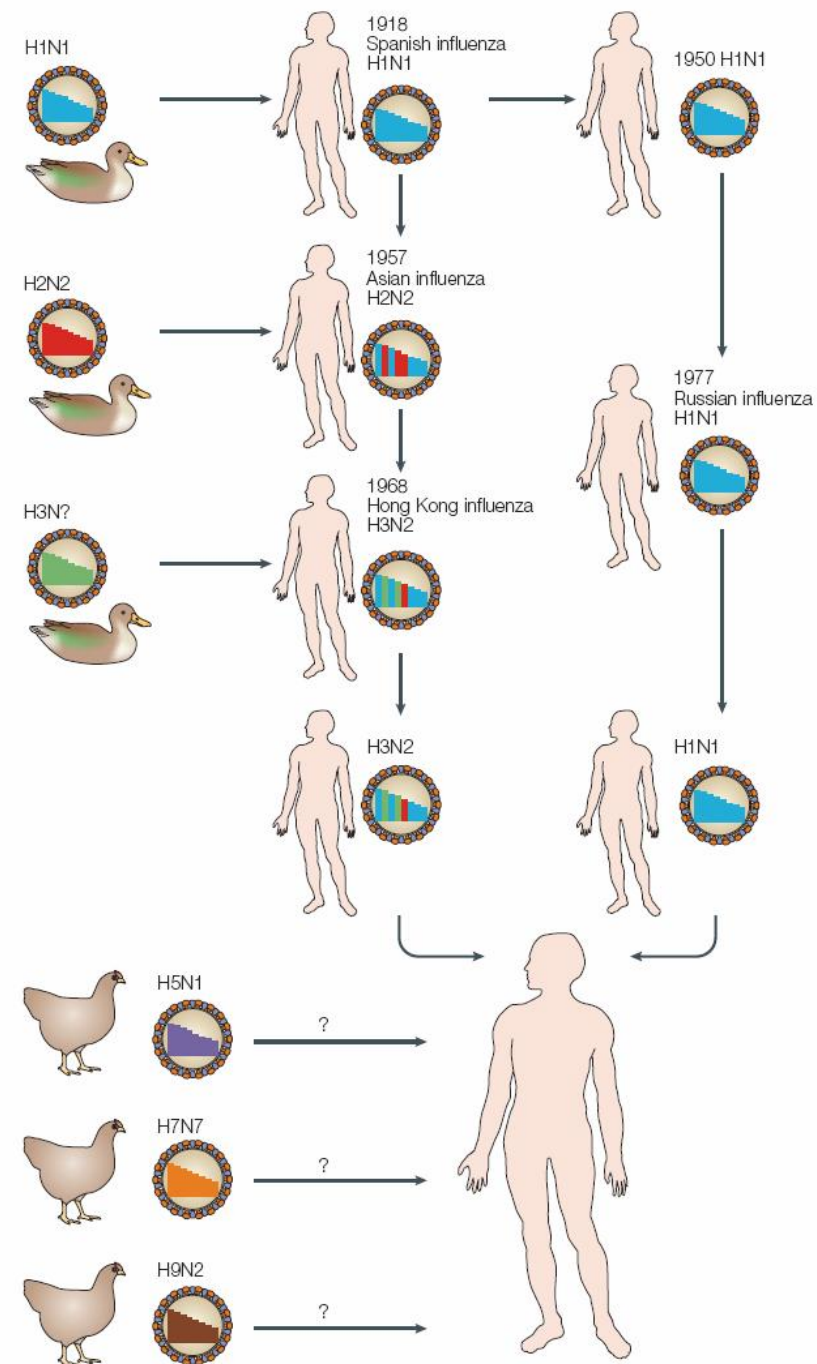
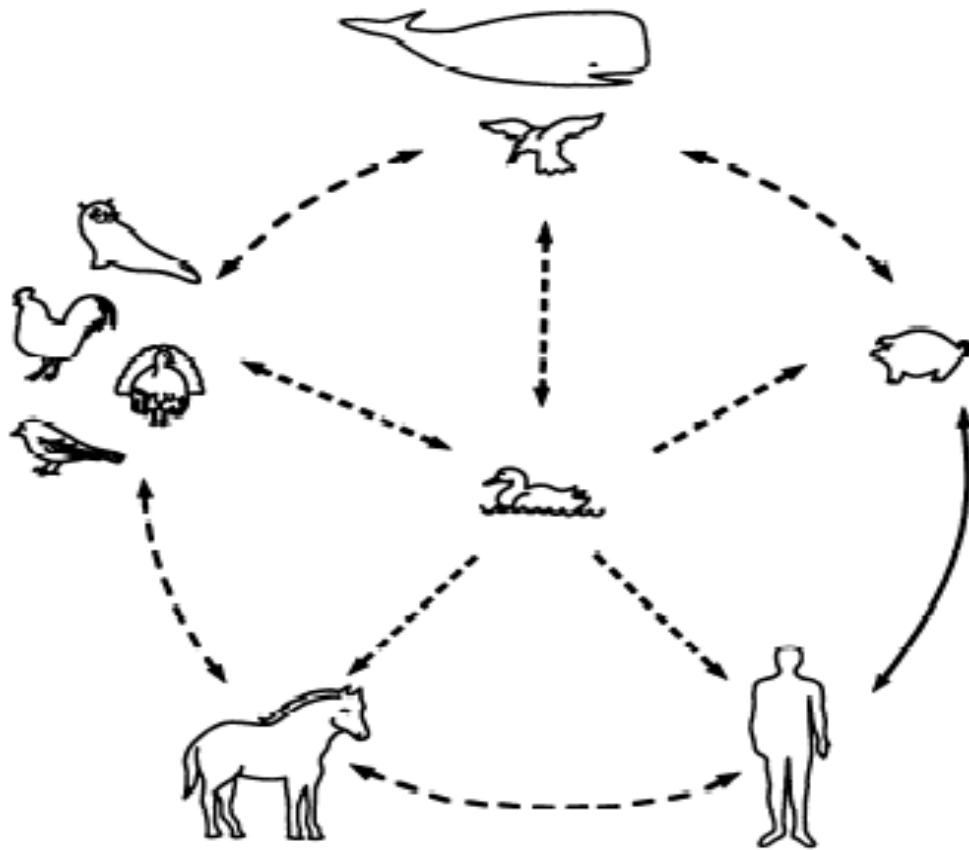
Dinamiche evolutive dell'Influenza



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)				

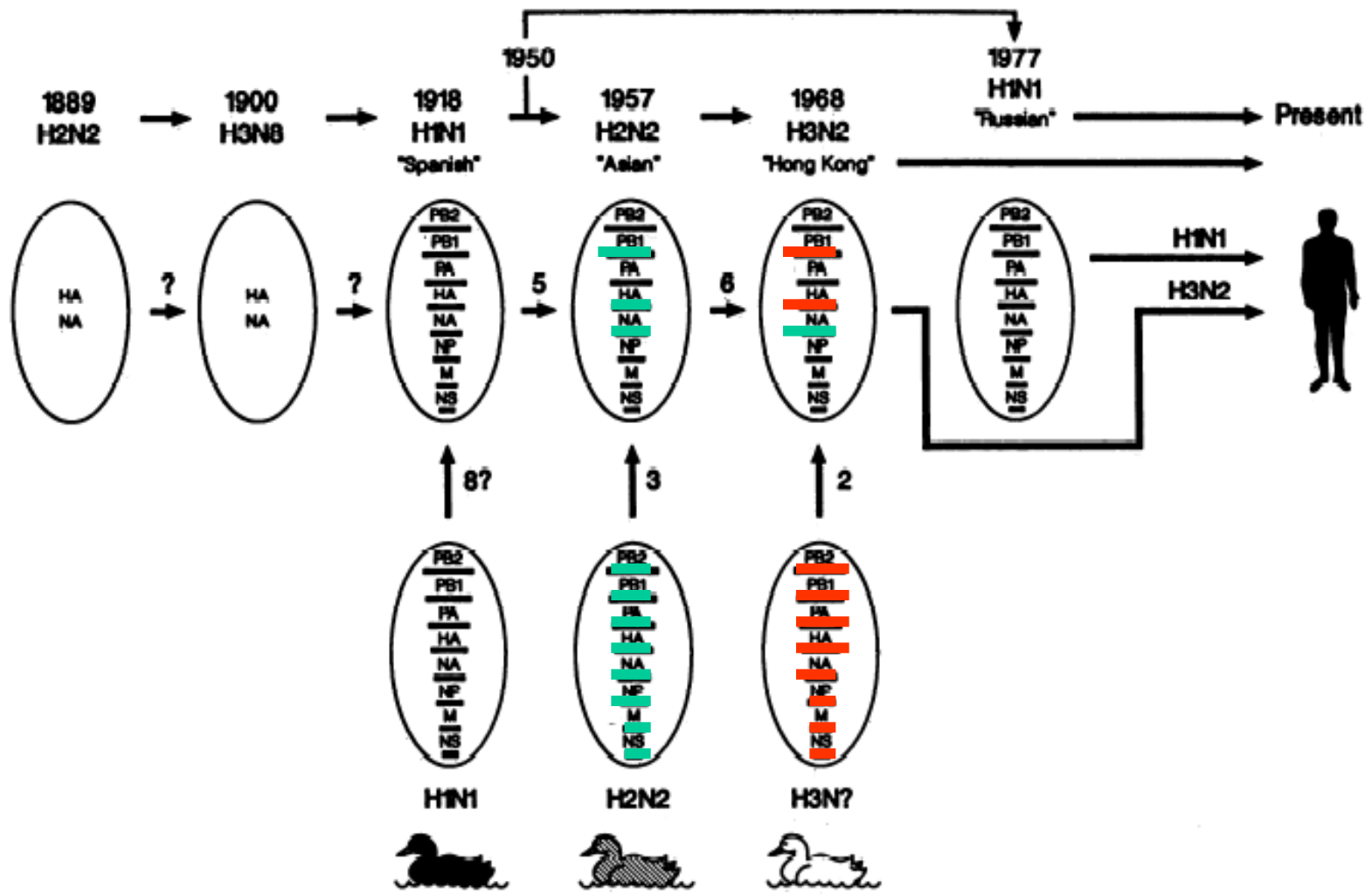
Modificato da Levine AJ. *Viruses*. 1992;165,

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

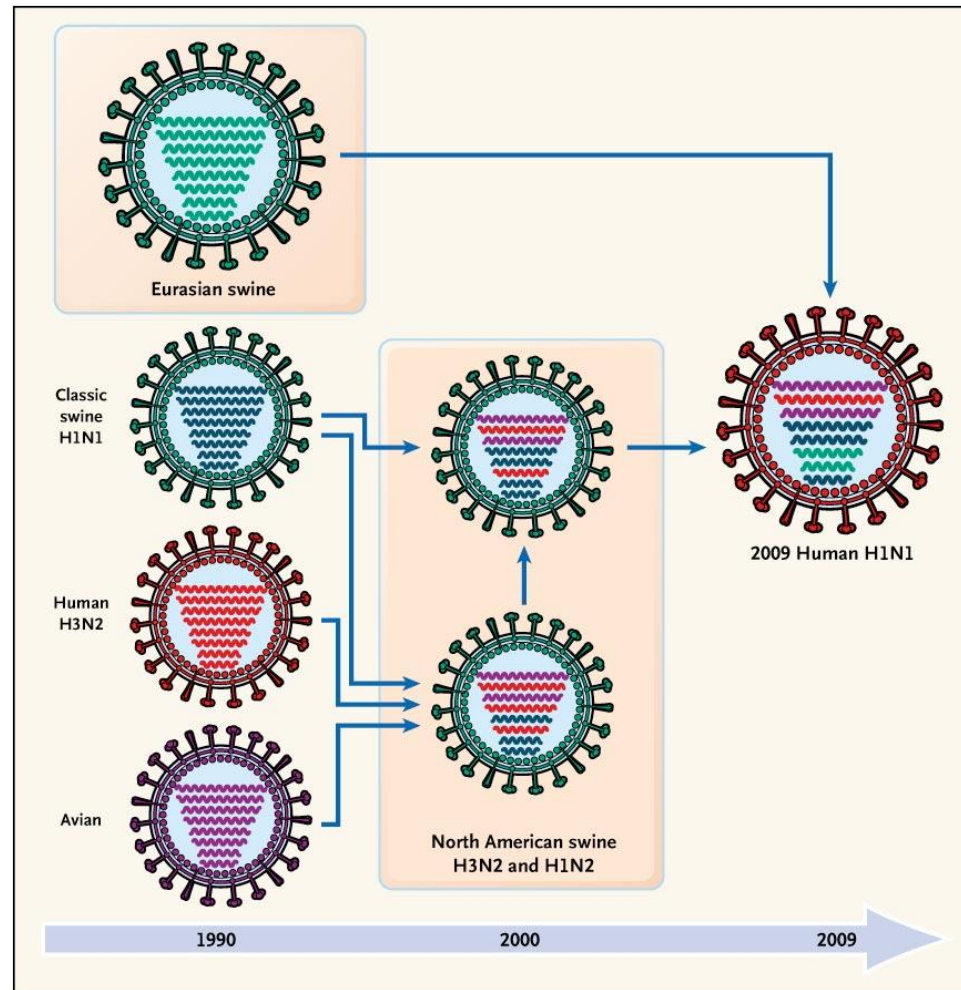
Patient A. On April 13, 2009, CDC was notified of a case of respiratory illness in a boy aged 10 years who lives in San Diego County, California. The patient had onset of fever,

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)

PB2
PB1
PA
HA
NP
NA
M
NS

PB2
PB1
PA
HA
NP
NA
M
NS

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

Human H1N1 Cases from
Triple-Reassortant Swine

PB2
PB1
PA
HA
NP
NA
M
NS

Human H1N1 Cases
in California

PB2
PB1
PA
HA
NP
NA
M
NS

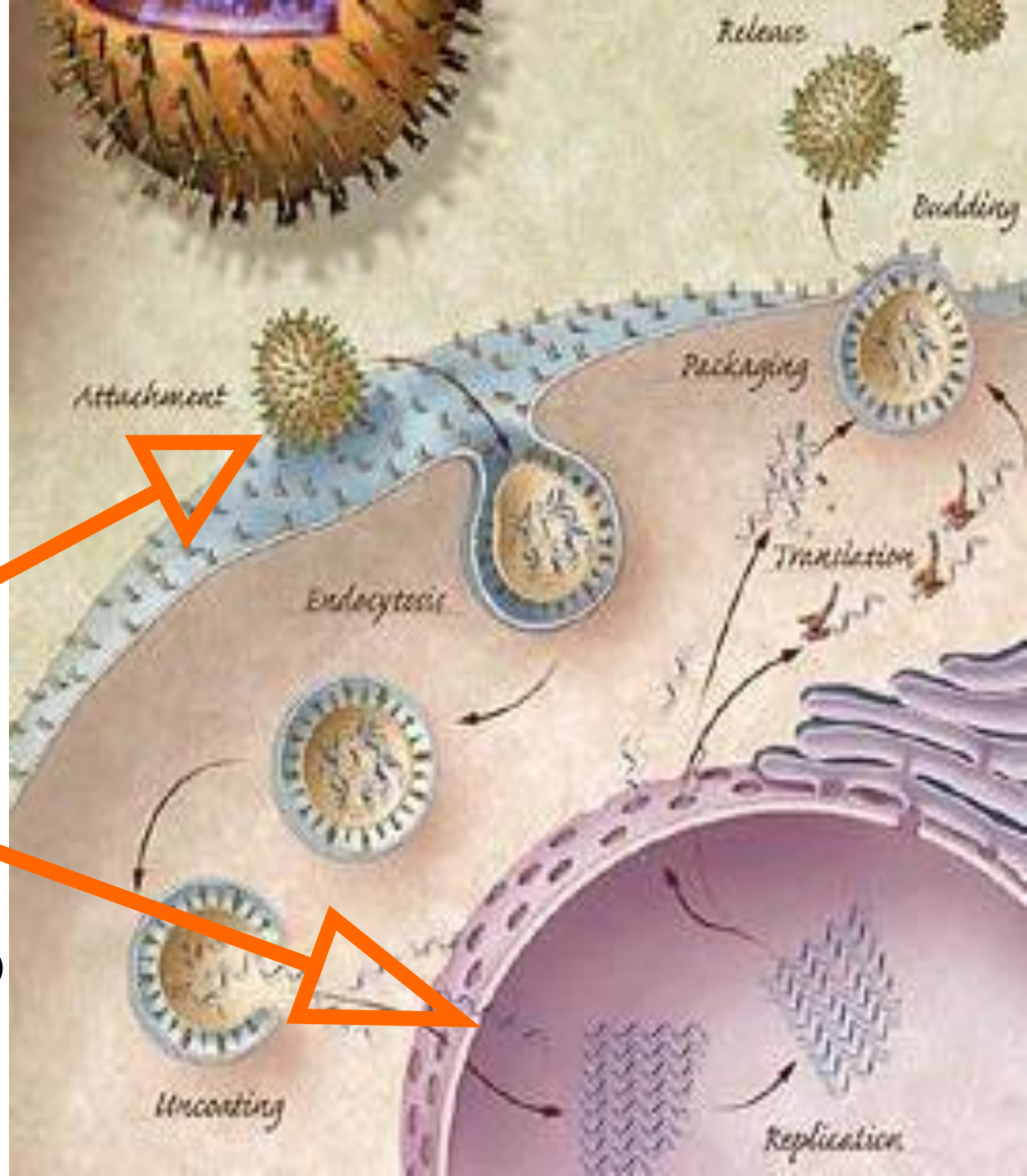
Classic swine, North American lineage
Avian, North American lineage
Seasonal H3N2
Eurasian swine lineage



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

Attachment
→ gene HA

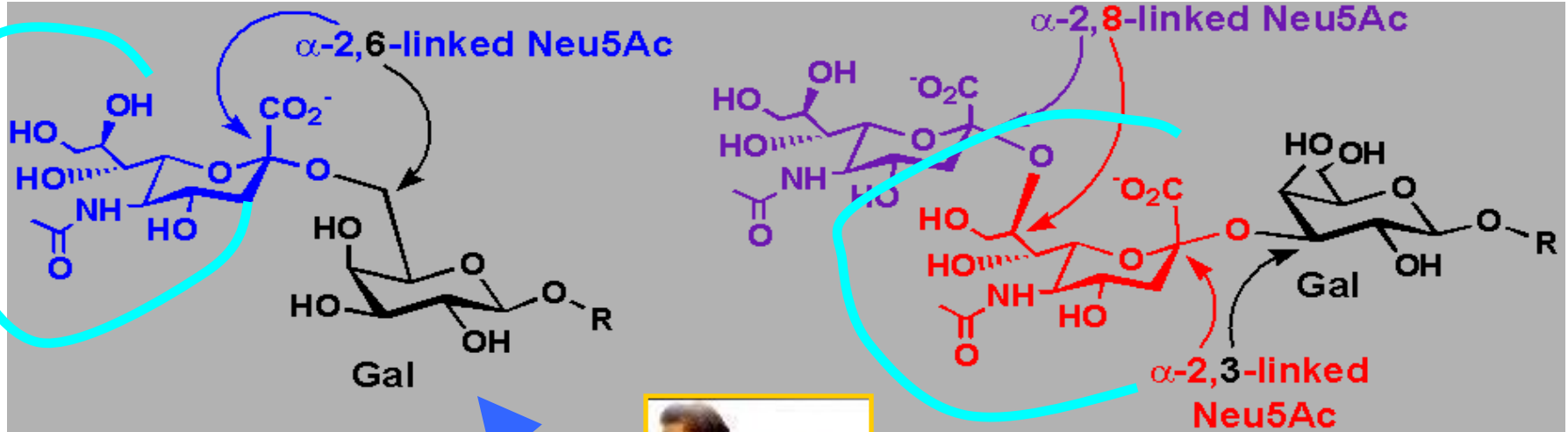
Replicazione
→ complesso Pol
(PB1, PB2, PA)



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



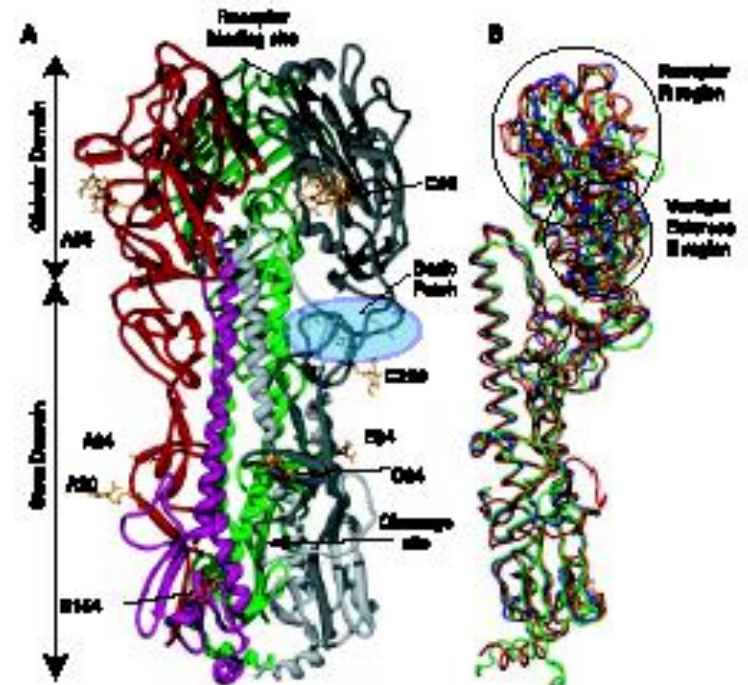
SITO DI LEGAME CON IL RECETTORE

- 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. 10/2020)

- Casi : 861
- Morti: 455
- Letalità: 52,8%
- Segnalata per la prima volta in Asia (Cina, Vietnam, Tailandia)

Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003-2020

Country	2003-2009*		2010-2014*		2015-2019*		2020		Total	
	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths
Azerbaijan	8	5	0	0	0	0	0	0	8	5
Bangladesh	1	0	6	1	1	0	0	0	8	1
Cambodia	9	7	47	30	0	0	0	0	56	37
Canada	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1
China	38	25	9	5	6	1	0	0	53	31
Djibouti	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Egypt	90	27	120	50	149	43	0	0	359	120
Indonesia	162	134	35	31	3	3	0	0	200	168
Iraq	3	2	0	0	0	0	0	0	3	2
Lao People's Democratic Republic	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2
Myanmar	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Nepal	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
Nigeria	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Pakistan	3	1	0	0	0	0	0	0	3	1
Thailand	25	17	0	0	0	0	0	0	25	17
Turkey	12	4	0	0	0	0	0	0	12	4
Viet Nam	112	57	15	7	0	0	0	0	127	64
Total	468	282	233	125	160	48	0	0	861	455

* 2003-2009, 2010-2014 and 2015-2019 total figures. Breakdowns by year available on subsequent tables.

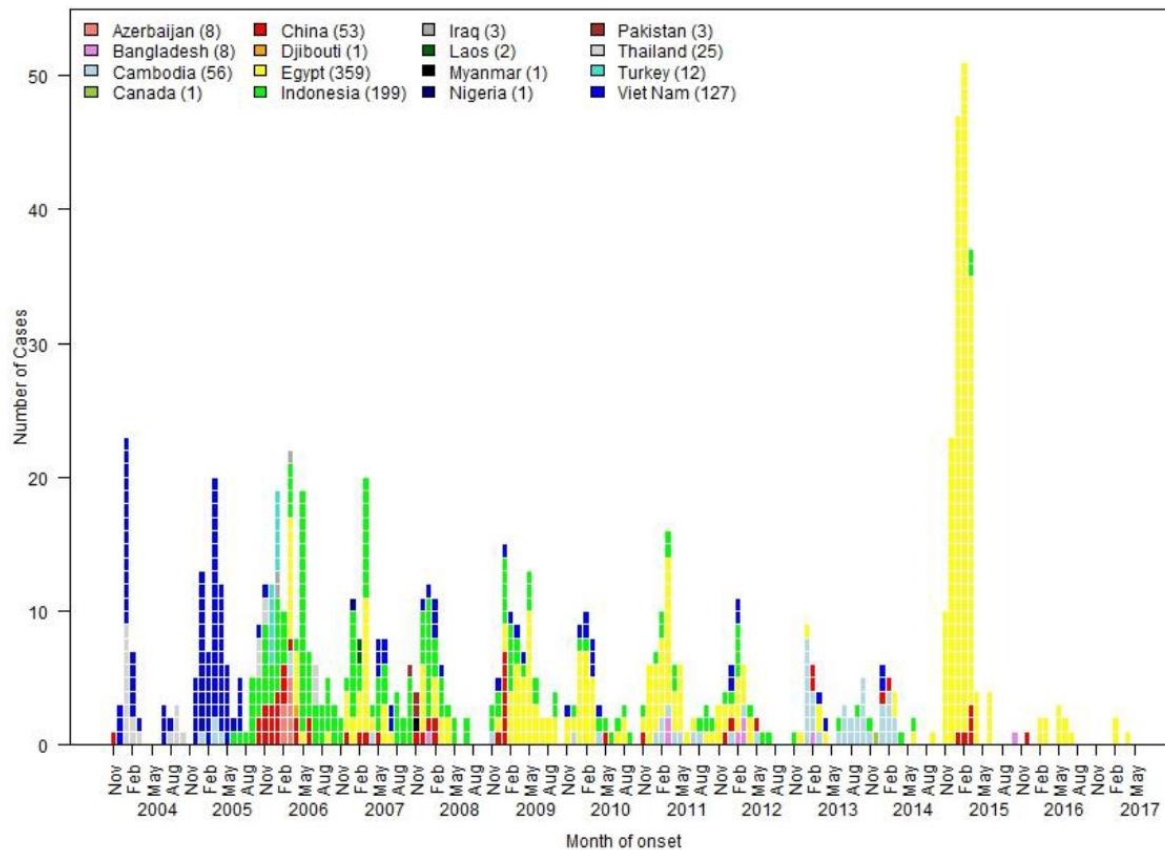
Total number of cases includes number of deaths.

WHO reports only laboratory-confirmed cases.

All dates refer to onset of illness.

Source: WHO/GIP, data in HQ as of 23 October 2020

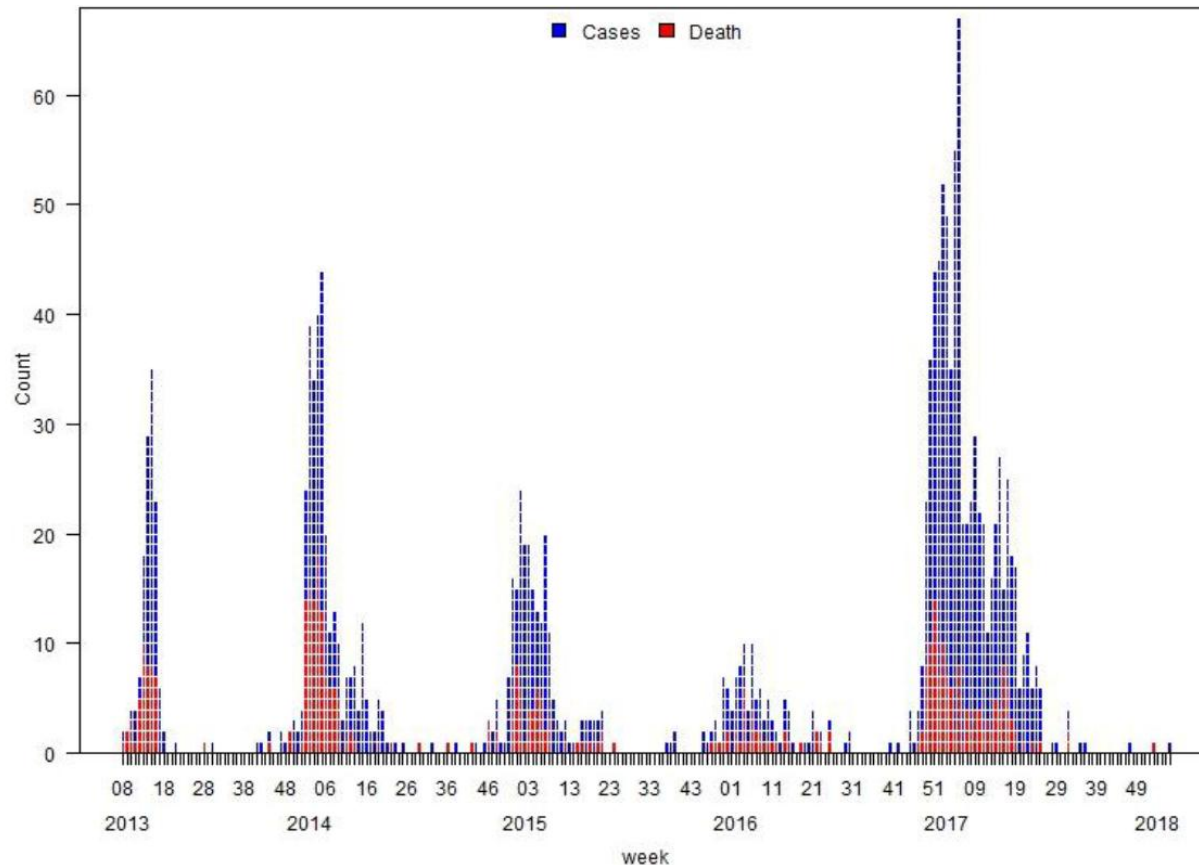
Curva epidemiologica dei casi umani di influenza aviaria A(H5N1) per settimana, 2004-2017



Influenza H7N9

- Al 11 Aprile 2013, sono stati segnalati 33 casi umani di infezione con il virus influenzale A(H7N9) virus in quattro province cinesi.
- Di questi:
 - 9 sono morti
 - 21 presentavano forme gravi
 - 3 presentavano forme lievi
 - Età media 64 (4-87)
- Nessun legame epidemiologico è stato dimostrato tra i casi.

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



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

Caratteristiche del virus

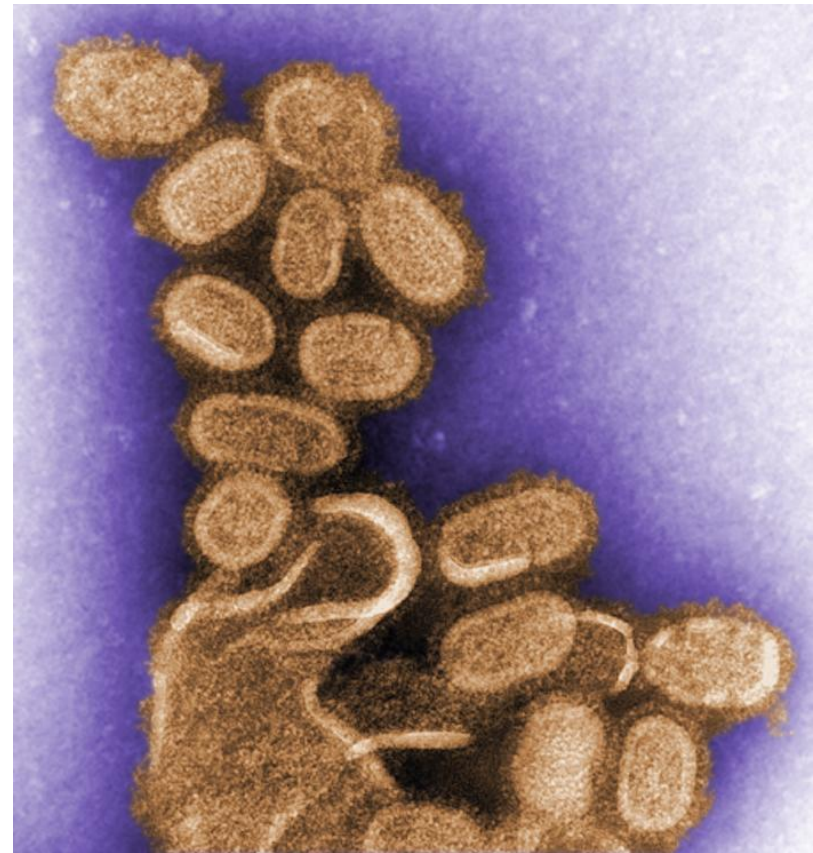
- Prima segnalazione 19/02/2013
- I 6 geni codificanti per le proteine interne sono simili a virus H9N2 recentemente isolati in China e Sud Corea. Virus H9N2 sono endemici nel mondo aviario incluso il pollame.
- Il gene per la proteina N è simile ai virus aviari H11N9 isolati in Sud Corea nel 2011; in Cina nel 2010; e in Repubblica Ceca nel 2005.
- Il gene per la proteina H appartiene al gruppo Eurasiatico di virus H7.

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 $\alpha 2-6$** (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.

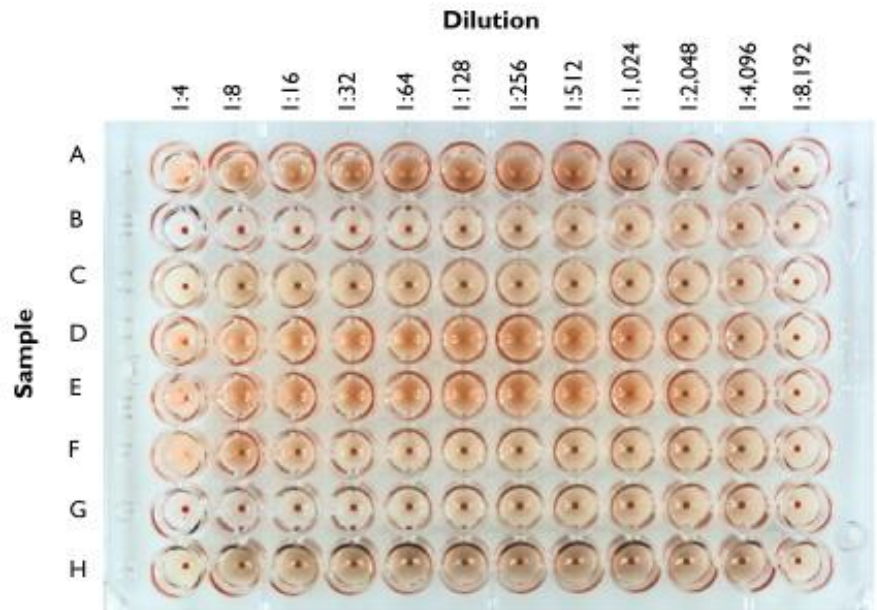
Diagnosi di Influenza

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



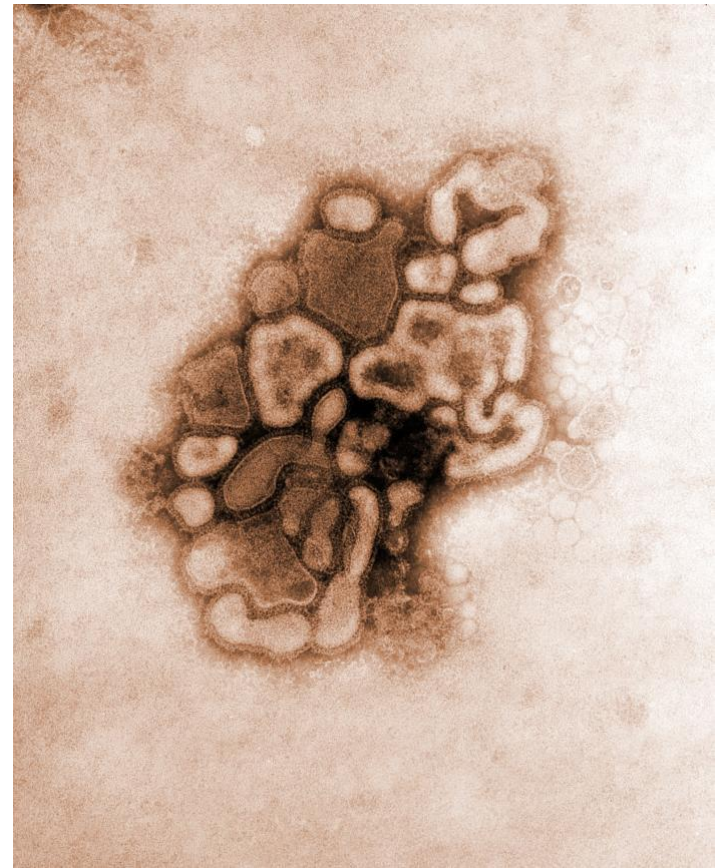
Isolamento virale

- Isolamento in colture cellulari
 - Linea MDCK-SIAT
 - Elevata sensibilità
 - Tempi relativamente lunghi (3-15 giorni)
 - Caratterizzazione molecolare
 - Valutazione resistenze a NI

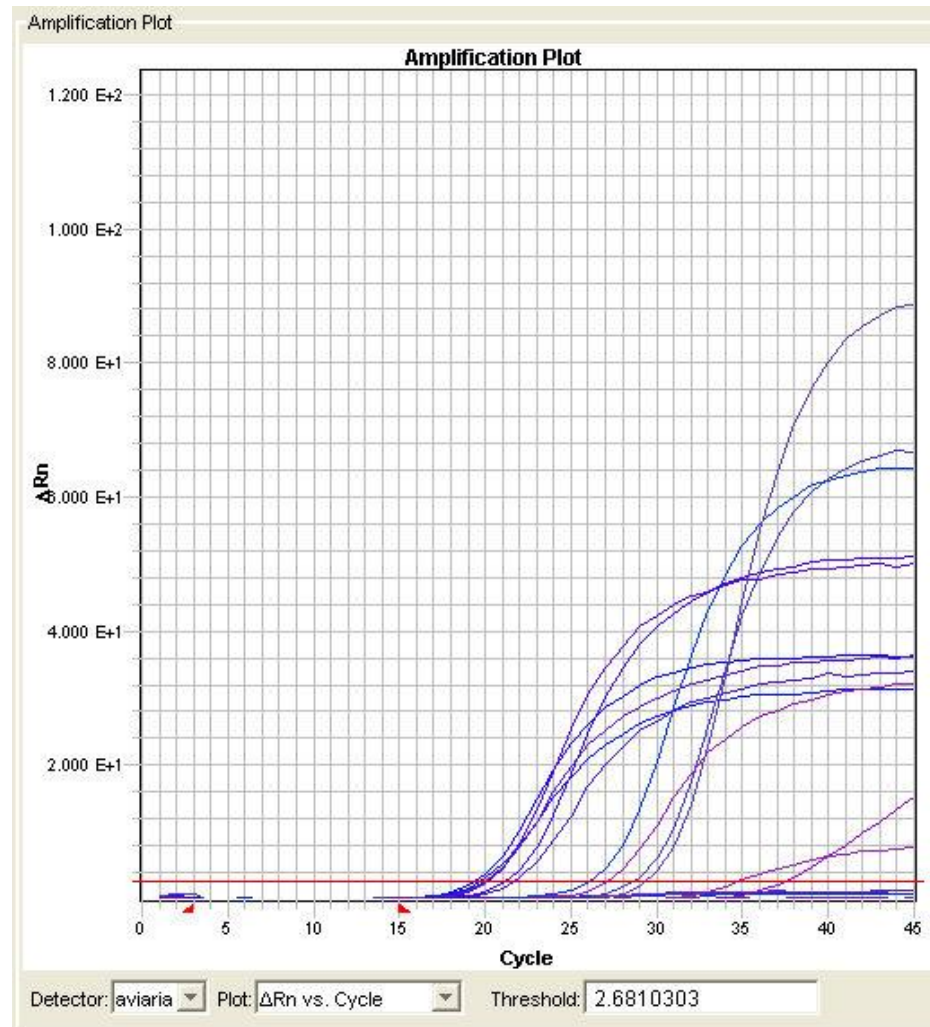
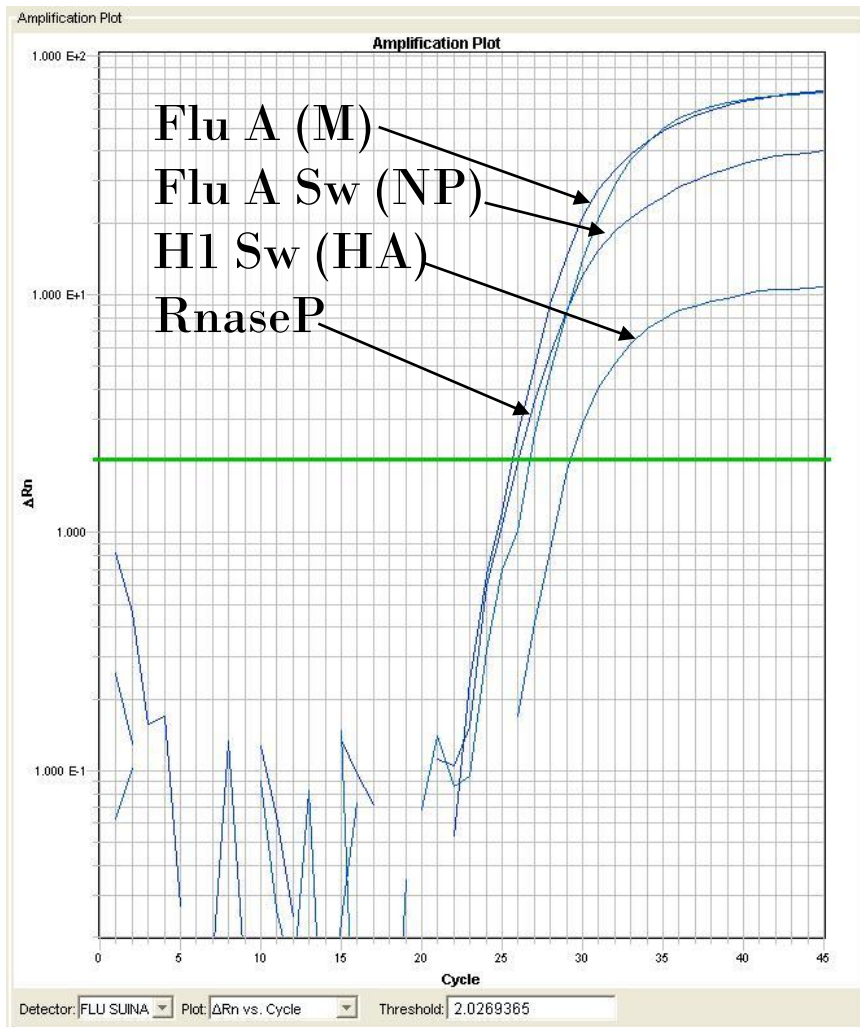


Metodi molecolari

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

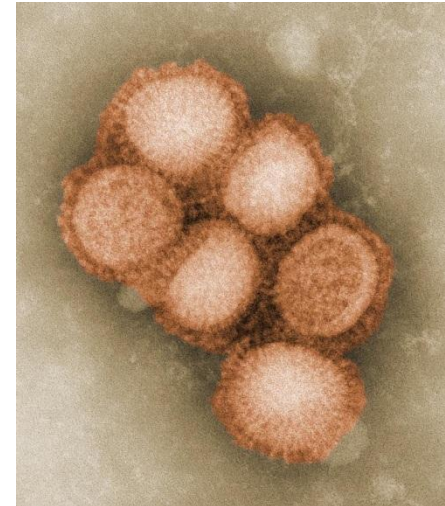


Diagnosi: real time PCR



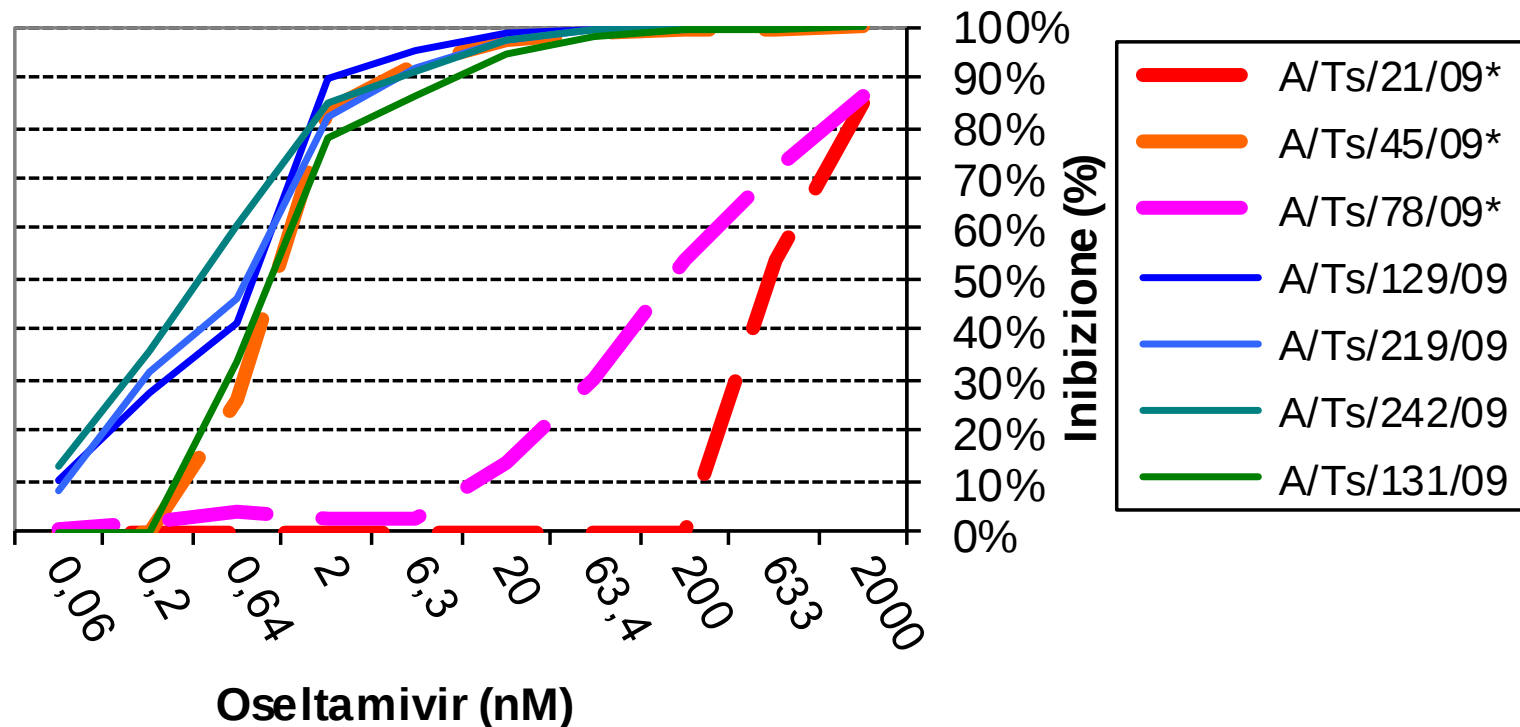
Resistenze agli inibitori della Neuraminidasi

- 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



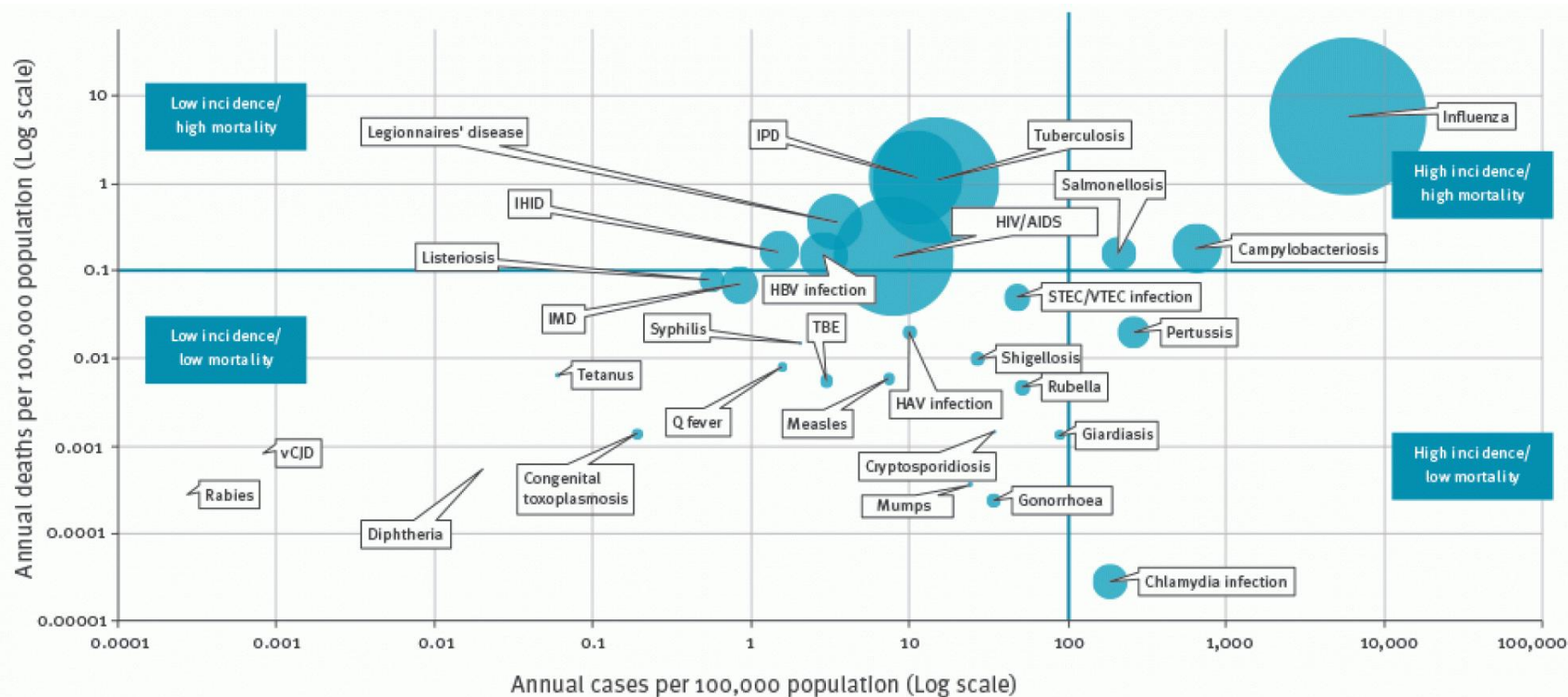
Prevenzione

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

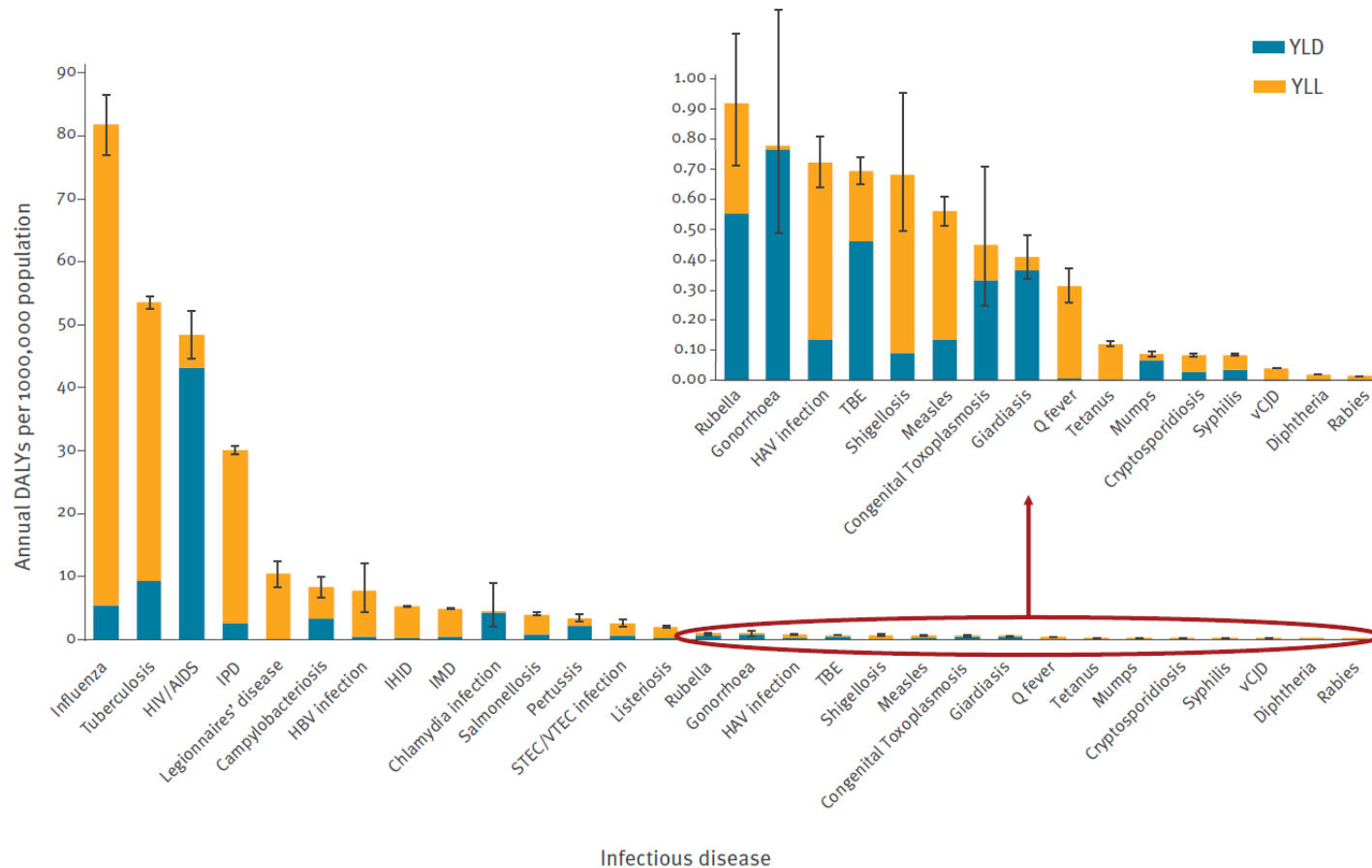
Perché è importante sorvegliare l'Influenza?

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



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}

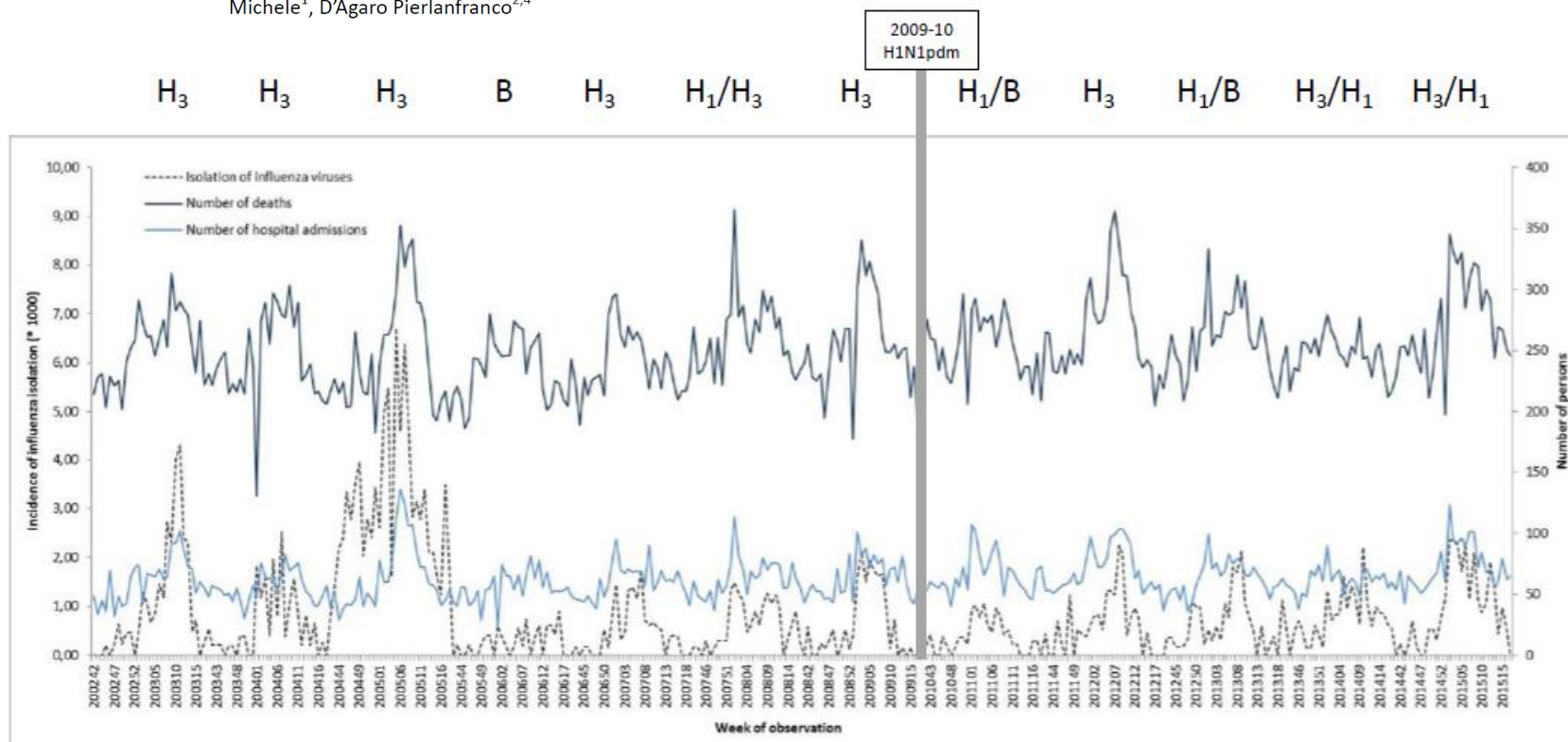


Fig. 2. Weekly time series of the virus identification rate per 1000 inhabitants ≥ 65 years of age, of the number of deaths, and of the number of hospital admissions. Influenza seasons 2002/2003-2014/2015, Friuli Venezia Giulia, Italy.

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 - 2017/18

C. TorA*	Week	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	1	2	3	4	5
Iceland												B/AH3	B/AH3	B/AH3	B	B	B	B/AH3	B/AH3
Ireland												B	B	B	B	B	B	A/B	A/B
Portugal												B	B	B	B	B	B	A/B	A/B
Spain				B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3
United Kingdom (Northern Ireland)	A/B	A/B	A	AH3	A	AH3	AH3	A	B/AH3	A	A	AH3	A	AH3	B/AH3	A	B/AH3	B/AH3	B/AH3
United Kingdom (Wales)		B/AH3	B/AH3		AH3	AH3		B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3
United Kingdom (Scotland)	A	A	A/B		A	A/B	A	AH3	AH3	AH3	AH3	AH3	AH3	A	A	A	A	A/B	A/B
United Kingdom (England)		A		A	A	A		A	A	A	A/B	B	A/B	A/B	B	B	B	A/B	A/B
France									A	A	A	AH1	AH1	AH1	AH1	AH1	A/B	AH1	B
Belgium														B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1
Netherlands									B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
Luxembourg									B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
Switzerland		A	A/B			A	A/B	A/B	A/B	A/B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
Germany																			
Denmark												A/B	B	B	B	B	B	B	B
Norway	AH3	B/AH3	AH3	AH3	AH3	AH3	AH3	AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B	B	B	B	B	B	B	B
Italy												B	B	B	B	B	B/AH1	B/AH1	B/AH1
Austria												A/B	B	B	B	B	B	B	B
Malta		AH3	AH3	AH3	B/AH3	B		B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
Slovenia												A	A	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B
Sweden												B	B	B	B	B	B	B	B
Croatia									B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
Czech Republic														B	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1
Bosnia and Herzegovina																			
Slovakia																			
Albania															B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1
Hungary									B				B	B	B	B	B	B	B
Poland						A		A	B			B/AH3	B	B	B	B	B	B	B
Montenegro												B		A	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1
Serbia												B	B	B	B	B	B	B	B
Kosovo ^b															A/B	A/B	A/B	A/B	A/B
The former Yugoslav Republic of Macedonia															B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1
Greece															B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1
Lithuania															B	B	B	B	B
Bulgaria															B	B	B	B	B
Latvia												A		B	B	B	B	B	A/B
Romania														B	A	B	B	B	B
Estonia									A	B	B	A/B	B	B	AH1H3	B	B	B	B
Finland							B	B	B/AH3	B/AH3	B	B/AH3	B/AH3	B	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3	B/AH3
Belarus																			
Republic of Moldova																			
Ukraine														B	B	B	B	B	B
Cyprus									A	A	A	A	A	AH1	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B
Israel														B	B	B	B	B	B
Turkey								AH1	AH1	AH1	AH1	B/AH1	AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1	B/AH1
Georgia																			
Armenia								B	B	B	B	B	B		B	B	B	B	B
Azerbaijan																			
Turkmenistan																			
Uzbekistan																	AH1	AH1	B
Kazakhstan																			
Russian Federation														AH3	AH3	AH3	A	A	A
Tajikistan	A	A/B	A	A/B							A	A	B		A/B	B			
Kyrgyzstan																			

WEST

EAST

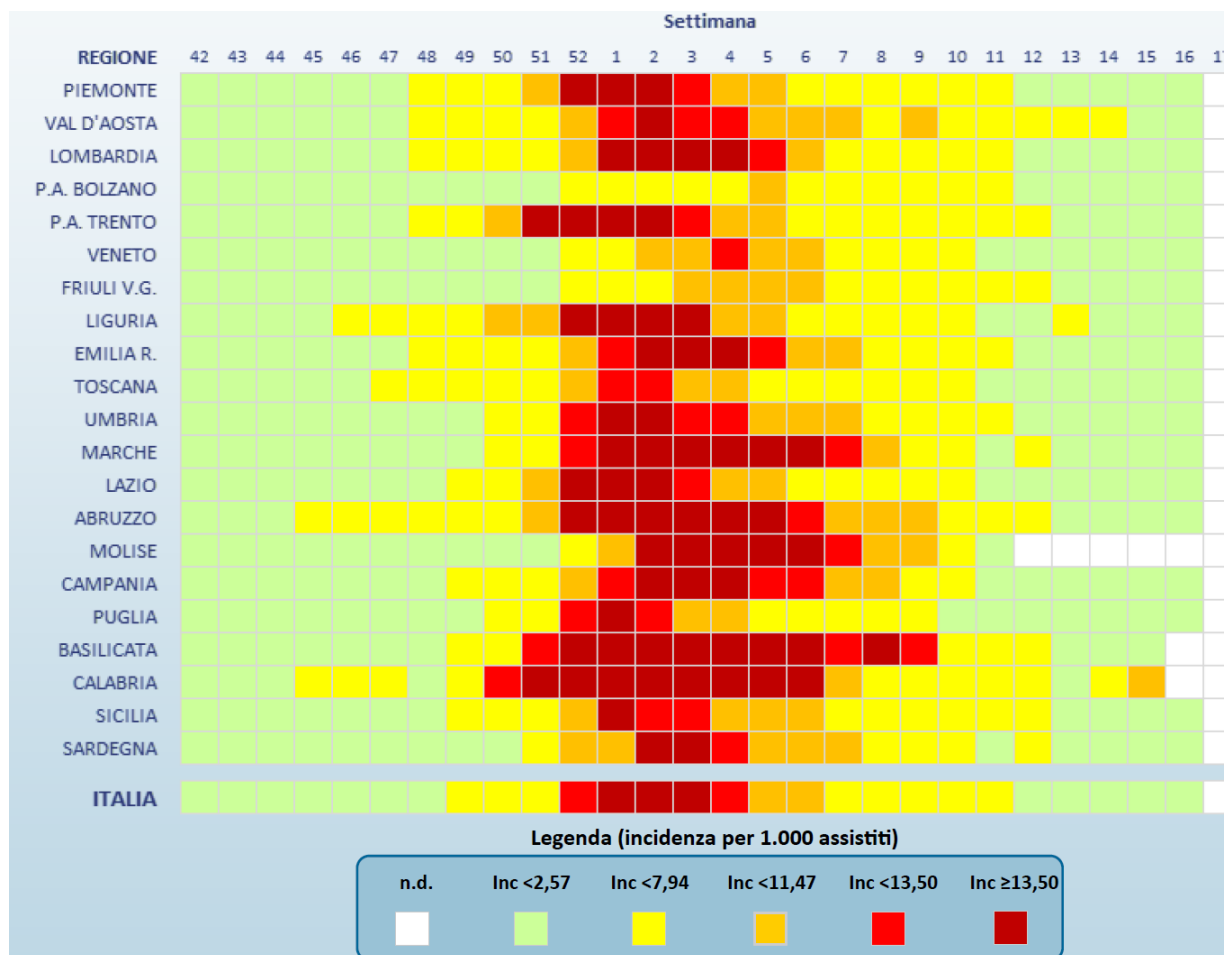
Very High = exceptionally high level of activity
High = levels of activity higher than usual
Medium = usual levels of activity
Low = no activity or activity at baseline* level

* Baseline influenza activity is the level at which clinical influenza activity remains throughout the summer and most of the winter.

^a Country, territory or area

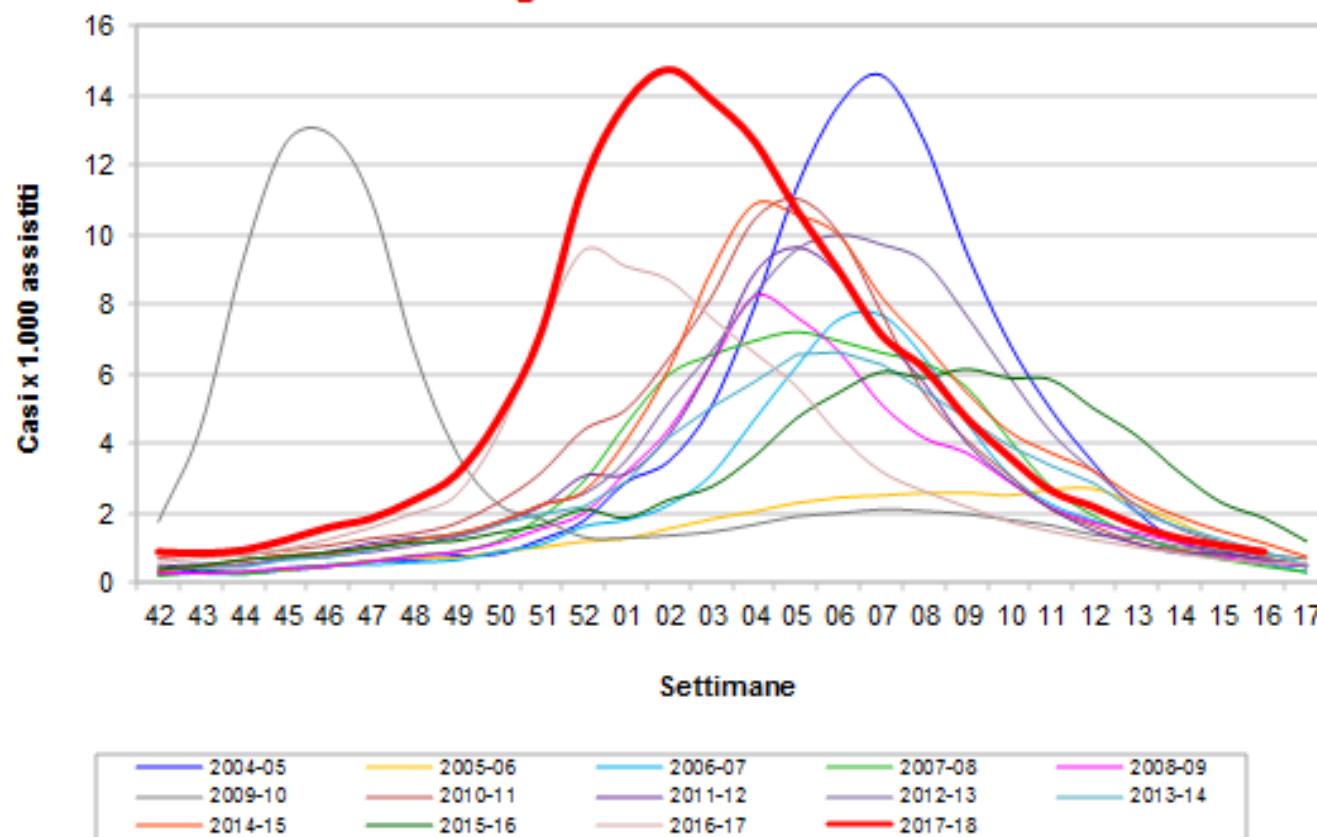
^b in accordance with: United Nations Security Council. Resolution 1244 (1999).

.... In Italia – 2017/18



Sorveglianza epidemiologica 2017/18

**Incidenza delle sindromi influenzali (ILI) in Italia.
Stagioni 2004/05 - 2017/18**

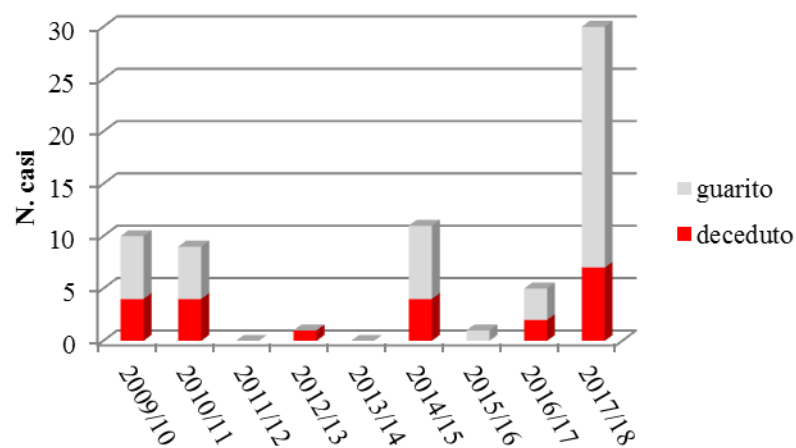


Settimana	Casi stimati in Italia
2017-42	54.000
2017-43	51.500
2017-44	57.300
2017-45	75.000
2017-46	96.800
2017-47	112.100
2017-48	144.200
2017-49	188.600
2017-50	287.000
2017-51	436.600
2017-52	694.000
2018-01	836.300
2018-02	893.400
2018-03	841.300
2018-04	770.000
2018-05	650.200
2018-06	543.300
2018-07	431.900
2018-08	373.600
2018-09	287.100
2018-10	219.800
2018-11	160.000
2018-12	132.200
2018-13	100.100
2018-14	77.500
2018-15	65.400
2018-16	54.300
2018-17	
Totale	8.633.500

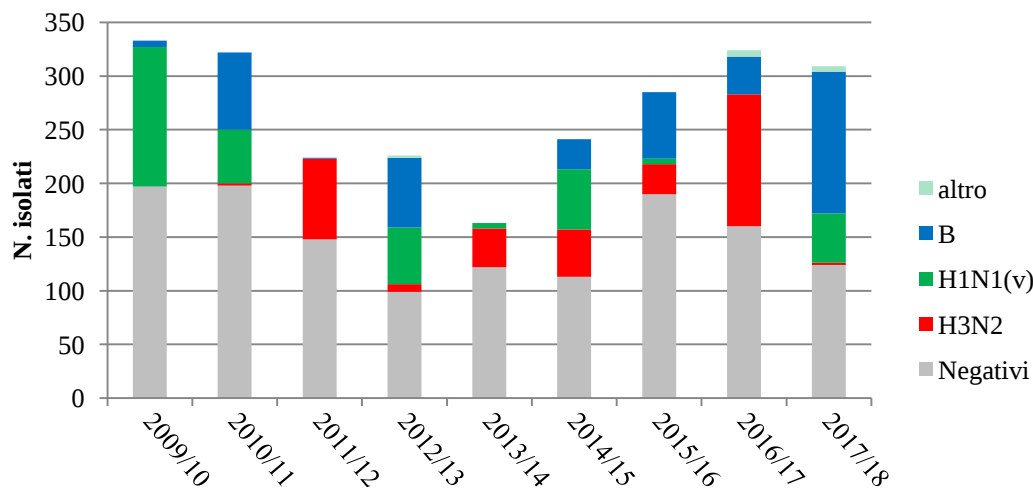
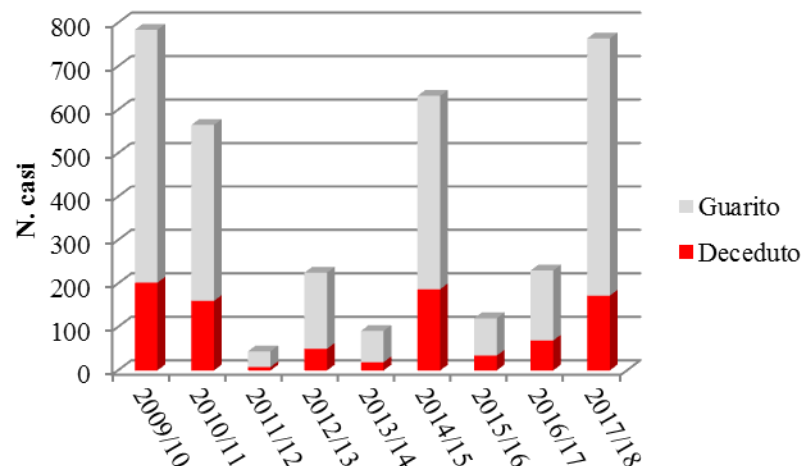


Numero di casi gravi di Influenza nel periodo 2009-2018 con esito

Friuli Venezia Giulia (n.d. 35)



Italia



Sorveglianza virologica dell'Influenza

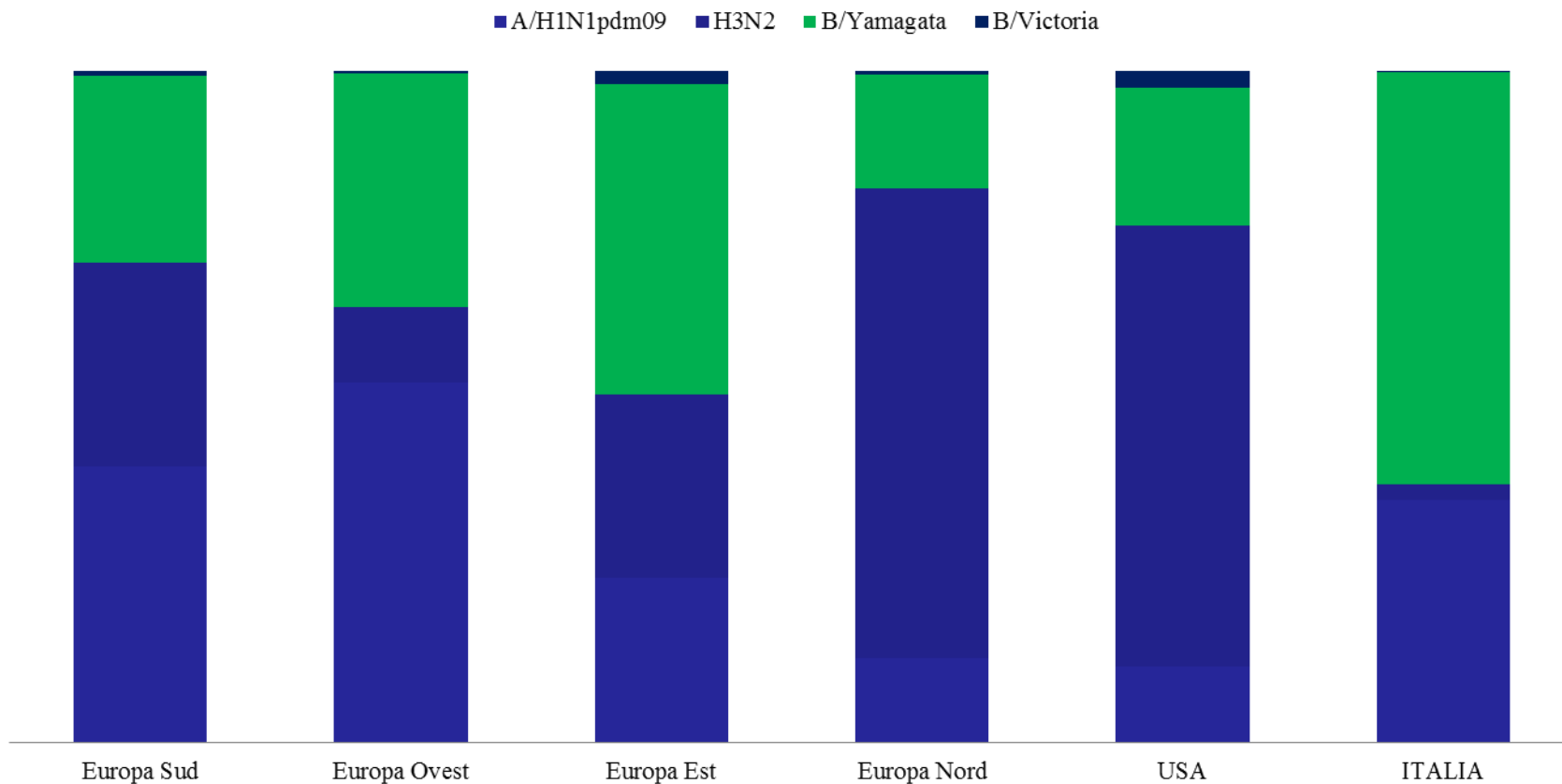
Individua le caratteristiche dei virus
circolanti

Valuta il loro matching con i ceppi vaccinali

Verifica la sensibilità agli antivirali

Sorveglianza virologica

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

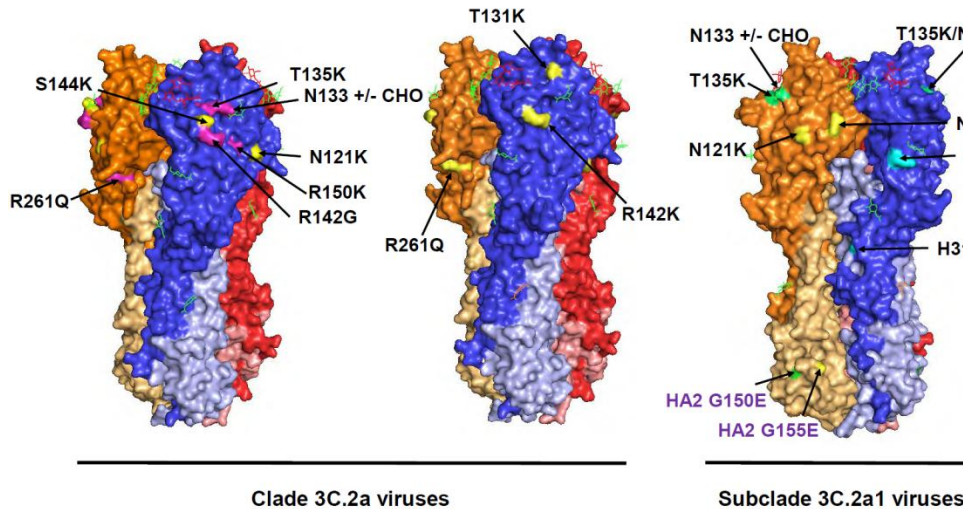


Figure 6. Phylogenetic comparison of A(H3N2) HA genes

Vaccine viruses

Reference viruses

Collection date

Oct 2017

Nov 2017

Dec 2017

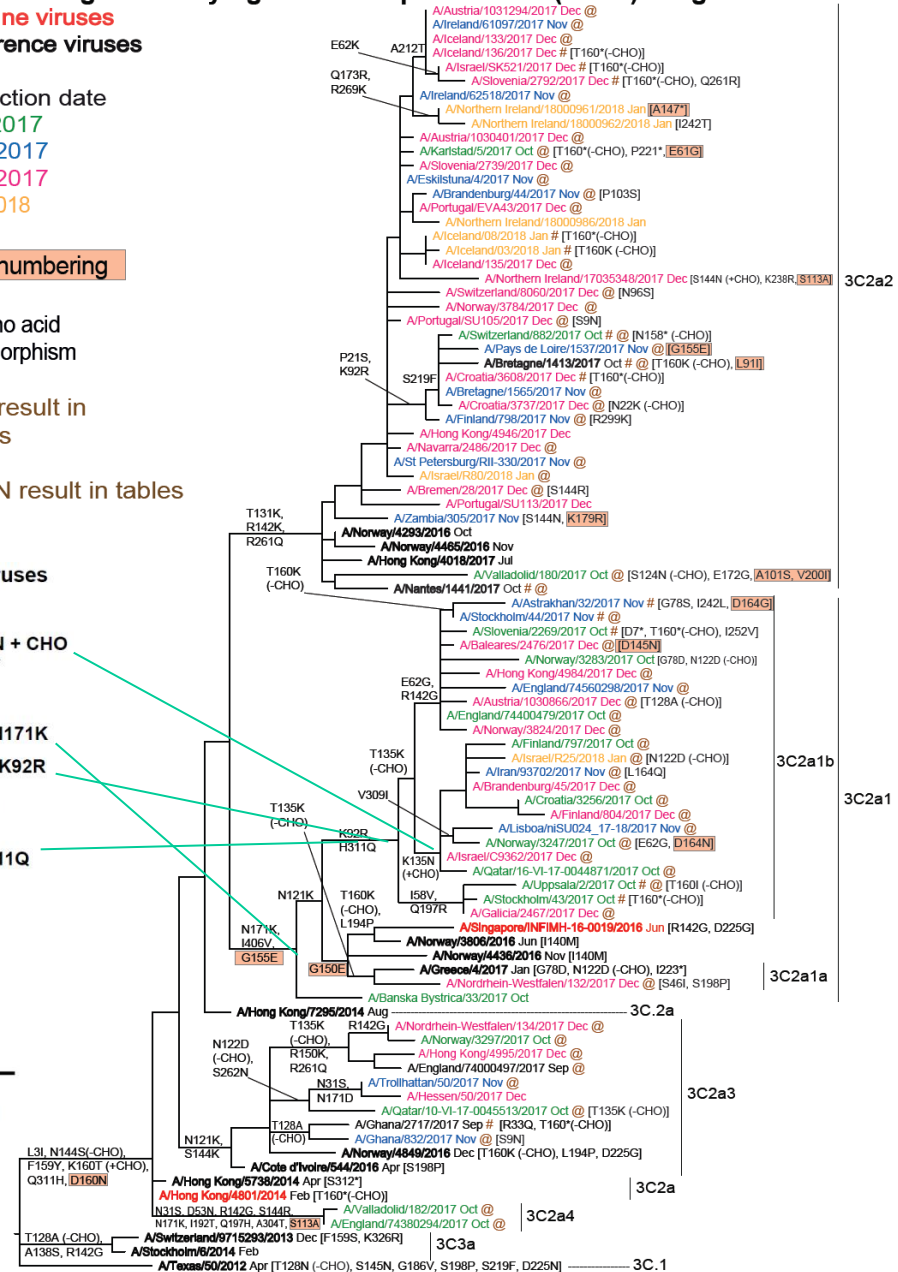
Jan 2018

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 6/14 SIAT F14/14 [†] 3C.3a	A/Switz 9715293/13 SIAT F18/15 [†] 3C.3a	A/HK 5738/14 MDCK F30/14 [†] 3C.2a	A/HK 4801/14 Egg F42/15 [†] 3C.2a	A/Oman 2585/16 SIAT NIB F50/16 [†] 3C.2a1	A/Nor 4436/16 SIAT F03/17 [†] 3C.2a1	A/Greece 4/17 SIAT F27/17 [†] 3C.2a1	A/Sing 0019/16 Egg 10 ⁻⁴ F41/17 [†] 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

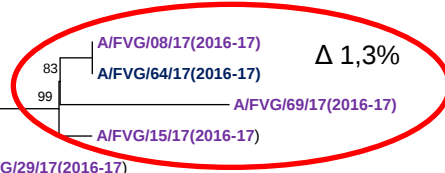
Viruses	Passage history Ferret number Genetic group	Collection Date	Passage History	Neutralisation titre ¹																HA1 substitutions for 3C.2a(1) viruses compared to A/Hong Kong/4801/2014: Egg adaptation HA substitutions compared to the corresponding cell isolate		
				Post-infection ferret antisera																		
				A/HK 4801/14 Egg F42/15	A/HK 7295/14 SIAT F02/15	A/Cote d'Ivoire 544/16 SIAT NIB F54/16	A/Norway 4849/16 Egg F23/17	A/Norway 4465/16 SIAT F11/17	A/Norway 4465/16 Egg F12/17	A/Singapore INFIMH-16-0019/16 Egg 10 ⁴ F41/17	A/Singapore INFIMH-16-0019/16 SIAT F45/17	A/Greece 4/17 SIAT F27/17	A/Norway 3806/16 Egg NIB F45/16									
				3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	3C.2a	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	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	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	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	N121K, S144K, S198P		
A/Norway/4849/2016 (c129)	3C.2a	2016-12-02	E7	40	44	40	41	40	54	160	132	40	20	160	148	640	524	40	50	N121K, S144K, T160K (-CHO), L194P, D225G		
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	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	T131K, R142K, T160K (-CHO), L194P, T203I, R261Q		
A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (10 ⁴)	3C.2a1	2016-06-14	E5/E2	80	80	80	72	40	34	160	135	40	40	640	737	1280	1676	320	268	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	T131K, R142K, R261Q
A/Eskilstuna/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	T131K, R142K, R261Q
A/Eskilstuna/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	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	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	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	N121K, N122D (-CHO), S144K, S262N
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	N121K, N122D (-CHO), T135K (-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	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	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	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	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	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	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	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	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	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



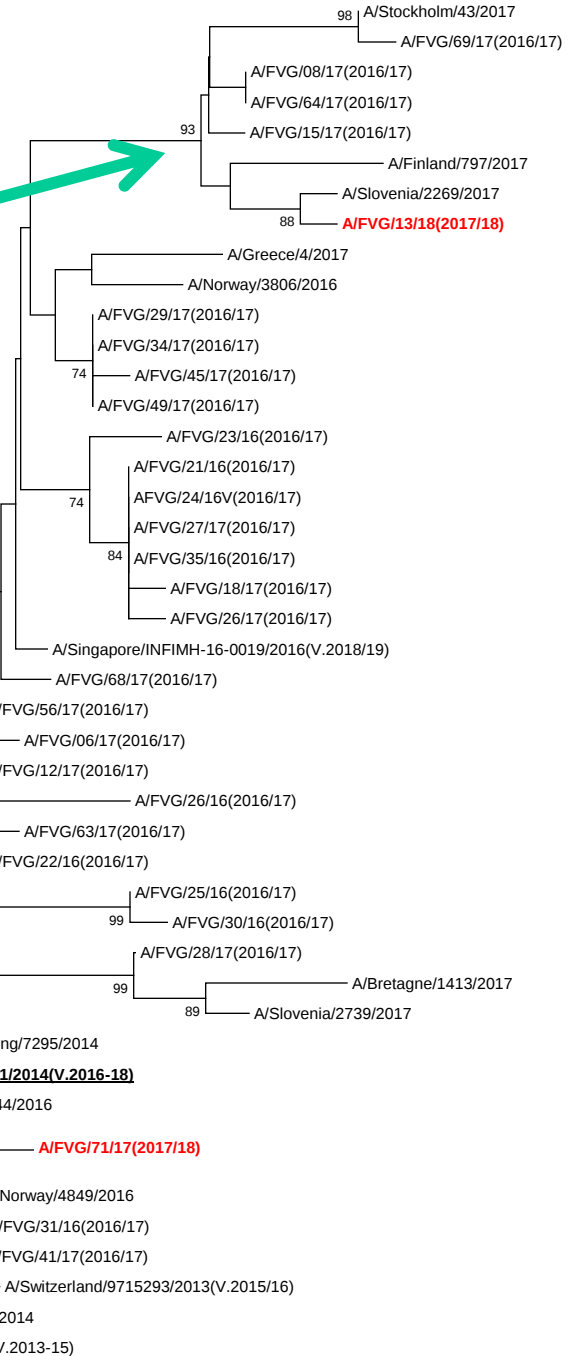
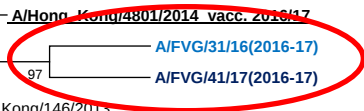
2017/18

Δ 0,7%

Δ 0,6%

Δ 0,5%

Δ 0,8%



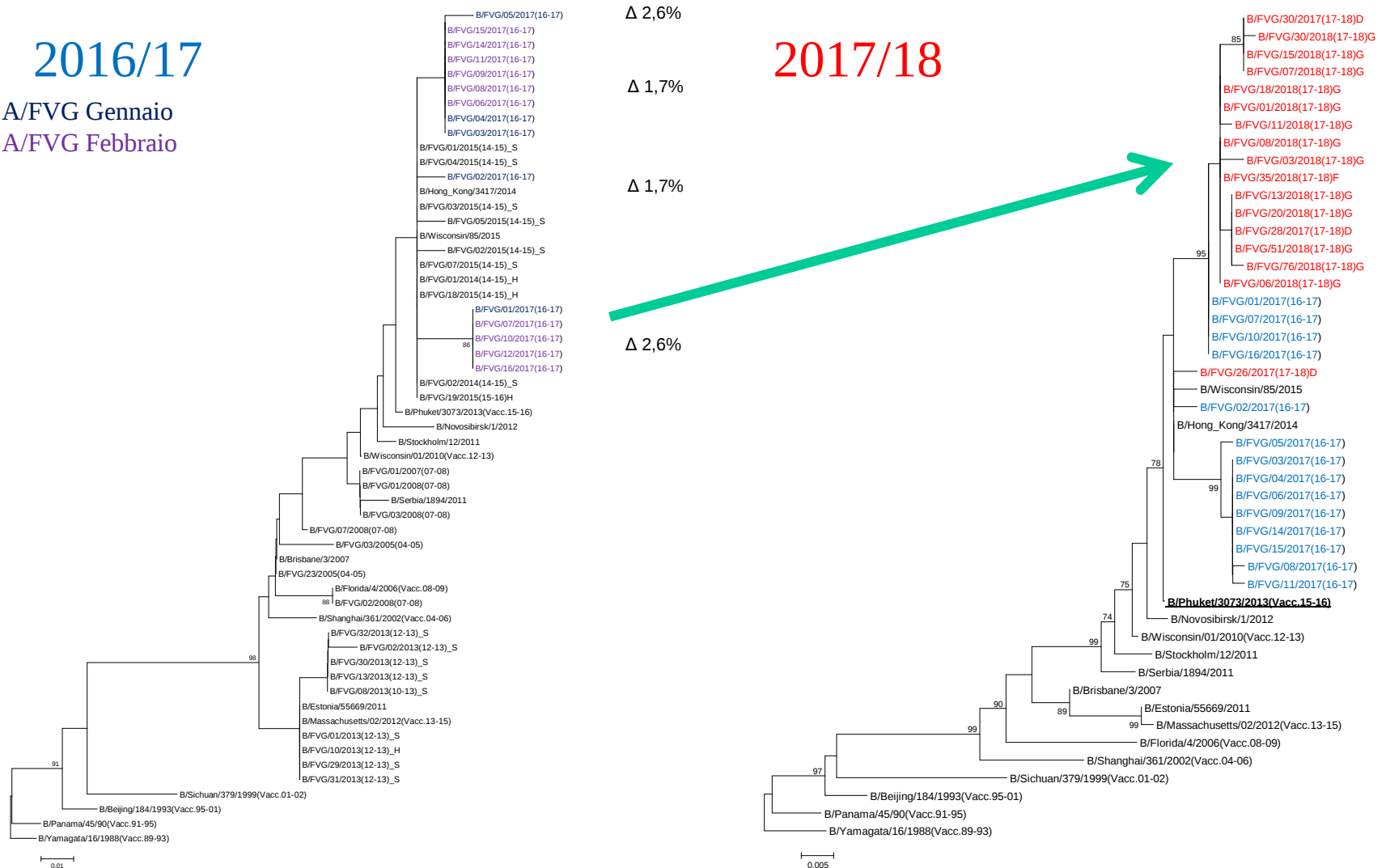
0.002

0.002

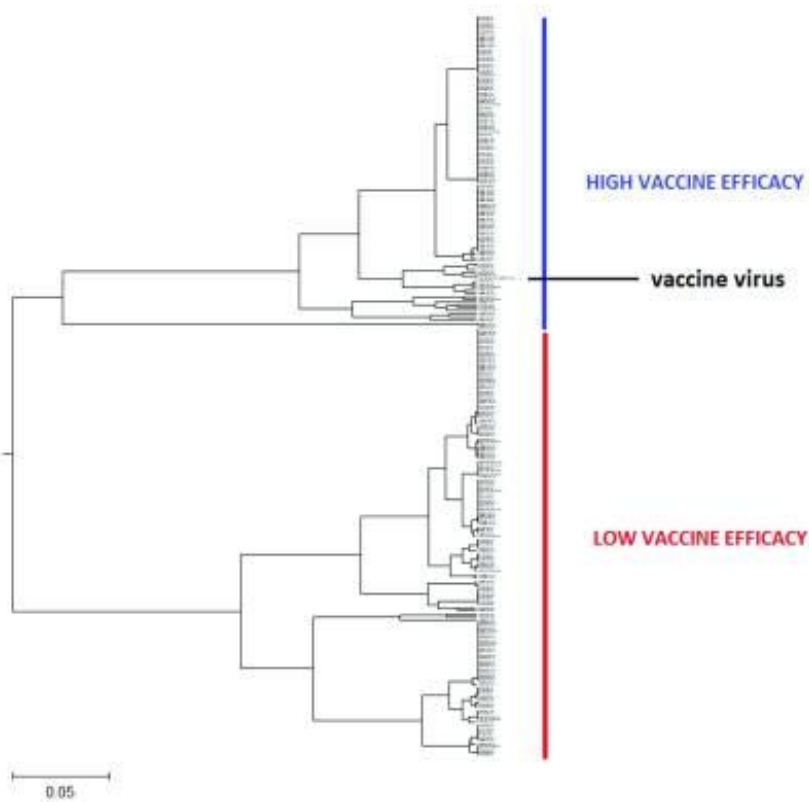
Albero filogenetico dei virus influenzali di tipo B isolati in FVG nelle ultime stagioni

2016/17

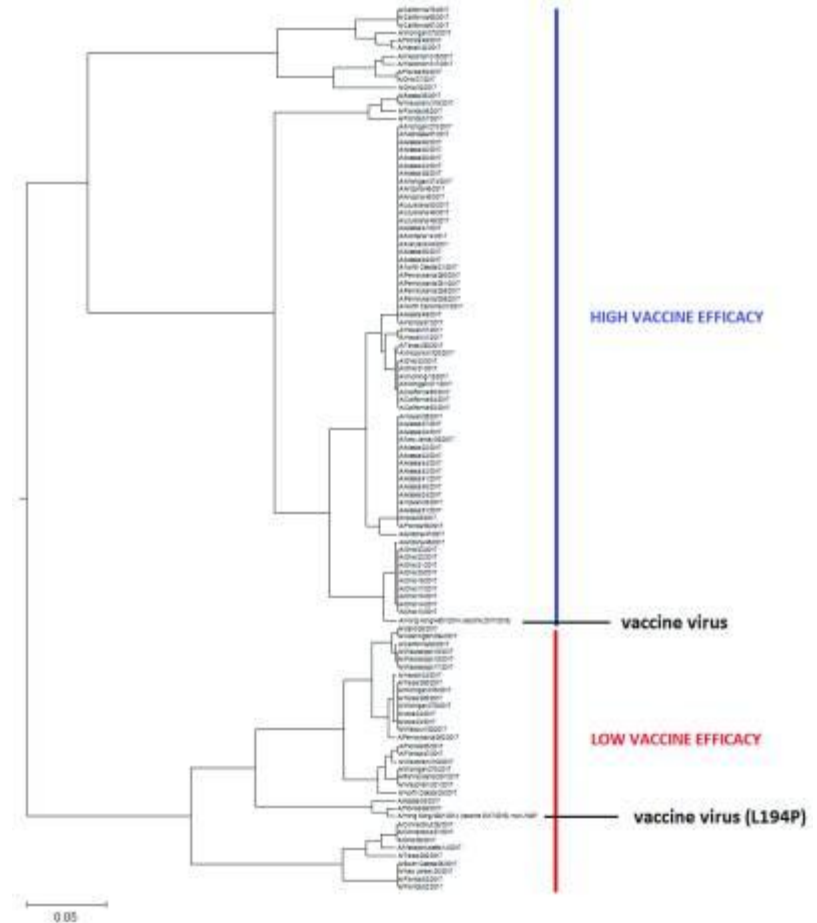
A/FVG Gennaio
A/FVG Febbraio



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%.

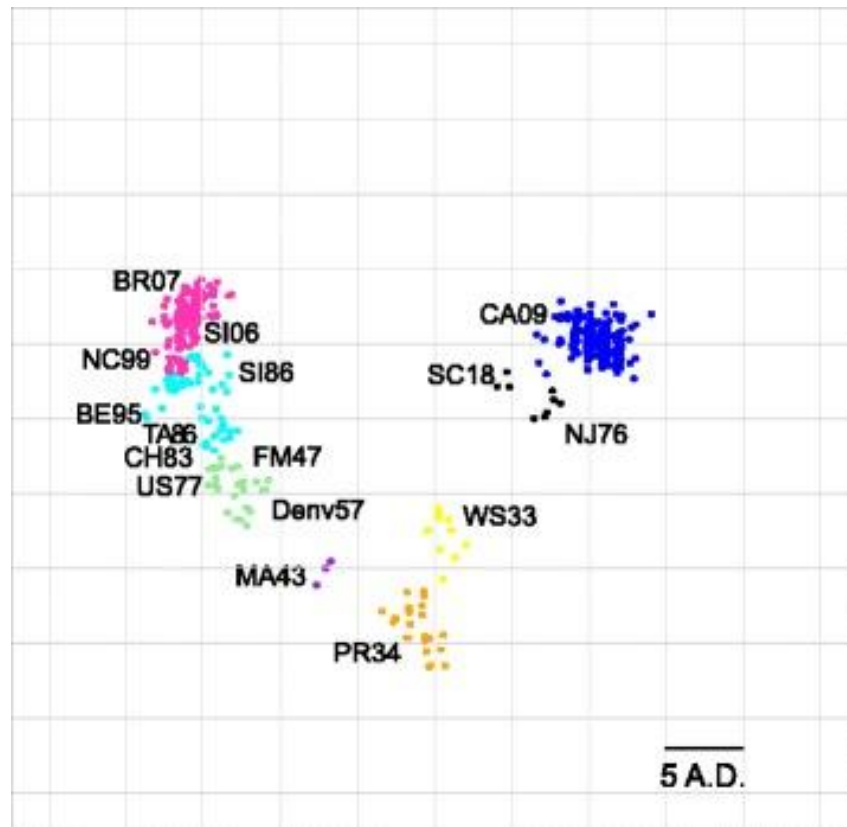


Albero filogenetico basato su ISM di virus H3N2 isolati in USA nel periodo luglio-settembre 2017. (L'efficacia vaccinale nella stagione 2017/18 negli USA è stata stimata nel 36%)

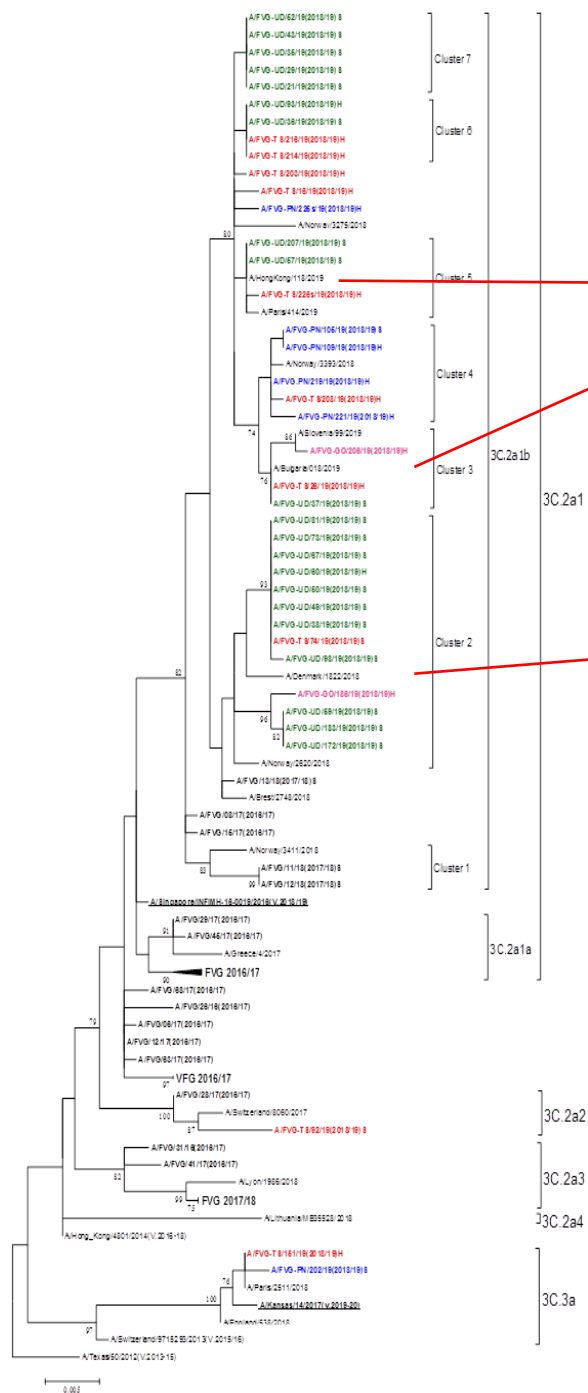


Antigenic cartography of H1N1 influenza viruses using sequence-based antigenic distance calculation

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).



yaccino

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)

Composizione del vaccino per la stagione 2020/21

Egg-based Vaccines

- an A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (H1N1)pdm09-like virus;
- an A/Hong Kong/2671/2019 (H3N2)-like virus;
- a B/Washington/02/2019 (B/Victoria lineage)-like virus; and
- a B/Phuket/3073/2013 (B/Yamagata lineage)-like virus.#

Cell- or recombinant-based Vaccines

- an A/Hawaii/70/2019 (H1N1)pdm09-like virus;
- an A/Hong Kong/45/2019 (H3N2)-like virus;
- a B/Washington/02/2019 (B/Victoria lineage)-like virus; and
- a B/Phuket/3073/2013 (B/Yamagata lineage)-like virus.#

solo nel vaccino quadrivalente

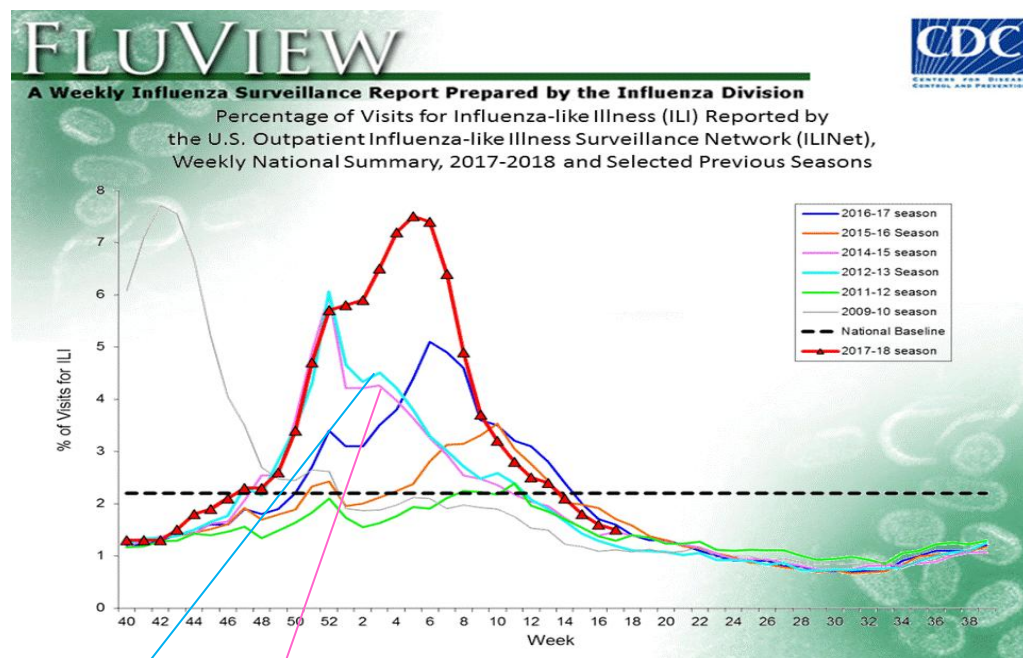
E l'efficacia vaccinale?

Dipende....

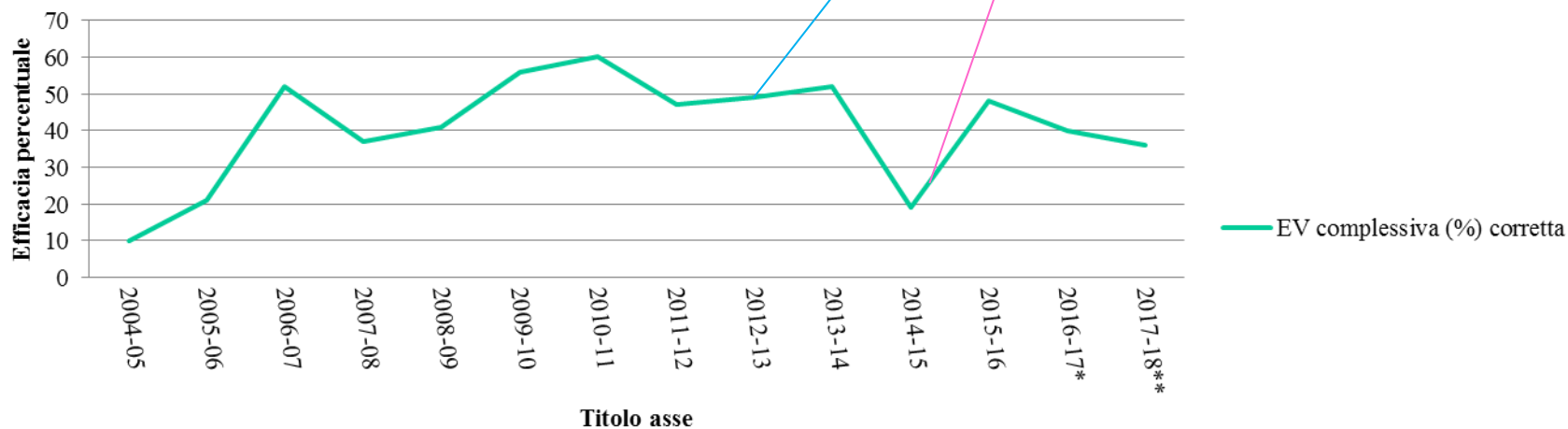
Efficacia della vaccinazione

- 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

Efficacia vaccinale negli USA

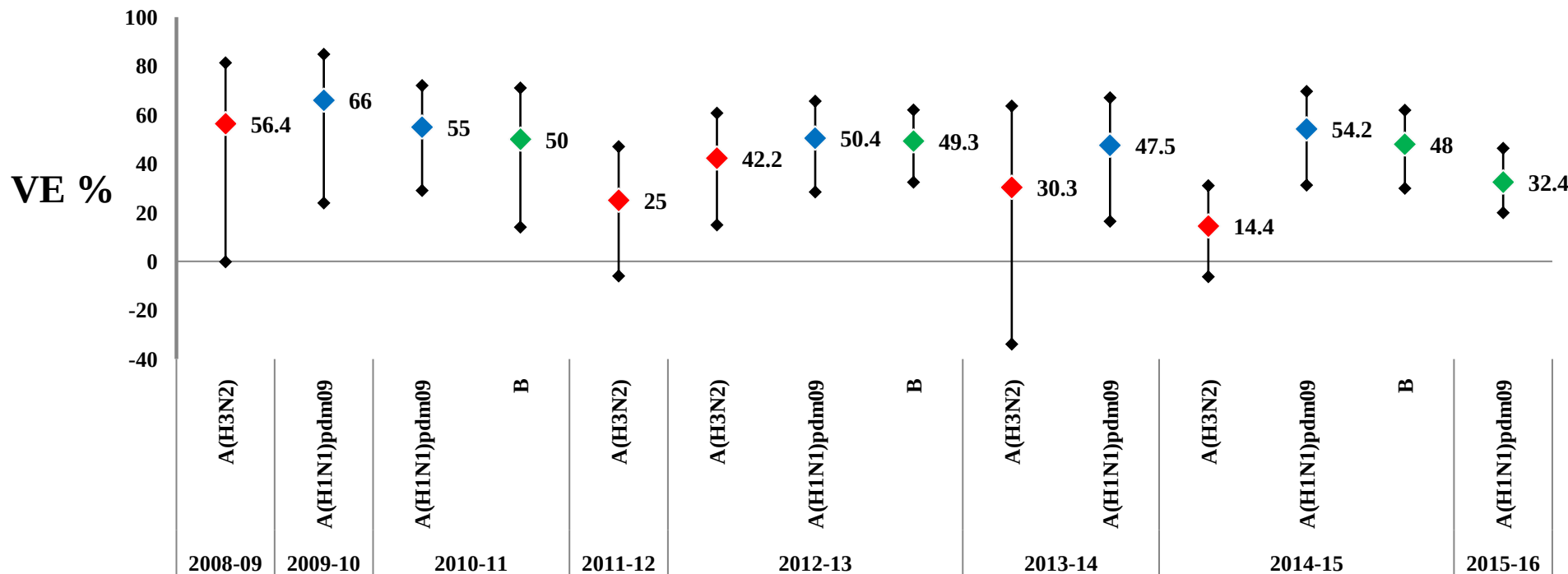


Efficacia Vaccinale complessiva (%) 2004-2018





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	B/YAMAGATA	A/H3N2	Totale
				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

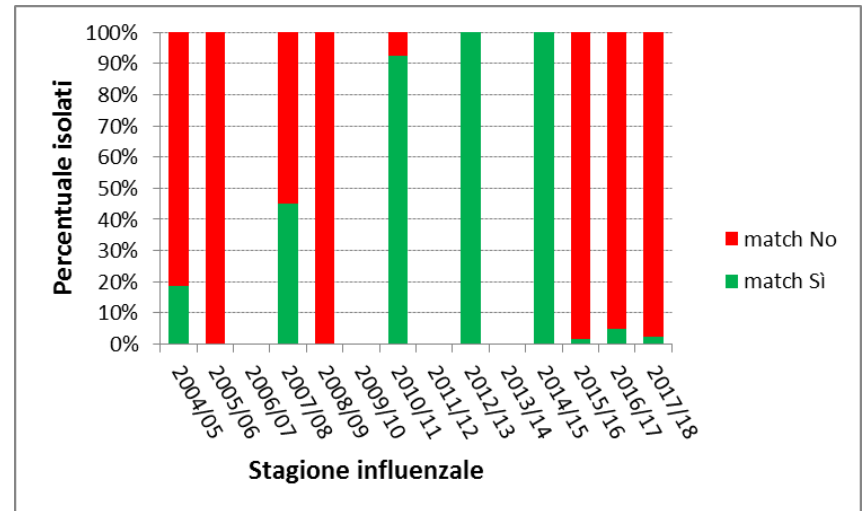
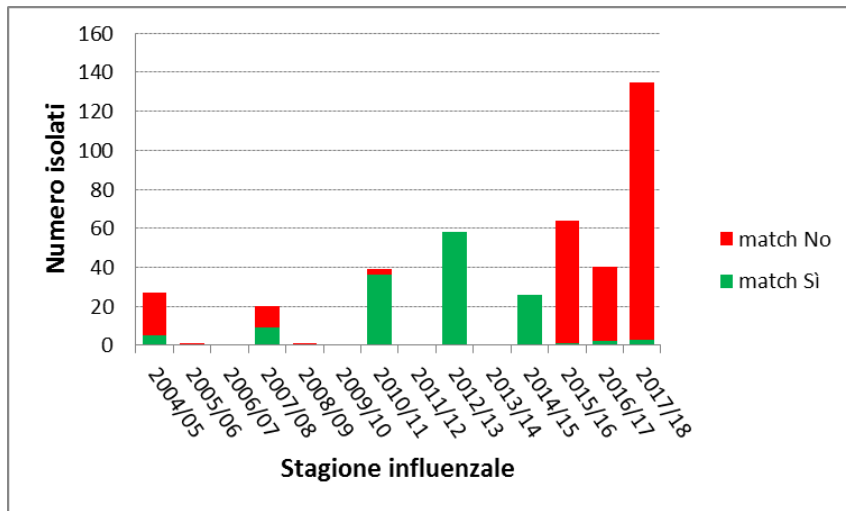
Distribuzione per classe di età dei casi positivi e tipizzati per Influenza nella stagione 2017/18; sorveglianza virologica nel FVG (in parentesi la percentuale sui positivi totali per fascia di età)

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.

Chemiopprofilassi e Terapia:

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

Indicazioni alla chemiopprofilassi

- 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!!***