



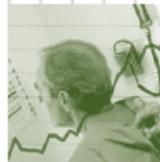
Rapporti

ISTISAN

12/45



CENTRO NAZIONALE OMS PER L'INFLUENZA
Sorveglianza virologica dell'influenza
in Italia (stagione 2011-2012)



ISSN 1123-3117

I. Donatelli, S. Puzelli, A. Di Martino,
A. Palmieri, C. Fabiani, L. Calzoletti,
M. Facchini, M. Meola, D. Spagnolo,
M.A. De Marco, T. Grisetti

www.iss.it

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

CENTRO NAZIONALE OMS PER L'INFLUENZA
Sorveglianza virologica dell'influenza
in Italia (stagione 2011-2012)

Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Angela Di Martino,
Annapina Palmieri, Concetta Fabiani, Laura Calzoletti,
Marzia Facchini, Monica Meola, Domenico Spagnolo,
Maria Alessandra De Marco, Tiziana Grisetti

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN
12/45

Istituto Superiore di Sanità

Centro Nazionale OMS per l'Influenza. Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia (stagione 2011-2012).

Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Angela Di Martino, Annapina Palmieri, Concetta Fabiani, Laura Calzoletti, Marzia Facchini, Monica Meola, Domenico Spagnolo, Maria Alessandra De Marco, Tiziana Grisetti
2012, iii, 33 p. Rapporti ISTISAN 12/45

L'influenza, malattia respiratoria acuta diffusa su scala mondiale, costituisce un serio problema sia in termini di mortalità che di morbilità. La vaccinazione rappresenta ancora oggi l'arma più efficace per combatterla. 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 sei Centri di Riferimento OMS (Atlanta, Londra, Melbourne, Tokyo, Memphis, Pechino), permettono di identificare tempestivamente le varianti virali emergenti e di valutare, dal punto di vista sia antigenico sia molecolare, il grado di variazione acquisita dai virus influenzali circolanti nella popolazione. Nel seguente rapporto sono riassunti i dati della sorveglianza virologica per la stagione influenzale 2011-2012 in Italia.

Parole chiave: Virus influenzale; Vaccinazione, Italia; OMS.

Istituto Superiore di Sanità

WHO National Influenza Centre. Virological influenza surveillance in Italy (2011-2012 season).

Edited by Isabella Donatelli, Simona Puzelli, Angela Di Martino, Annapina Palmieri, Concetta Fabiani, Laura Calzoletti, Marzia Facchini, Monica Meola, Domenico Spagnolo, Maria Alessandra De Marco, Tiziana Grisetti
2012, iii, 33 p. Rapporti ISTISAN 12/45 (in Italian)

Influenza is an acute respiratory illness. It occurs all over the world and causes considerable morbidity and mortality every year. Vaccination is currently the main influenza prevention method. Due to the constantly changing composition of the circulating influenza viruses, 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 six WHO Collaborating Centres for Reference and Research on Influenza (Atlanta, London, Melbourne, Tokyo, Memphis, Beijing). This network helps to monitor influenza activity all over the world, it allows the timely identification of variant emerging in the interpandemic period and provides an antigenic and molecular evaluation of the variability degree of the influenza viruses circulating world-wide. This report is a summary of the surveillance data relative to the 2011-2012 influenza season in Italy.

Key words: Influenza virus; Vaccination; Italy; WHO

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

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

Citare questo documento come segue:

Donatelli I, Puzelli S, Di Martino A, Palmieri A, Fabiani C, Calzoletti L, Facchini M, Meola M, Spagnolo D, De Marco MA, Grisetti T. *Centro Nazionale OMS per l'Influenza. Sorveglianza virologica dell'influenza in Italia (stagione 2011-2012)*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2012. (Rapporti ISTISAN 12/45).

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

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



Rete di sorveglianza virologica dell'influenza INFLUNET

Coordinamento

Centro Nazionale Influenza (*National Influenza Centre, NIC*)

Isabella DONATELLI, Simona PUZELLI, Angela DI MARTINO, Annapina PALMIERI,
Concetta FABIANI, Laura CALZOLETTI, Marzia FACCHINI, Monica MEOLA,
Domenico SPAGNOLO, Maria Alessandra DE MARCO, Tiziana GRISSETTI

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità

Laboratori regionali (sorveglianza sentinella)

Prof. Filippo ANSALDI

Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Genova

Prof.ssa Alberta AZZI

Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica, Università di Firenze

Prof.ssa Patrizia BAGNARELLI

Azienda Ospedaliera Universitaria "Ospedali Riuniti", Ancona

Prof. Fausto BALDANTI

Fondazione IRCCS Policlinico "San Matteo", Pavia

Dott.ssa Maria CHIRONNA

UOC Policlinico di Bari DIMO, Bari

Prof. Pierlanfranco D'AGARO

UCO Igiene e Medicina Preventiva, Università di Trieste

Prof.ssa Antonina DOLEI

Dipartimento di Scienze Biochimiche, Università di Sassari

Prof. Giovanni FADDA

Istituto di Microbiologia, Università Cattolica S. Cuore, Roma

Dott.ssa Valeria GHISSETTI

Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedale "Amedeo di Savoia", Torino

Prof.ssa Anna Maria IORIO

Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica, Università di Perugia

Dott.ssa Clara LARCHER

Laboratorio di Microbiologia e Virologia/Comprensorio Sanitario di Bolzano

Prof. Giorgio PALÚ

Dipartimento di Istologia, Microbiologia e Biotecnologie Mediche, Università di Padova

Prof.ssa Maria Luisa TANZI

Dipartimento di Sanità Pubblica, Università di Parma

Prof. Francesco VITALE

Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Università di Palermo

Prof. Alessandro ZANETTI

Dipartimento di Sanità Pubblica, Università di Milano

Ministero della Salute

Dott. Fabrizio OLEARI

Capo del Dipartimento della Sanità Pubblica e dell'Innovazione (DSPINN)

Dott. Giuseppe RUOCCO

Direttore Generale della Direzione Generale della Prevenzione (DGPRE)

Dott.ssa Maria Grazia POMPA, Dott.ssa Anna CARAGLIA

Ufficio V - Malattie Infettive e Profilassi Internazionale, D. G. Prevenzione

INDICE

Introduzione	1
Dati del Centro Nazionale Influenza	3
Sorveglianza virologica.....	3
Organizzazione e strutture coinvolte	3
Metodi impiegati nella diagnosi virologica	3
Analisi di sequenziamento nucleotidico e filogenesi.....	4
Metodo impiegato per lo studio della sensibilità degli isolati virali agli inibitori della neuraminidasi.....	4
Risultati delle indagini virologiche in Italia	5
Caratterizzazione sierologica e molecolare degli isolati virali	8
Sottotipo A/H3N2.....	8
Tipo B.....	12
Farmaco-resistenza dei virus influenzali	14
Circolazione dei virus influenzali in Europa e nel mondo	16
Isolamenti virali in Europa	16
Isolamenti virali nel mondo.....	18
Sottotipo A/H1N1pdm2009.....	18
Sottotipo A/H3N2.....	18
Tipo B.....	20
Raccomandazioni dell'OMS per la vaccinazione antinfluenzale 2012-2013	21
Composizione del vaccino per la stagione 2012-2013	21
Bibliografia	22
Appendice	
Protocollo operativo (stagione 2011-2012) del sistema di sorveglianza INFLUNET: estratto della parte virologica	25

INTRODUZIONE

L'influenza, malattia respiratoria acuta altamente contagiosa causata da virus appartenenti alla famiglia degli *Orthomyxoviridae*, rappresenta ancora oggi una delle infezioni più diffuse su scala mondiale.

L'infezione da virus influenzale si trasmette per via inalatoria, attraverso le secrezioni respiratorie e gli oggetti contaminati dalle stesse. Si presenta principalmente con febbre $>38^{\circ}\text{C}$ e sintomi a carico delle prime vie aeree (tosse, mal di gola, congestione nasale), accompagnati da dolori ossei e muscolari, astenia, cefalea.

L'infezione interessa inizialmente le cellule del tratto respiratorio (faringe, laringe, trachea, bronchi), dove il virus si riproduce in 4-6 ore. Durante il successivo periodo di "incubazione", che può essere compreso tra 18 e 72 ore, il virus si diffonde più o meno ampiamente, in relazione alla carica virale infettante e alla capacità di difesa dell'organismo (reazioni anticorpali del sistema immunitario).

All'influenza sono associate serie complicanze, qualora si verifichino superinfezioni batteriche. Essa, inoltre, è responsabile di un eccesso di mortalità nelle categorie di soggetti maggiormente a rischio, come ad esempio negli anziani o nei soggetti in cui erano già preesistenti condizioni patologiche predisponenti.

Le epidemie influenzali si manifestano ogni anno, con andamento tipicamente stagionale nelle zone temperate dell'emisfero Nord, presentando in genere un periodo di "picco" dell'attività influenzale di 6-8 settimane tra i mesi di dicembre e marzo. Il susseguirsi degli eventi epidemici è dovuto all'elevata variabilità genetica di questo virus, che ha la capacità di mutare continuamente le caratteristiche antigeniche delle sue proteine di superficie (*drift* antigenico), vanificando l'immunità acquisita sia da pregresse infezioni naturali sia da copertura vaccinale.

La gravità delle epidemie può variare ampiamente di anno in anno, essendo influenzata da diversi fattori, quali ad esempio il tipo, il sottotipo e gli specifici ceppi virali circolanti, nonché dai livelli anticorpali presenti nella popolazione.

Oltre a queste variazioni pressoché annuali, i virus influenzali possono subire occasionalmente variazioni drastiche e improvvise dovute a sostituzione di una o entrambe le proteine di superficie (*shift* antigenico). Questo fenomeno porta all'emergenza di nuovi sottotipi antigenici che, non incontrando alcuna resistenza immunitaria nella popolazione, sono in grado di provocare pandemie (1). Durante il corso del XX secolo si sono verificate 3 pandemie (2), rispettivamente nel 1918-1919 (la "Spagnola" causata da un ceppo A/H1N1), nel 1957-1958 (l'"Asiatica" causata da un ceppo A/H2N2) e nel 1968-1969 (la "Hong Kong" causata da un ceppo A/H3N2). Il XXI secolo è stato invece caratterizzato, finora, dalla pandemia del 2009 (3), causata da un virus di origine suina (A/H1N1pdm09) diffusosi rapidamente nel mondo grazie anche alla elevata mobilità intercontinentale, tipica della società di oggi.

Essendo l'influenza una malattia di origine virale, l'uso degli antibiotici risulta inefficace nel combatterla ma tali farmaci sono, tuttavia, necessari in caso di complicazioni batteriche. Attualmente sono disponibili farmaci antivirali che, se assunti tempestivamente, bloccano la diffusione del virus da una cellula all'altra dell'organismo e attenuano i sintomi rendendo più breve il decorso della malattia (4-13).

Vaccinarsi resta in ogni caso il modo migliore, in termini di costo-efficacia e costo-beneficio, per prevenire e combattere il virus. Sia perché aumentano così le probabilità di non contrarre la malattia sia perché, in caso di sviluppo di sintomi influenzali, questi sono molto meno gravi e, generalmente, non seguiti da ulteriori complicanze. La vaccinazione è

particolarmente raccomandata nei soggetti di ogni età con malattie respiratorie, cardiache o metaboliche e negli anziani con più di 65 anni (14).

L'aggiornamento annuale della composizione vaccinale antinfluenzale costituisce lo scopo principale del Programma Mondiale di Sorveglianza dell'Influenza coordinato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), attraverso i suoi 6 Centri internazionali di riferimento (Atlanta, Pechino, Londra, Melbourne, Memphis, Tokyo) che collaborano con 140 Centri Nazionali che costituiscono la rete del sistema di sorveglianza dell'influenza. L'OMS ha, infatti, predisposto, fin dal 1948, questa rete di Centri di osservazione e di rilevamento per l'influenza, il cui obiettivo principale è identificare precocemente le nuove varianti virali circolanti al fine di intraprendere misure appropriate e tempestive in risposta ad epidemie influenzali di una certa entità.

A Ginevra, ogni anno, nel mese di febbraio, si svolge un incontro internazionale organizzato dall'OMS, nel quale viene fissata, sulla base delle informazioni epidemiologiche, virologiche e sierologiche raccolte dai Centri Nazionali, la composizione del vaccino antinfluenzale.

In Italia, la rete di sorveglianza virologica ed epidemiologica, è costituita dal Ministero della Salute, dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) con il Centro Nazionale Influenza (*National Influenza Centre*, NIC), dai medici di base e dai pediatri di libera scelta. Principale obiettivo è quello di fornire dati utili a ridurre l'incidenza dell'influenza, a monitorare l'andamento dell'epidemia e a verificare l'efficacia della campagna vaccinale.

Specifiche campagne di vaccinazione per l'immunoprofilassi vaccinale vengono promosse annualmente dal Ministero della Salute e dall'ISS.

DATI DEL CENTRO NAZIONALE INFLUENZA

In questa sezione sono riassunti i dati relativi al monitoraggio della circolazione dei virus influenzali in Italia durante il periodo compreso tra la 46^a settimana del 2011 (14-20 novembre) e la 17^a settimana del 2012 (23-29 aprile). Questa attività viene svolta nell'ambito del sistema integrato di sorveglianza virologica e clinico-epidemiologica, attivo in Italia dal 1997. In Appendice viene fornito l'estratto del Protocollo operativo riguardante la parte virologica del sistema di sorveglianza sentinella dell'influenza basata su medici di medicina generale e pediatri di libera scelta.

Sorveglianza virologica

Organizzazione e strutture coinvolte

Anche nel periodo 2011-2012 il programma di sorveglianza virologica dell'influenza in Italia si è avvalso della collaborazione di alcuni Laboratori periferici sia universitari che ospedalieri (Rete INFLUNET). La rete che collabora con l'ISS e partecipa alla sorveglianza virologica dell'influenza è così composta:

1. AS Alto Adige, Laboratorio di Microbiologia e Virologia/Comprensorio sanitario di Bolzano;
2. Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedale Amedeo di Savoia, Torino;
3. Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute;
4. Virologia molecolare, Struttura complessa virologia/ microbiologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia;
5. Università degli Studi di Padova, Laboratorio di Virologia, Dipartimento di Medicina Molecolare;
6. Università degli Studi di Trieste, Dipartimento Universitario Clinico di Scienze mediche, chirurgiche e della salute;
7. Università degli Studi di Genova, Dipartimento di Scienze della Salute;
8. Università degli Studi di Parma, Dipartimento di Sanità Pubblica;
9. Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Sanità Pubblica, Laboratorio di Virologia;
10. Università degli Studi di Perugia, Dipartimento di Specialità Medico-Chirurgiche e Sanità Pubblica;
11. Università Cattolica "S. Cuore", Roma: Istituto di Microbiologia;
12. UOC policlinico di Bari, Dipartimento di Scienze Biomediche ed Oncologia Umana;
13. Università degli Studi di Sassari: Dipartimento di Scienze Biomediche, Sez. Microbiologia Sperimentale e Clinica;
14. Università degli Studi di Palermo: Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Sezione di Igiene.

Metodi impiegati nella diagnosi virologica

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

La raccolta dei tamponi faringei è stata eseguita utilizzando un apposito kit diagnostico.

La presenza del virus influenzale nei campioni biologici è stata evidenziata attraverso l'isolamento virale e/o l'identificazione di componenti virali.

Per l'isolamento del virus sono state utilizzate colture cellulari di rene di cane (*Madin-Darby Canine Kidney Cells*, MDCK) (15-17), particolarmente sensibili alla crescita del virus influenzale, e uova embrionate di pollo (18-19), sistema essenziale per avere a disposizione virus vivo per la preparazione del vaccino.

La presenza di virus è stata evidenziata mediante la ricerca di attività emagglutinante nel liquido colturale soprannatante o nel liquido allantoideo delle uova embrionate.

Per la tipizzazione e/o sottotipizzazione dell'agente emagglutinante isolato sono stati utilizzati metodi di identificazione sierologica, come il test di inibizione dell'emagglutinazione (*Haemagglutination Inhibition*, HI) (20-22), utilizzando antisieri policlonali prodotti in pollo e/o furetto presso l'ISS, qui di seguito elencati:

- antisiero A/Perth/16/09;
- antisiero A/California/07/09;
- antisiero B/Brisbane/60/08, B/Florida/4/06.

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

- *Real Time RT-PCR* “one-step”;
- *RT-PCR* (reazioni polimerasiche a catena di tipo “multiplex”, precedute da trascrizione inversa) (23-31).

La RT-PCR è stata condotta mediante l'utilizzo di coppie di *primer* dirette verso regioni altamente conservate delle proteine virali interne tipo-specifiche (es. NP dei virus influenzali) e di superficie sottotipo-specifiche (es. HA dei virus influenzali), permettendo in tal modo, oltre alla diagnosi di influenza, anche la tipizzazione e/o sottotipizzazione del virus identificato.

Analisi di sequenziamento nucleotidico e filogenesi

Gli amplificati ottenuti mediante la reazione di RT-PCR sono stati purificati e utilizzati nella successiva fase di sequenziamento in cui si è fatto uso del kit “Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing” (Applied Biosystems). I prodotti di sequenziamento sono stati infine sottoposti ad analisi con lo strumento “3500 Genetic Analyzer” (Applied Biosystems).

Le analisi e l'allineamento delle sequenze sono stati eseguiti mediante il programma BIOEDIT 7.0.3. (32-33). Le analisi filogenetiche relative al dominio HA1 della HA sono state effettuate utilizzando il pacchetto software MEGA 5 e confrontando le sequenze dei virus isolati con quelle già presenti nelle banche dati specifiche (GenBank). La costruzione degli alberi filogenetici è stata effettuata con il metodo Kimura-2 e con l'algoritmo Neighbor-Joining (34-37).

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

La sensibilità degli isolati virali agli Inibitori della Neuraminidasi (IN), oseltamivir e zanamivir, è stata testata mediante:

- Saggio enzimatico di inibizione della neuraminidasi, utilizzando come substrato il MUNANA;
- Analisi di sequenza della neuraminidasi, per evidenziare l'eventuale presenza di cambiamenti aminoacidici associati al carattere di resistenza.

Risultati delle indagini virologiche in Italia

Il monitoraggio virologico è stato eseguito nel periodo compreso tra la 46^a settimana del 2011 e la 17^a settimana del 2012. Complessivamente sono stati analizzati 4.677 campioni, di cui 1.671 sono risultati positivi (Tabella 1).

Tabella 1. Virus influenzali isolati e/o identificati in Italia nel periodo compreso tra la 46^a settimana del 2011 e la 17^a del 2012 su un totale di 4.677 campioni clinici raccolti (dati aggiornati al 2 maggio 2012)

Tipizzati	Non sottotipizzati	Sottotipizzati	Varianti antigeniche prevalenti
A 1.613 (96,5%)	117(7,3%)	H3N2 1.492 (92,5%) H1N1pdm09 4 (0,2%)	A/Victoria/361/2011 A/California/7/2009
B 58 (3,5%)			B/Wisconsin/1/2010 (B/Yamagata/16/88-like)

Il 35,7% dei campioni clinici raccolti e analizzati, sono risultati positivi per influenza. Il periodo di massima raccolta dei campioni è stato registrato tra la 4^a e la 7^a settimana 2012. La stagione è stata contraddistinta dalla quasi esclusiva circolazione di virus influenzali A/H3N2. In particolare, il 92,5% dei virus isolati e/o identificati nell'ambito del tipo A è risultato appartenere al sottotipo H3N2, mentre i ceppi H1N1pdm09 hanno rappresentato solo lo 0,2% del totale. Per il restante 7,3% dei ceppi di tipo A, il dato di sottotipizzazione non è disponibile.

Limitata è stata, invece, la circolazione dei ceppi di tipo B, che hanno rappresentato solo il 3,5% dei virus isolati e/o identificati sull'intero territorio nazionale.

Nelle Figure 1 e 2 sono riportati il numero di campioni analizzati e i virus risultati positivi alle indagini di laboratorio a partire da novembre 2011 e fino ad aprile 2012.

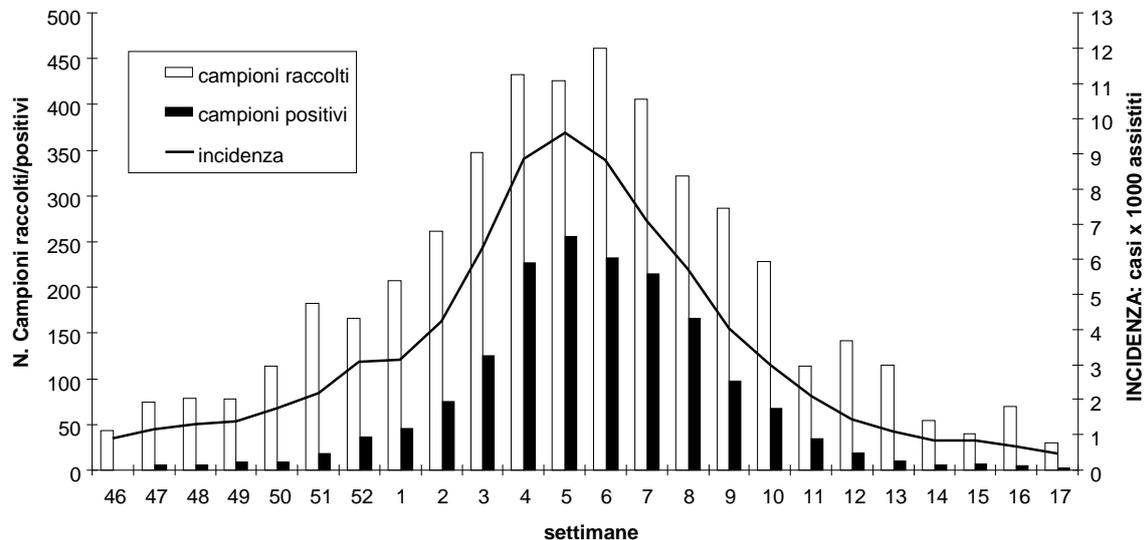


Figura 1. Andamento settimanale dei campioni clinici raccolti, dei campioni positivi e dell'incidenza della sindrome influenzale nella stagione 2011-2012

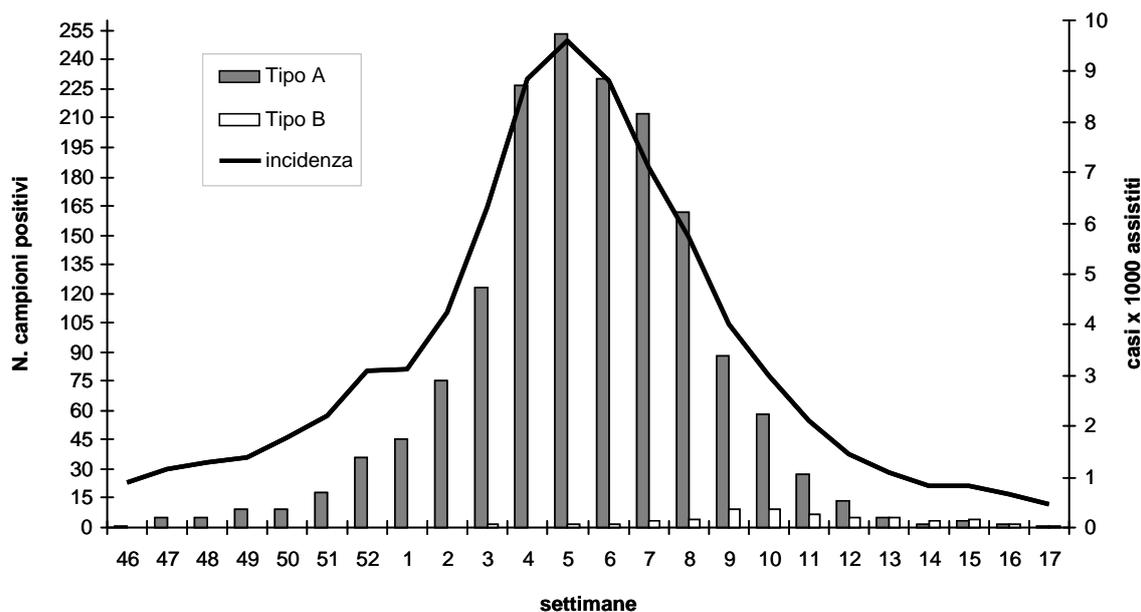


Figura 2. Andamento settimanale dei campioni positivi nella stagione 2011-2012

La distribuzione settimanale dei campioni positivi durante la stagione influenzale 2011-2012 e la distribuzione geografica dei virus identificati vengono mostrate, rispettivamente, nelle Figure 3 e 4.

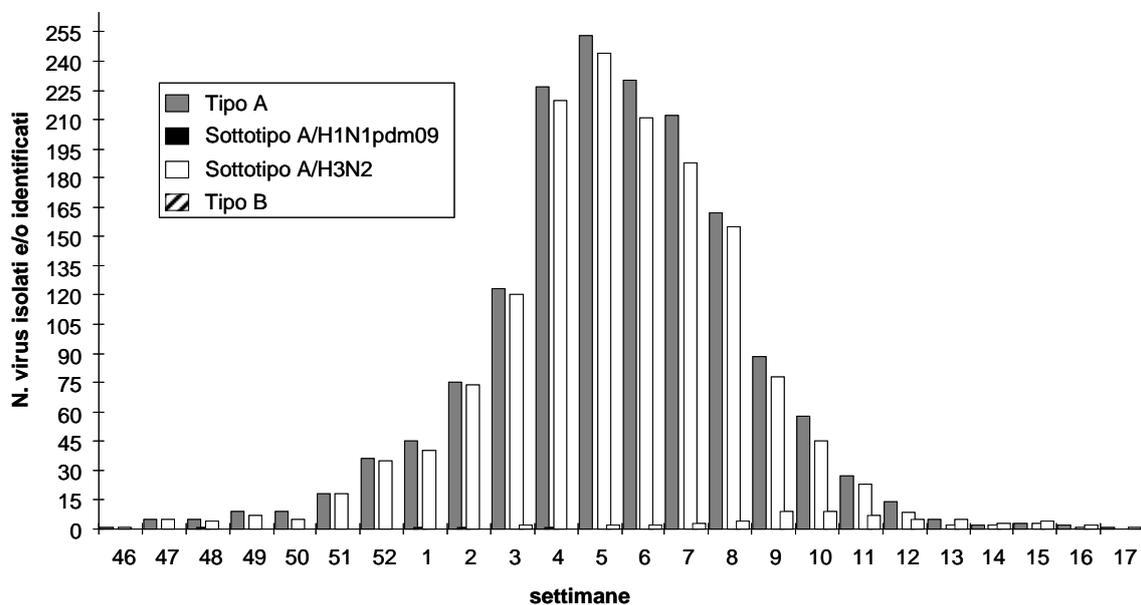


Figura 3. Distribuzione settimanale dei campioni positivi durante la stagione influenzale 2011-2012 (dati aggiornati alla 17ª settimana di sorveglianza)

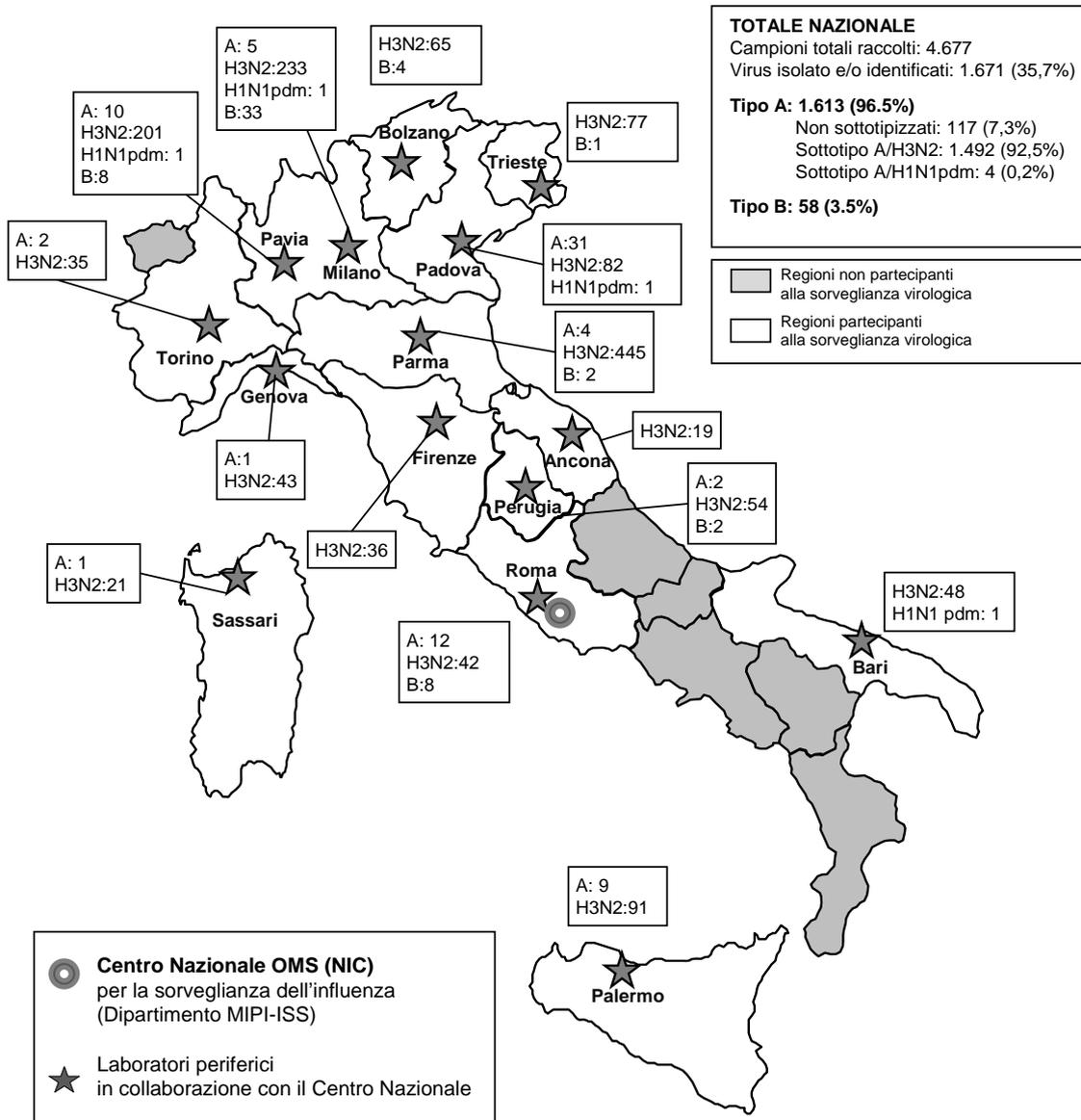


Figura 4. Distribuzione geografica dei ceppi virali identificati sull'intero territorio nazionale (dati aggiornati alla 17^a settimana di sorveglianza)

Gruppi di età

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

La Figura 6 riporta il numero assoluto dei campioni positivi per classi di età. Prevalentemente colpiti sono risultati i soggetti di età compresa tra 0 e 4 anni e tra 5 e 44 anni, mentre nei campioni provenienti da pazienti appartenenti alle classi di età 45-64 e in pazienti con più di 64 anni è stata registrata una bassa positività.

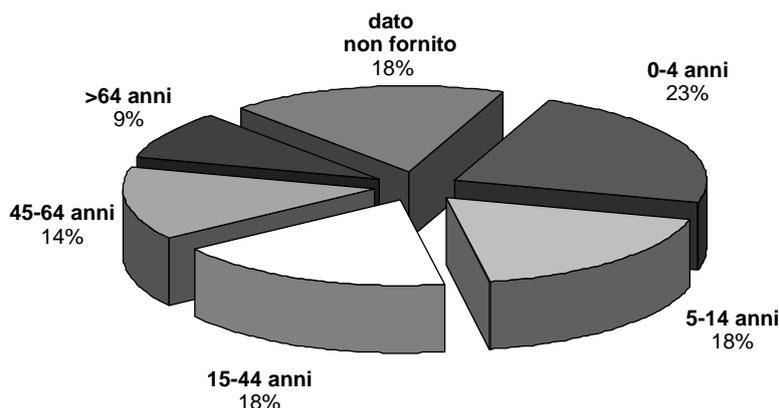


Figura 5. Distribuzione per classi di età dei soggetti positivi alla diagnosi di laboratorio

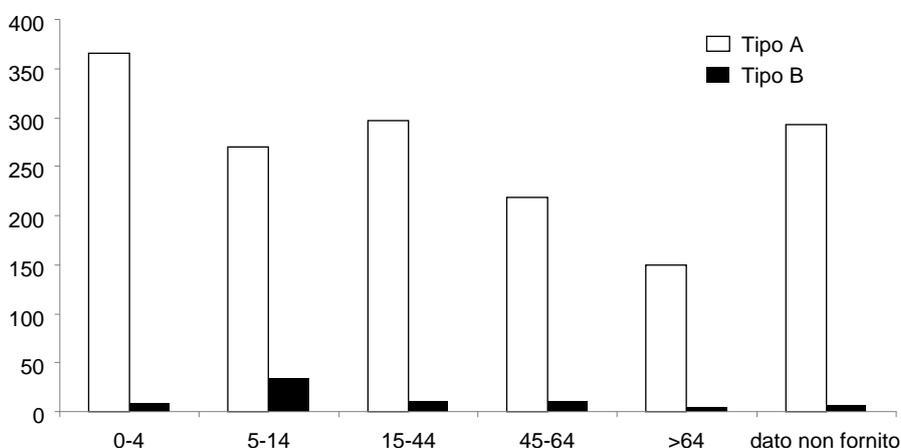


Figura 6. Numero di campioni positivi per classi di età

Caratterizzazione sierologica e molecolare degli isolati virali

Si riportano di seguito i risultati delle analisi sierologiche, eseguite mediante test HI presso il Centro OMS di Riferimento di Londra, su alcuni ceppi virali isolati in Italia durante la stagione 2011-2012.

Sottotipo A/H3N2

L'analisi antigenica dei virus appartenenti al sottotipo H3N2 è stata eseguita, mediante un test HI effettuato con emazie di cavia in presenza di Oseltamivir, metodica introdotta di recente a causa delle difficoltà riscontrate nella caratterizzazione sierologica di questi virus con le emazie di diverse specie animali (38).

Dalle analisi effettuate sui virus isolati nella prima parte della stagione (Tabella 2a) è emersa una ridotta reattività antigenica di questi verso il siero di furetto prodotto contro il ceppo vaccinale A/Perth/16/2009 e una maggiore correlazione verso varianti più recenti, quali ad esempio A/Alabama/5/2010, A/Hong Kong/3969/2011 e A/Stockholm/18/2011.

Tabella 2a. A/H3N2: caratterizzazione antigenica (test HI) di virus influenzali isolati in Italia

Virus	Antiseri prodotti in furetto								
	A/Bris 10/07	A/Perth 16/09	A/Vic 208/09	A/Vic 210/09	A/Ala 5/10	A/Perth 10/10	A/HK 3969/11	A/Stoc 18/11	A/Iowa 19/10
Data analisi: 01/02/2012									
A/Brisbane/10/2007 ^a	5120	40	40	40	40	80	160	<	40
A/Perth/16/2009 ^b	<	1280	40	160	160	160	640	160	160
A/Victoria/208/2009	320	1280	2560	2560	1280	5120	2560	2560	5120
A/Victoria/210/2009	320	2560	1280	2560	320	1280	1280	640	1280
A/Alabama/5/2010	<	80	40	40	160	80	640	160	160
A/Perth/10/2010	160	640	2560	2560	1280	2560	2560	1280	2560
A/HongKong/3969/2011	80	160	160	160	320	320	1280	640	320
A/Stockholm/18/2011	<	80	80	40	80	160	320	320	80
A/Iowa/19/2010	80	640	2560	2560	2560	5120	2560	2560	5120
A/Parma/171/2011	<	40	40	<	40	80	160	160	80
A/Firenze/1/2011	<	40	40	80	160	160	160	320	160
A/Milano/260/2011	<	40	40	80	80	160	320	320	160
A/Trieste/58/2011	<	80	160	80	160	320	320	320	160
A/Milano/256/2011	<	80	160	80	160	160	320	320	160
A/Parma/169/2011	<	160	160	80	160	320	320	640	320
A/Milano/258/2011	<	80	80	80	160	160	320	320	160
A/Trieste/59/2011	<	40	80	80	80	160	320	160	160
A/Milano/265/2011	<	80	80	80	80	160	320	320	160
A/Parma/170/2011	40	160	160	160	320	320	640	640	320
A/Firenze/3/2011	40	320	320	320	640	640	640	320	640
A/Milano/268/2011	<	80	80	80	80	160	320	320	160
A/Parma/172/2011	40	160	320	160	320	640	640	1280	320
A/Parma/175/2011	40	320	320	320	320	640	1280	1280	640
A/Trieste/62/2011	<	160	160	80	160	320	320	640	320
A/Parma/177/2011	40	160	320	160	320	320	640	1280	160
A/Trieste/63/2011	<	160	80	80	160	160	320	640	320
A/Parma/173/2011	40	160	160	160	320	640	640	1280	320
A/Parma/174/2011	<	80	80	80	80	160	320	320	160
A/Parma/176/2011	40	320	320	320	320	320	640	1280	640
A/Parma/01/2012	<	<	<	<	40	80	160	80	40
A/Trieste/60/2011	40	40	40	160	160	80	160	160	160
A/Parma/168/2011	40	160	160	160	160	320	1280	640	320

^a A/Brisbane/10/2007 (ceppo vaccinale 2008-2009;2009-2010)

^b A/Perth/16/2009 (ceppo vaccinale 2010-2011, 2011-2012)

< : <40

Le difficoltà riscontrate sia nell'isolamento che nella caratterizzazione antigenica dei virus di sottotipo H3N2, isolati nel corso delle ultime stagioni influenzali, sono principalmente da ricondurre alla diminuita capacità di questi virus di agglutinare le emazie di diverse specie animali, utilizzate nei test di emagglutinazione (test HA) e di inibizione dell'emagglutinazione (test HI). Sebbene i Centri di Riferimento dell'OMS raccomandino l'impiego di emazie di cavia e umane di gruppo 0, tradizionalmente ritenute più sensibili rispetto a quelle aviarie, anche queste hanno recentemente mostrato una riduzione di efficienza. Per tali motivi, i risultati delle

caratterizzazioni con il test HI non sono stati di facile interpretazione e, di conseguenza, non è stato sempre possibile attribuire uno specifico sottogruppo antigenico ad ogni virus H3N2 isolato nella stagione 2011-2012.

In aggiunta a tali difficoltà, l'interpretazione dei saggi HI viene fortemente condizionata anche dagli specifici antisieri di referenza impiegati. In particolare, antisieri ottenuti immunizzando i furetti con virus cresciuto in uova embrionate di pollo possono dare risultati diversi rispetto a quelli ottenuti con virus propagati in colture cellulari. Come si può osservare anche dalla Tabella 2b, in cui vengono mostrati i risultati delle analisi effettuate su un ulteriore gruppo di isolati virali H3N2, la maggior parte dei virus testati ha mostrato una ridotta reattività antigenica verso i sieri di furetto ottenuti con ceppi di riferimento o vaccinali propagati in uovo, come l'A/Perth/16/2009 e l'A/Victoria/361/2011 (virus raccomandati rispettivamente nelle stagioni influenzali 2011-12 e 2012-13 per l'emisfero nord). Titoli più elevati sono stati ottenuti verso i sieri di furetto prodotti con virus propagati in colture cellulari.

Tabella 2b. A/H3N2: caratterizzazione antigenica (test HI) di virus influenzali isolati in Italia

Virus	Antisieri prodotti in furetto						
	A/Perth 16/09	A/Stoc 18/11	A/Iowa 19/10	A/Vic 361/11*	A/Ber 93/11†	A/Vic 361/11†	A/Ath 112/12
Data analisi: 03/07/2012							
A/Perth/16/2009 ^a	1280	320	320	160	640	640	640
A/Stockholm/18/2011	<	320	80	160	640	160	640
A/Iowa/19/2010	320	1280	1280	1280	2560	1280	1280
A/Victoria/361/2011 ^b	320	160	1280	5120	1280	320	320
A/Berlin/93/2011	160	640	640	640	1280	1280	1280
A/Victoria/361/2011 ^b	160	640	640	640	1280	1280	1280
A/Athens/112/2012	160	320	320	320	1280	640	1280
A/Torino/03/2012	80	320	320	160	640	640	640
A/Torino/05/2012	40	160	160	80	640	320	320
A/Perugia/21/2012	40	320	320	160	640	640	640
A/Parma/09/2012	<	80	80	40	160	160	320
A/Parma/87/2012	40	640	160	160	640	320	640
A/Parma/139/2012	160	640	640	320	1280	640	1280
A/Milano/20/2012	80	320	640	320	640	640	1280
A/Milano/44/2012	80	320	320	160	640	640	640
A/Milano/136/2012	40	320	160	160	640	320	640
A/Perugia/44/2012	40	320	80	160	320	320	320
A/Milano/57/2012	40	320	320	160	320	640	320
A/Pavia/14/2012	40	320	160	160	640	320	640
A/Pavia/42/2012	40	320	320	160	640	320	640
A/Pavia/128/2012	80	320	160	160	640	640	640
A/Pavia/158/2012	80	640	320	320	640	320	640

^a A/Perth/16/2009 (ceppo vaccinale 2010-2011, 2011-2012)

^b A/Victoria/361/2011 (ceppo vaccinale 2012-2013)

< : <40

* siero di furetto ottenuto con ceppi virali propagati *in uovo*

† siero di furetto ottenuto con ceppi virali propagati *in colture cellulari*

Al fine di approfondire ulteriormente l'analisi delle caratteristiche dei virus A/H3N2 circolanti in Italia, è stato effettuato, presso il nostro laboratorio, il sequenziamento del dominio HA1 dell'HA. Dalla successiva analisi filogenetica (Figura 7) si rileva come i recenti isolati italiani vengano inclusi maggiormente nel gruppo genetico del ceppo A/Victoria/208/2009, rispetto al ceppo A/Perth/16/2009, riportando le sostituzioni aminoacidiche K62E, K144N, T212A.

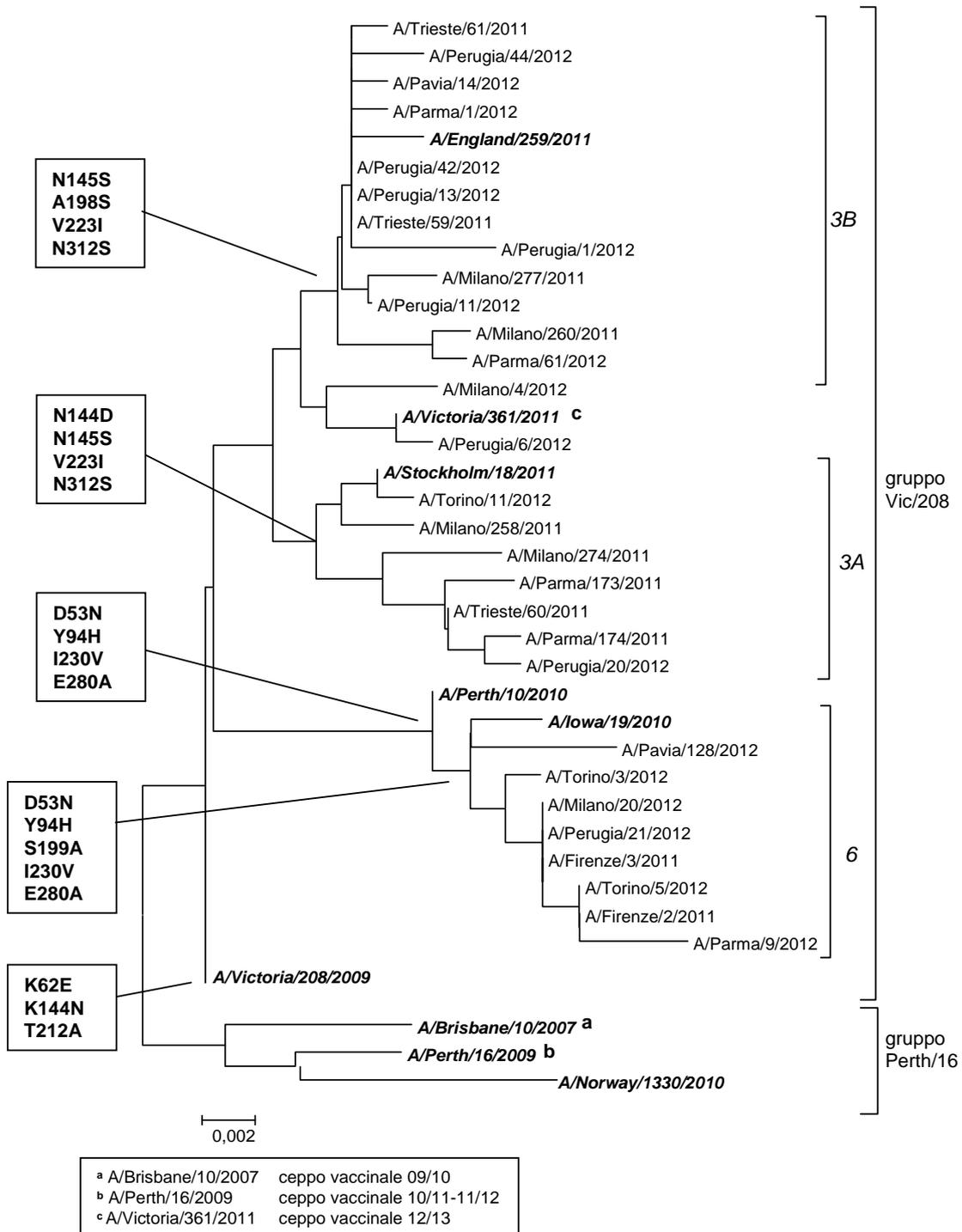


Figura 7. Relazioni filogenetiche relative al dominio HA1 della HA di recenti isolati umani A/H3N2 in Italia

In particolare, all'interno del gruppo genetico A/Victoria/208/2009, i virus italiani analizzati si distribuiscono principalmente nei sottogruppi 3A, 3B e 6, caratterizzati dalle seguenti mutazioni rispetto al ceppo A/Perth/16/2009:

- 3A → N144D, N145S, V223I e D487N, virus di riferimento A/Stockholm/18/2011;
 3B → N145S, A198S, V223I, N312S e D487N, virus di riferimento A/England/259/2011;
 6 → D53N, Y94H, S199A, I230V e E280A, virus di riferimento A/Iowa/19/2010.

La descrizione dettagliata dei diversi gruppi genetici è illustrata nel Rapporto del Centro di Riferimento OMS di Londra del 2012 (39).

Tipo B

I virus influenzali di tipo B hanno circolato a bassi livelli anche durante l'ultima stagione e, nell'ambito di questi virus, hanno co-circolato ceppi appartenenti ai due diversi lineaggi, B/Victoria/2/87 e B/Yamagata/16/88. La maggior parte dei virus analizzati è risultata antigenicamente correlata ai ceppi appartenenti al lineaggio B/Yamagata e, in particolare, alla nuova variante B/Wisconsin/1/2010 (Tabella 3), inclusa nella composizione vaccinale 2012/2013. L'isolato B/Roma/01/2012 ha, invece, presentato un pattern di reattività differente, mostrando titoli bassi verso i sieri B/Wisconsin/1/2010, B/Stockholm/12/2011 e B/Serbia/1894/2011 e un titolo maggiore verso il siero prodotto con il ceppo B/Estonia/55669/2011 (Tabella 3).

Tabella 3. Tipo B (lin.Yamagata): caratterizzazione antigenica (test HI) di virus influenzali isolati in Italia

Virus	Antisieri prodotti in furetto								
	B/Flor 4/06	B/Bris 3/07	B/Eng 145/08	B/Bang 3333/07	B/Wis 1/10	B/Sto 12/11*	B/Est 55669/11	B/Ser 1894/11	B/Sto12/ 11†
Data analisi: 10/07/2012									
B/Florida/4/2006 ^a	1280	1280	80	160	640	640	160	10	160
B/Brisbane/3/2007	640	640	40	80	160	320	160	<	160
B/England/145/2008	40	20	160	20	20	80	<	<	20
B/Bangladesh/3333/07	80	160	20	320	40	320	<	10	80
B/Wisconsin/1/2010 ^b	160	160	80	160	160	640	10	40	160
B/Stockholm/12/2011	160	160	80	320	80	640	<	40	160
B/Estonia/55669/2011	80	80	20	40	20	80	1280	80	<
B/Serbia/1894/2011	160	80	80	160	160	320	160	320	160
B/Stockholm/12/2011	160	80	80	160	160	320	160	320	160
B/Perugia/02/2012	20	40	40	40	80	160	20	40	20
B/Milano/05/2012	40	40	80	80	160	160	80	160	80
B/Milano/08/2012	20	40	80	80	160	160	80	160	80
B/Milano/10/2012	20	20	80	80	160	320	40	80	80
B/Milano/11/2012	20	40	80	160	160	160	80	80	80
B/Milano/12/2012	10	20	80	80	160	160	40	80	40
B/Milano/13/2012	20	40	80	160	160	160	160	320	80
B/Milano/15/2012	20	40	80	80	160	160	80	80	80
B/Milano/16/2012	10	40	80	80	160	160	80	80	80
B/Milano/19/2012	<	20	40	40	80	160	40	40	40
B/Roma/01/2012	<	40	40	40	20	40	640	40	<

^a B/Florida/4/2006 (ceppo vaccinale 2008-2009)

^b B/Wisconsin/1/2010 (ceppo vaccinale 2012-2013)

< : <10

* siero di furetto ottenuto con ceppi virali propagati *in ovo*

† siero di furetto ottenuto con ceppi virali propagati *in colture cellulari*

Dall'analisi filogenetica condotta sul gene dell'HA degli stessi ceppi virali (Figura 8) è evidente l'appartenenza della maggior parte dei virus analizzati al gruppo 3 del lineaggio Yamagata, rappresentato dai ceppi di riferimento B/Bangladesh/3333/2007 e B/Wisconsin/1/2010, mentre solo il ceppo B/Roma/01/2012 è risultato appartenere al gruppo 2, di cui fa parte anche il recente ceppo B/Estonia/55669/2011.

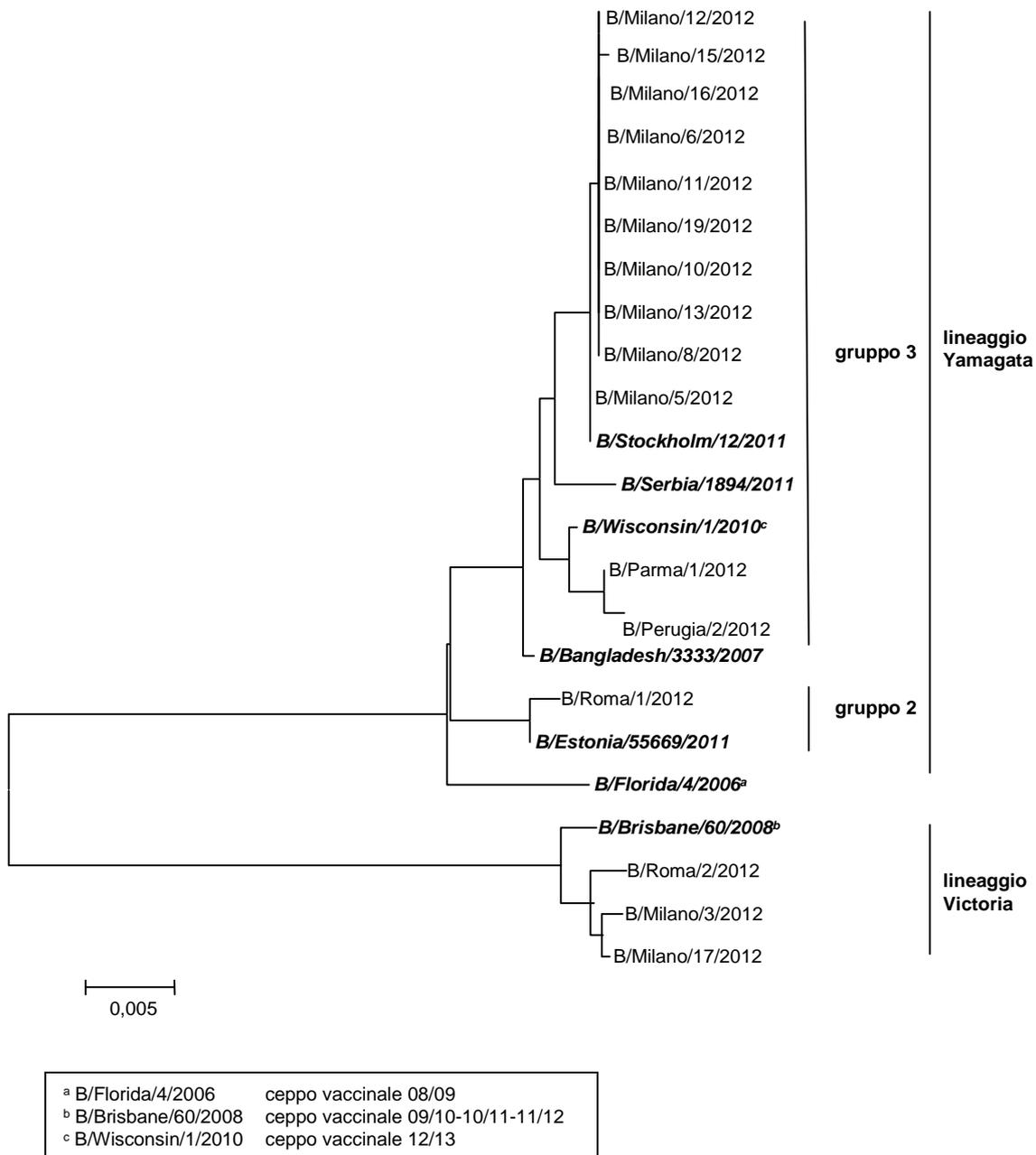


Figura 8. Relazioni filogenetiche relative al dominio HA1 della HA di recenti isolati di tipo B

I virus influenzali appartenenti al lineaggio del B/Victoria/2/87 hanno mostrato, in generale, una ridotta reattività antigenica verso i sieri di furetto ottenuti con virus propagati in uovo, incluso il ceppo vaccinale B/Brisbane/60/2008 e il nuovo virus di riferimento B/Malta/636714/2011, mentre hanno mostrato una maggiore reattività verso i sieri di furetto prodotti con virus correlati ai ceppi di riferimento ma propagati in colture cellulari, come il B/Paris/1762/2008, il B/Hong Kong/514/2009 e il B/Odessa/3886/2010 (Tabella 4).

Tabella 4. Tipo B (lin.Victoria): caratterizzazione antigenica (test HI) di virus influenzali isolati in Italia

Virus	Antisieri prodotti in furetto						
	B/Mal 2506/04	B/Eng 393/08	B/Bris 60/08	B/Par 1762/08	B/HK 514/09	B/Ode 3886/10	B/Malta 636714/11
Data analisi: 10/07/2012							
B/Malaysia/2506/2004^a	640	40	160	10	<	<	80
B/England/393/2008	160	320	640	80	80	40	320
B/Brisbane/60/2008^b	160	160	640	80	80	80	320
B/Paris/1762/2008	40	40	80	160	160	80	40
B/Hong Kong/514/2009	40	40	80	160	160	160	40
B/Odessa/3886/2010	20	40	80	160	80	160	40
B/Malta/636714/2011	160	320	640	80	80	80	320
B/Milano/03/2012	20	20	80	160	80	80	40
B/Roma/02/2012	20	40	80	160	80	80	40

^a B/Malaysia/2506/2004 (ceppo vaccinale 2006-2007, 2007-2008)

^b B/Brisbane/60/2008 (ceppo vaccinale 2009-2010, 2010-2011, 2011-2012)

< = <10

Dal punto di vista molecolare, i ceppi B/Victoria-like risultano strettamente correlati al ceppo vaccinale B/Brisbane/60/2008 (vedi Figura 8).

Farmaco-resistenza dei virus influenzali

Durante la stagione 2011-2012, alle attività di caratterizzazione antigenica e molecolare dei virus influenzali, finalizzate all'identificazione delle nuove varianti da inserire nel vaccino, si è aggiunta un'attività di monitoraggio della suscettibilità virale ai farmaci anti-influenzali, con particolare riferimento agli inibitori della neuraminidasi (IN), oseltamivir/zanamivir (40).

Dall'inizio della stagione influenzale 2011-2012, le analisi condotte su un totale di 55 ceppi virali isolati in Italia (40 A/H3N2 e 15 B) hanno evidenziato una totale sensibilità dei virus allo zanamivir e una bassissima percentuale di resistenza all'oseltamivir. In particolare, riguardo all'oseltamivir, tutti i virus B si sono mostrati sensibili, mentre tra i ceppi A/H3N2 analizzati, soltanto uno (0,025%) è risultato resistente. Il virus è stato isolato a Pavia, da un paziente ospedalizzato immuno-compromesso sottoposto a prolungata terapia antivirale. La resistenza di tale ceppo è stata evidenziata dallo stesso laboratorio di Pavia, mediante sequenziamento del gene della neuraminidasi virale, che ha mostrato la presenza della mutazione R292K, notoriamente associata al carattere di resistenza. Per motivi di esiguità di materiale clinico, sullo stesso campione non è stato possibile effettuare il saggio fenotipico di conferma presso i laboratori del NIC.

Per quanto riguarda la suscettibilità degli isolati virali agli inibitori della proteina della matrice-M2 (amantadina e rimantadina), le analisi di sequenza del gene M hanno evidenziato la

presenza della mutazione S31N, considerata *marker* molecolare di resistenza a questa famiglia di farmaci, in tutti i ceppi A/H3N2 analizzati.

I dati raccolti dalla rete dei laboratori europei (*European Surveillance System*, TESSy) per quest'ultima stagione non hanno evidenziato alcun fenotipo di resistenza agli IN in nessuno dei ceppi analizzati (A/H3N2; A/H1N1pdm2009 e B), mentre il 100% dei virus A/H3N2 è risultato resistente nei confronti degli inibitori della proteina M2 (41).

CIRCOLAZIONE DEI VIRUS INFLUENZALI IN EUROPA E NEL MONDO

Isolamenti virali in Europa

I dati complessivi, relativi all'attività di sorveglianza virologica condotta dai Centri Nazionali di tutta Europa, inclusi quelli raccolti dal NIC italiano, sono stati analizzati e discussi in un apposito meeting che si tiene annualmente, nel mese di febbraio, presso l'OMS di Ginevra e a cui partecipano tutti i Paesi inseriti nel Programma Mondiale dell'Influenza. Scopo di tale incontro è procedere, attraverso la valutazione delle caratteristiche dei virus isolati nelle diverse parti del mondo e l'identificazione delle varianti emergenti, all'aggiornamento del vaccino antinfluenzale utilizzabile nella stagione successiva.

In linea con i nostri dati, anche in Europa nella stagione 2011-2012, è stata osservata una predominante circolazione di virus influenzali A di sottotipo H3N2 e una modesta circolazione di virus influenzali di sottotipo H1N1pdm09 e di tipo B. La distribuzione settimanale dei campioni positivi durante la stagione influenzale 2011-2012 per tipo e sottotipo vengono mostrate, rispettivamente, nelle Figure 9 e 10.

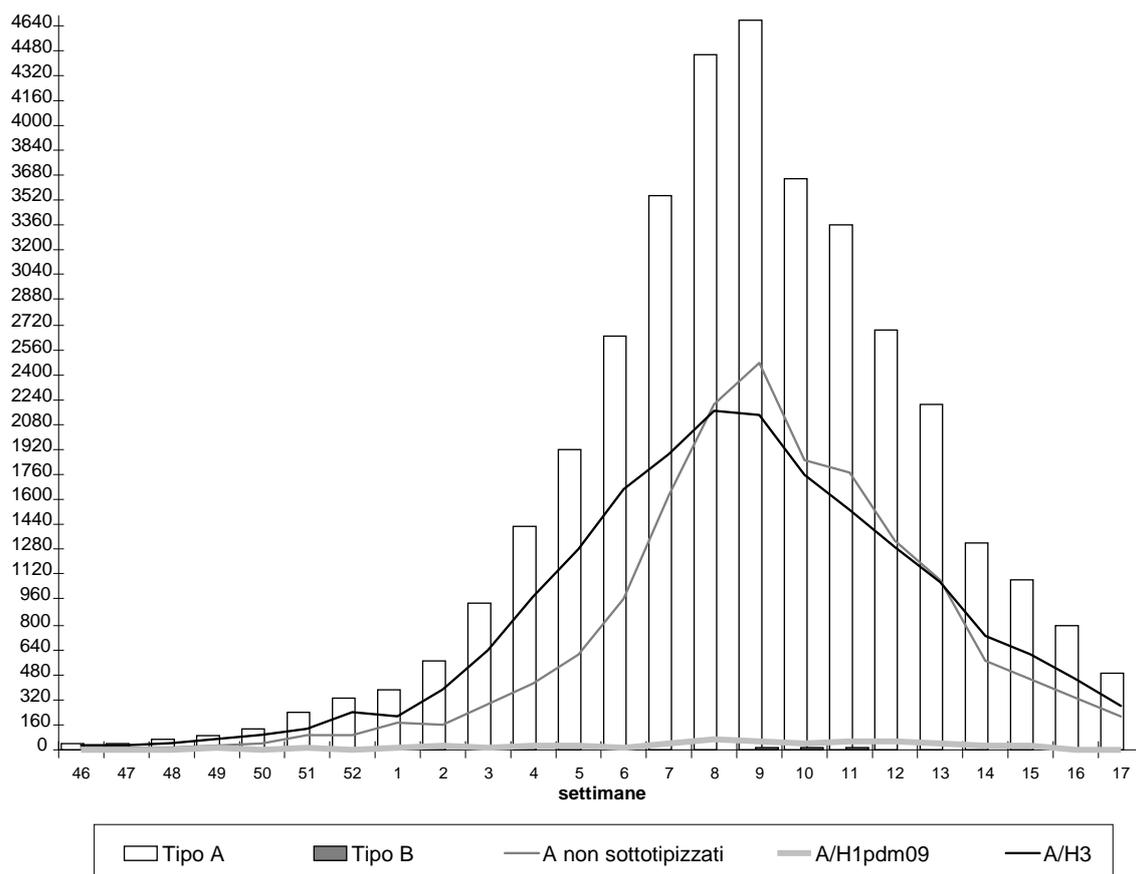


Figura 9. Numero dei campioni identificati e/o isolati in Europa nella stagione 2011-2012

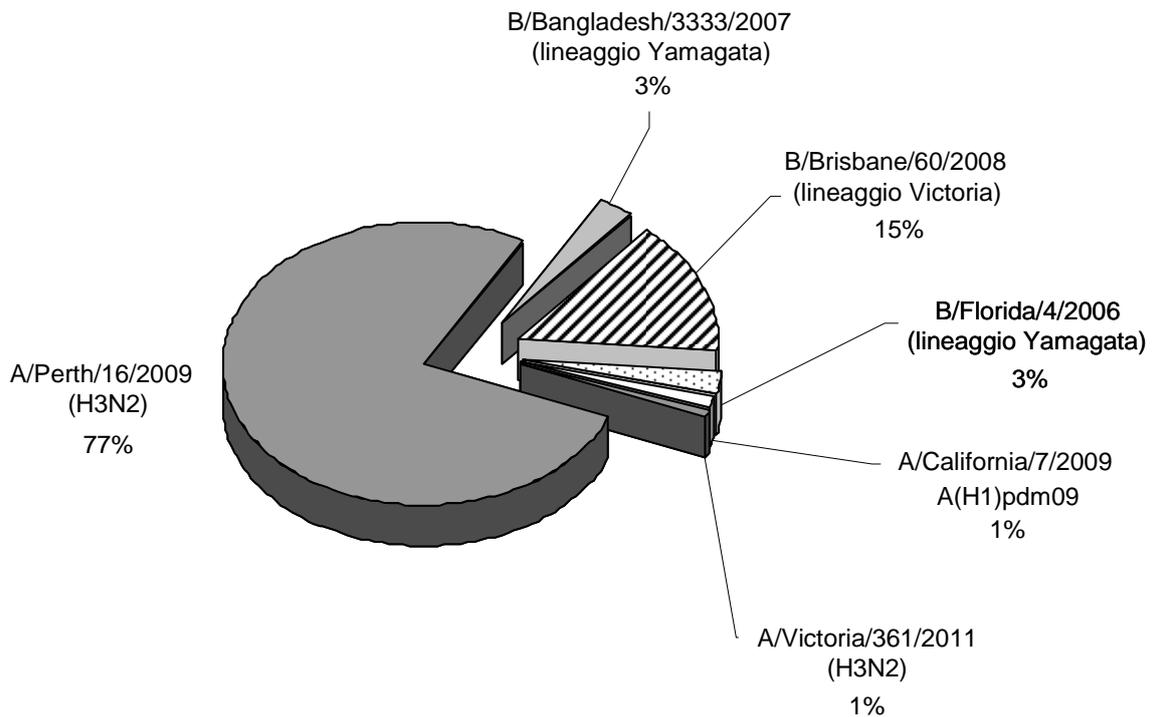


Figura 10. Risultati di caratterizzazione antigenica dei campioni identificati e/o isolati in Europa nella stagione 2011-2012

Nel complesso, 30.263 (94%) ceppi isolati e caratterizzati in Europa sono risultati di tipo A, mentre soltanto 2.017 (6%) sono risultati appartenenti al tipo B (Tabella 5).

Tabella 5. Virus influenzali isolati e/o identificati in Europa nella stagione 2011-2012 (dati aggiornati alla settimana 17/2012)

	Tipizzati		Non sottotipizzati		Sottotipizzati		
	n.	%	n.	%	n.	%	
A	30.263	94	15.997	53	H3	13.873	97
					H1pdm09	393	3
B	2.017	6		–			

Nell'ambito dei virus tipizzati come A, il 53% non è stato poi sotto tipizzato. Tra i virus sotto tipizzati, il 97% è risultato appartenere al sottotipo H3N2 e, per il restante 3%, al sottotipo H1pdm09.

Isolamenti virali nel mondo

Durante la stagione 2011-2012, l'influenza ha circolato in tutti i continenti (Africa, America, Asia, Europa e Oceania). Nell'emisfero Nord, una moderata attività dei virus influenzali si è cominciata a registrare a partire dal mese di novembre 2011; in dicembre si è osservato un incremento in Nord America e in Europa, mentre in gennaio in Asia.

La circolazione dei virus influenzali A/H1N1pdm09 è stata osservata soprattutto in Nord America. Virus influenzali A/H3N2 sono risultati predominanti in Nord America ed Europa, dove hanno provocato numerose epidemie (Francia, Federazione Russa, Spagna e Svezia).

I virus di tipo B hanno circolato con bassa frequenza rispetto ai virus di tipo A durante la stagione influenzale, ma sono risultati predominanti in Cina (Figura 11).

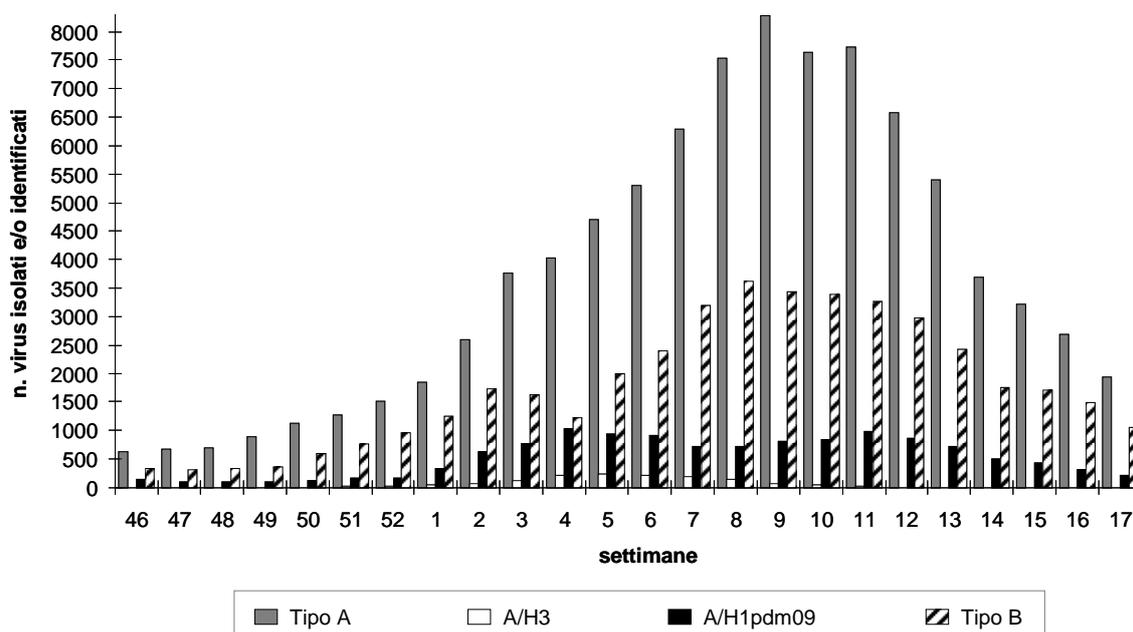


Figura 11. Numero dei campioni identificati e/o isolati nel mondo nella stagione 2011-2012

Sottotipo A/H1N1pdm2009

Le analisi di caratterizzazione sierologica non hanno evidenziato l'emergenza di varianti antigeniche sufficientemente diverse dal ceppo vaccinale A/California/7/09.

Sottotipo A/H3N2

Sulla base delle analisi antigeniche, effettuate con il test HI, molti dei ceppi influenzali circolanti appartenenti al sottotipo A/H3N2 sono risultati antigenicamente simili alle recenti varianti A/Alabama/5/2010, A/Hong Kong/3969/2011 e A/Stockholm/18/2011, come riportato anche nella Tabella 6 (39).

Tabella 6. A/H3N2: caratterizzazione antigenica di virus influenzali isolati nel mondo mediante test HI

Virus	Antisieri prodotti in furetto								
	A/Bris 10/07	A/Perth 16/09	A/Vic 208/09	A/Vic 210/09	A/Ala 5/10	A/Perth 10/10	A/HK 3969/11	A/Stock 18/11	A/Iowa 19/10
A/Brisbane/10/2007^a	5120	40	40	40	40	80	160	<	40
A/Perth/16/2009^b	<	1280	40	160	160	160	640	160	160
A/Victoria/208/2009	320	1280	2560	2560	1280	5120	2560	2560	5120
A/Victoria/210/2009	320	2560	1280	2560	320	1280	1280	640	1280
A/Alabama/5/2010	<	80	40	40	160	80	640	160	160
A/Perth/10/2010	160	640	2560	2560	1280	2560	2560	1280	2560
A/HongKong/3969/2011	80	160	160	160	320	320	1280	640	320
A/Stockholm/18/2011	<	80	80	40	80	160	320	320	80
A/Iowa/19/2010	80	640	2560	2560	2560	5120	2560	2560	5120
A/La Réunion/2055/2011	80	640	320	320	640	1280	2560	1280	640
A/La Réunion/1956/2011	80	320	320	320	320	320	640	640	640
A/Paris/1744/2011	40	160	160	160	320	160	640	640	640
A/Attecoube/GR1103/2011	<	160	160	80	160	320	640	1280	320
A/Lyon CHU/46.334/2011	40	160	160	160	320	320	640	640	320
A/Korogho/GR1307/2011	<	80	160	160	320	320	640	640	320
A/Ghana/FS-11-1981/2011	<	160	160	160	320	320	640	640	320
A/Catalonia/S4345/2011	40	160	320	320	640	640	640	640	1280
A/Paris/2013/2011	40	160	320	160	320	640	1280	640	640
A/Turkey/05/2011	<	80	160	80	160	160	320	320	160
A/Marseille/2240/2011	<	80	160	160	160	320	640	640	320
A/Lorraine/2073/2011	40	320	320	160	640	640	1280	640	1280
A/Toulouse/2187/2011	40	160	160	160	320	320	640	640	320
A/Rheinland-Pfalz/75/2011	<	80	160	160	160	160	320	320	160
A/Berlin/2/2012	40	320	160	160	640	640	640	640	640
A/Israel/32/2011	<	80	80	80	160	320	160	160	160
A/Norway/2433/2011	<	80	160	160	160	160	320	320	160
A/Lorraine/2056/2011	40	160	160	160	160	320	640	320	640
A/Valladolid/48/2011	<	80	80	80	160	80	160	320	160
A/Turkey/07/2011	<	160	160	80	160	160	320	320	160
A/Turkey/08/2011	<	160	160	80	320	320	640	320	80
A/Turkey/12/2011	<	80	160	160	160	320	320	320	160
A/Paris/2097/2011	40	160	160	160	320	320	1280	320	640
A/Turkey/14/2011	<	160	320	160	320	320	640	1280	320
A/Paris/2100/2011	<	80	160	80	160	160	640	320	80
A/Valladolid/49/2011	<	80	80	80	160	160	320	320	160
A/Israel/38/2011	<	80	80	80	160	160	320	160	160
A/Paris/2114/2011	<	160	160	320	320	320	640	320	320
A/Ireland/11M92381/2011	<	80	160	80	160	160	320	160	160
A/Paris/2116/2011	<	160	160	320	320	320	640	320	640
A/Paris/2133/2011	<	80	80	80	160	160	160	160	80
A/Ireland/11M92761/2011	<	80	160	80	160	160	320	160	160
A/Lyon/2264/2011	40	320	320	160	320	640	640	640	640
A/Israel/41/2011	<	160	160	160	320	320	640	320	320
A/Catalonia/S4320/2011	40	160	320	320	640	640	640	640	1280
A/Pays de Loire/2149/2011	<	80	160	80	320	320	640	320	320

^a A/Brisbane/10/2007 (ceppo vaccinale 2008-2009;2009-2010)

^b A/Perth/16/2009 (ceppo vaccinale 2010-2011, 2011-2012)

<: <40

Tipo B

Virus influenzali di tipo B appartenenti ai due diversi lineaggi, Victoria- e Yamagata-like, hanno continuato a co-circolare anche durante la stagione influenzale 2011-2012, in diversi Paesi. La maggior parte dei virus risulta antigenicamente e geneticamente correlata al ceppo vaccinale B/Brisbane/60/08, appartenente al lineaggio B/Victoria, mentre molti dei virus Yamagata-like hanno mostrato una maggiore somiglianza con virus di riferimento più recenti, quali il B/Wisconsin/1/10.

RACCOMANDAZIONI DELL'OMS PER LA VACCINAZIONE ANTINFLUENZALE 2012-2013

Il 22 febbraio 2012 si è svolto il meeting annuale dell'OMS per l'aggiornamento della composizione del vaccino antinfluenzale per la prossima stagione 2012/13. Le raccomandazioni emanate sono il risultato delle analisi dei dati della sorveglianza virologica, fornite da tutti i Centri Nazionali afferenti alla rete dell'OMS.

Composizione del vaccino per la stagione 2012-2013

L'insieme dei risultati ottenuti dall'analisi antigenica, molecolare e filogenetica ha suggerito un cambiamento nel vaccino antinfluenzale che, per l'emisfero settentrionale e per la stagione 2012-2013, avrà la seguente composizione (Tabella 7):

Tabella 7. Composizione vaccinale stagione 2012-2013

Formulazione 2011-2012		Formulazione 2012-2013
<i>Ceppo vaccinale</i>	<i>Tipo/sottotipo</i>	<i>Ceppo vaccinale</i>
A/Perth/16/2009	A/(H3N2)	A/Victoria/361/2011
A/California/7/2009	A/(H1N1)	A/California/7/2009
B/Brisbane/60/08	B	B/Wisconsin/1/2010

Il nuovo vaccino conterrà, pertanto, una nuova variante antigenica di sottotipo H3N2 (A/Victoria/361/2011), che sostituirà il ceppo A/Perth/16/2009 contenuto nel vaccino della stagione appena terminata. Nessuna variazione riguarderà invece il ceppo A/H1N1pdm09 (A/California/7/2009), che viene mantenuto anche nel vaccino della prossima stagione influenzale.

Per quanto riguarda la componente vaccinale di tipo B, il ceppo B/Brisbane/60/08 (Victoria-like) sarà sostituito dalla nuova variante B/Wisconsin/1/2010 (Yamagata-like).

BIBLIOGRAFIA

1. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992;152-70.
2. Lipatov AS, Govorkova EA, Webby RJ, Ozaki H, Peiris M, Guan Y, Poon L, Webster RG. Influenza: emergence and control. *Journal of Virology*, 2004; 78:8951-9.
3. Neumann G, Noda T, Kawaoka Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* 2009;459:931-9.
4. Kandel R, Hartshorn KL. Novel strategies for prevention and treatment of influenza. *Expert Opin Ther Targets* 2005;9(1):1-22.
5. Langley JM, Faughnan ME. Prevention of influenza in the general population. *CMAJ* 2004;171(10):1213-22.
6. Oxford JS, Mann A, Lambkin R. A designer drug against influenza: the NA inhibitor oseltamivir (Tamiflu). *Expert Rev Anti Infect Ther* 2003;1(2):337-42.
7. O'Brien BJ, Goeree R, Blackhouse G, Smieja M, Loeb M. Oseltamivir for treatment of influenza in healthy adults: pooled trial evidence and cost-effectiveness model for Canada. *Value Health* 2003;6(2):116-25.
8. Stiver G. The treatment of influenza with antiviral drugs. *CMAJ* 2003;168(1):49-56.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. McKimm-Breschkin JL. Neuraminidase inhibitors for the treatment and prevention of influenza. *Expert Opin Pharmacother* 2002;3(2):103-12.
13. McClellan, Perry CM. Oseltamivir: a review of its use in influenza. *Drugs* 2001;61 (2):263-83.
14. 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.
15. Reina J, Fernandez-Baca V, Blanco I, Munar M. Comparison Of Madin-darby canine kidney cells (MDCK) with a green monkey continuous cell line (VERO) and human lung embryonated cells (MRC-5) in the isolation of influenza A virus from nasopharyngeal aspirates by shell vial culture. *J Clin Microbiol* 1997;35(7):1900-1.
16. 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.
17. Meguro H, Bryant JD, Torrence AE, Wrigth PF. Canine Kidney Cell line for isolation of respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 1979;9:175-9.
18. 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.
19. Monto AS, Maasaab HF, Bryan ER. Relative efficacy of embryonated eggs and cell culture for isolation of contemporary influenza viruses. *J Clin Microbiol* 1981; 13(1):233-5.

20. de Jong JC, Palache AM, Beyer WE, Rimmelzwaan GF, Boon AC, Osterhaus AD. Haemagglutination-inhibiting antibody to influenza virus. *Dev Biol* (Basel) 2003;115:63-73.
21. WHO Global Influenza Surveillance Network. *Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza*. Geneva: World Health Organization; 2011. Disponibile all'indirizzo http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/manual_diagnosis_surveillance_influenza/en/index.html; ultima consultazione 6/12/12.
22. Kendal AP, Pereira MS, Skehel JJ. *Concepts and procedures for laboratory-based influenza surveillance*. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC; 1982.
23. 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.
24. 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.
25. van Elden LJ, van Kraaij MG, Nijhus M, Hendriksen KA, Dekker AW, Rozeneg-Arska M, van Loon AM. Polymerase chain reaction is more sensitive than viral culture and antigen testing for the detection of respiratory viruses in adults with hematological cancer and pneumonia. *Clin Infect Dis* 2002;34(2):177-83.
26. 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.
27. 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.
28. 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.
29. 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).
30. 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.
31. Yamada A, Imanishi J, Nakajima E, Nakajima K, Nakajima S. Detection of influenza viruses in throat swab by using polymerase chain reaction. *Microbiol Immunol* 1991;35:259-65.
32. Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium* 1999;41:95-8.
33. Tippmann HF. Analysis for free: comparing programs for sequence analysis. *Brief Bioinform* 2004;5(1):82-7.
34. Takezaky N. Tie trees generated by distance methods of phylogenetic reconstruction. *Mol Biol Evol* 1998;15(6):727-37.
35. Tajima F. A simple graphic method for reconstructing phylogenetic trees from molecular data. *Mol Biol Evol* 1990;7(6):578-88.
36. Saitou M, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987;4:406-25.
37. Kilbourne ED. Molecular epidemiology-influenza as archetype. *Harvey Lect* 1979;73:225-58.
38. Lin YP, Gregory V, Collins P, Kloess J, Wharton S, Cattle N, Lackenby A, Daniels R, Hay A. Neuraminidase receptor binding variants of human influenza A(H3N2) viruses resulting from

substitution of aspartic acid 151 in the catalytic site: a role in virus attachment? *J Virol* 2010;84:6769-81.

39. WHO Influenza Centre London. *Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Northern Hemisphere. 20th – 22nd February 2012*. London: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza, National Institute for Medical Research; 2012. Disponibile all'indirizzo: <http://www.nimr.mrc.ac.uk/documents/about/interim-report-feb-2012.pdf>; ultima consultazione 6/12/12.
40. Puzelli S, Facchini M, Di Martino A, Fabiani C, Lackenby A, Zambon M, Donatelli I. Evaluation of the antiviral drug susceptibility of influenza viruses in Italy from 2004/05 to 2009/10 epidemics and from the recent 2009 pandemic. *Antiviral Res* 2011;90(3):205-12.
41. European Centre for Disease Prevention and Control. *ECDC surveillance report. Influenza overview weeks 23–24 2012*. Stockholm: ECDC; 2012. Disponibile all'indirizzo: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/120621_SUR_WISO.pdf; ultima consultazione 6/12/12.

APPENDICE
Protocollo operativo (stagione 2011-2012)
del sistema di sorveglianza INFLUNET:
estratto della parte virologica

Si riporta un estratto della parte virologica del Protocollo operativo del sistema di sorveglianza FLU-ISS per la stagione influenzale 2011-2012.

Per comodità si è mantenuta la numerazione dei paragrafi del documento originale e il numero relativo agli allegati.

2. SORVEGLIANZA VIROLOGICA

2.1. Razionale

L'epidemiologia dell'Influenza è fortemente influenzata dalla capacità dei virus influenzali di mutare rapidamente le caratteristiche antigeniche delle due proteine virali di superficie, l'emoagglutinina (HA) e la neuraminidasi (NA). Tali variazioni permettono al virus di superare le barriere anticorpali che si oppongono alla sua circolazione nella popolazione, vanificando l'immunità conseguente a pregressa infezione naturale e/o a vaccinazione. Per questo motivo la composizione vaccinale va aggiornata periodicamente in relazione all'emergenza di nuove varianti virali. L'identificazione di queste varianti è resa possibile grazie all'attività di sorveglianza virologica che, attraverso le caratterizzazioni antigeniche e molecolari dei ceppi circolanti in periodo epidemico, permette la valutazione dell'omologia tra ceppi di campo e ceppi vaccinali.

2.2. Obiettivi

Il sistema prevede di raggiungere le seguenti finalità:

1. Monitorare la circolazione dei diversi tipi e sottotipi di virus influenzali nelle diverse aree geografiche e nei diversi periodi della stagione epidemica;
2. Valutare l'omologia antigenica tra ceppi epidemici e ceppi vaccinali, attraverso analisi sierologiche e molecolari su campioni clinici prelevati dai pazienti con sintomatologia influenzale;
3. Fornire agli Organismi di riferimento internazionale (OMS, ECDC) dati relativi alle caratteristiche dei virus circolanti in Italia.

2.3. Metodi

2.3.1. Periodo di osservazione e raccolta dei campioni clinici

Il monitoraggio della circolazione dei virus influenzali sarà effettuato, nelle regioni provviste di laboratorio INFLUNET di riferimento (Allegato 8), a partire dalla 46^a settimana 2011 e si protrarrà per l'intero periodo di sorveglianza (Allegato 5).

Il medico effettuerà il prelievo da pazienti con sintomatologia influenzale (Allegato 4). Il prelievo deve essere eseguito durante la fase acuta della malattia (rialzo febbrile).

Per la raccolta, potrà essere utilizzato il Kit diagnostico "Virocult", seguendo semplici istruzioni (Allegato 6) e compilando, per ciascun campione prelevato, la "Scheda raccolta dati" (Allegato 7).

2.3.2. Analisi dei campioni e strutture laboratoristiche coinvolte

I campioni clinici raccolti saranno inviati ai laboratori regionali della Rete INFLUNET, che provvederanno all'identificazione e/o isolamento virale, utilizzando modalità e metodologie concordate con il NIC. Tutti i dati relativi ai campioni ricevuti saranno comunicati al NIC, secondo la modulistica già in vigore nella passata stagione, utilizzando il modulo on-line disponibile nel sito INFLUNET dell'ISS (<https://www.iss.it/site/fluvir/login.aspx>), ovvero compilando la scheda dati in formato Excel.

Il NIC provvederà ad eseguire ulteriori studi su un numero selezionato di ceppi isolati dai laboratori periferici, secondo modalità che verranno concordate direttamente con i singoli laboratori. In base ai

risultati di queste indagini, parte degli isolati virali sarà inviato dal NIC al Centro di riferimento internazionale dell'OMS (*Medical Research Council*- MRC di Londra).

2.4. Flusso dei dati a livello nazionale e internazionale

I risultati virologici nazionali saranno resi pubblici, unitamente a quelli epidemiologici, attraverso l'aggiornamento settimanale dei siti Internet del Ministero della Salute (www.salute.gov.it), dell'OMS (www.who.int/en/) e dell'ECDC (www.ecdc.europa.eu/en/).

I dati relativi alle caratteristiche antigeniche dei ceppi virali italiani saranno discussi a Ginevra (OMS), ai fini dell'aggiornamento della composizione del vaccino utilizzabile nella stagione 2012-2013.

Allegato 5**Elenco delle settimane di sorveglianza**

SETTIMANA	dal	al
2011-42	17/10/2011	23/10/2011
2011-43	24/10/2011	30/10/2011
2011-44	31/10/2011	06/11/2011
2011-45	07/11/2011	13/11/2011
2011-46	14/11/2011	20/11/2011
2011-47	21/11/2011	27/11/2011
2011-48	28/11/2011	04/12/2011
2011-49	05/12/2011	11/12/2011
2011-50	12/12/2011	18/12/2011
2011-51	19/12/2011	25/12/2011
2011-52	26/12/2011	01/01/2012
2012-01	02/01/2012	08/01/2012
2012-02	09/01/2012	15/01/2012
2012-03	16/01/2012	22/01/2012
2012-04	23/01/2012	29/01/2012
2012-05	30/01/2012	05/02/2012
2012-06	06/02/2012	12/02/2012
2012-07	13/02/2012	19/02/2012
2012-08	20/02/2012	26/02/2012
2012-09	27/02/2012	04/03/2012
2012-10	05/03/2012	11/03/2012
2012-11	12/03/2012	18/03/2012
2012-12	19/03/2012	25/03/2012
2012-13	26/03/2012	01/04/2012
2012-14	02/04/2012	08/04/2012
2012-15	09/04/2012	15/04/2012
2012-16	16/04/2012	22/04/2012
2012-17	23/04/2012	29/04/2012

Allegato 6

Protocollo operativo per la raccolta dei campioni clinici

Lo scopo delle indagini virologiche è quello di identificare e caratterizzare i virus influenzali circolanti nella popolazione. Le attività partiranno dalla 46^a settimana e si protrarranno per l'intero periodo dello studio (17^a settimana).

Il campione clinico (tamponi naso-faringeo) dovrà essere prelevato durante la fase acuta dell'infezione (presenza di febbre elevata).

Se la raccolta del materiale clinico avverrà utilizzando i tamponi Virocult, il prelievo dovrà avvenire secondo le modalità di seguito riportate:

Prelievo del tampone faringeo

1. Rimuovere l'involucro del Virocult contenente il tampone e la provetta di trasporto;
2. Portare il tampone a contatto con la parte posteriore della gola e cercare di far aderire al tampone frammenti di essudato, esercitando un'adeguata pressione e un lieve movimento di raschiamento;
3. Rimuovere il tappo della provetta e inserirvi il tampone;
4. Richiudere la provetta e scrivere sull'etichetta posta su di essa i dati relativi al paziente;
5. Spremere delicatamente la base della provetta, affinché il tampone venga bagnato dal terreno;
6. Conservare a +4°C, fino al momento della consegna al corriere

Importante:

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

Registrazione dati

Riportare nell'**Allegato 7** i dati relativi al paziente sottoposto a prelievo.

Spedizione

Per le modalità di spedizione, prendere accordi con il Laboratorio di Riferimento Regionale.

Allegato 7**Scheda raccolta dati sul paziente sottoposto a tampone
per la conferma di laboratorio**

COGNOME e NOME MEDICO (per esteso):

INDIRIZZO:

CODICE REGIONALE:

LABORATORIO DI RIFERIMENTO:

DATI PAZIENTI

Iniziali paziente	Sesso	Età in anni*	Appartenenza Categoria Rischio**	Data inizio sintomi	Data prelievo	Vaccinato	Terapia antivirale	Se antivirale sì, specificare
			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir <input type="checkbox"/>
			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir <input type="checkbox"/>
			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir <input type="checkbox"/>
			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir <input type="checkbox"/>
			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir <input type="checkbox"/>
			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir <input type="checkbox"/>
			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir <input type="checkbox"/>
			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir <input type="checkbox"/>
			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir <input type="checkbox"/>
			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>			sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	sì <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/>	Oseltamivir <input type="checkbox"/> Zanamivir <input type="checkbox"/>

* Se si tratta di bambini al di sotto dell'anno di età indicare il numero di mesi seguito dalla lettera M;

** Lista delle categorie da sottoporre a vaccinazione (Ordinanza Ministero della Salute del 29 luglio 2010) (vedi pagina seguente)

Lista delle categorie da sottoporre a vaccinazione (Ordinanza Ministero della Salute del 29 luglio 2010)

Categoria	Dettaglio
Soggetti di età pari o superiore a 65 anni	
Bambini di età superiore ai 6 mesi, ragazzi e adulti fino a 65 anni di età affetti da patologie che aumentano il rischio di complicanze da influenza	a) malattie croniche a carico dell'apparato respiratorio (inclusa l'asma grave, la displasia broncopolmonare, la fibrosi cistica e la broncopatia cronico ostruttiva-BPCO) b) malattie dell'apparato cardio-circolatorio, comprese le cardiopatie congenite e acquisite c) diabete mellito e altre malattie metaboliche (inclusi gli obesi con BMI >30 e gravi patologie concomitanti) d) insufficienza renale cronica e) malattie degli organi emopoietici ed emoglobinopatie f) tumori g) malattie congenite o acquisite che comportino carente produzione di anticorpi, immunosoppressione indotta da farmaci o da HIV h) malattie infiammatorie croniche e sindromi da malassorbimento intestinali i) patologie per le quali sono programmati importanti interventi chirurgici j) patologie associate a un aumentato rischio di aspirazione delle secrezioni respiratorie (ad es. malattie neuromuscolari) k) epatopatie croniche
Bambini e adolescenti in trattamento a lungo termine con acido acetilsalicilico, a rischio di Sindrome di Reye in caso di infezione influenzale.	
Donne che all'inizio della stagione epidemica si trovino nel secondo e terzo trimestre di gravidanza.	
Individui di qualunque età ricoverati presso strutture per lungodegenti.	
Medici e personale sanitario di assistenza.	
Familiari e contatti di soggetti ad alto rischio.	
Soggetti addetti a servizi pubblici di primario interesse collettivo e categorie di lavoratori	a) Forze di polizia b) Vigili del fuoco c) Altre categorie socialmente utili potrebbero avvantaggiarsi della vaccinazione, per motivi vincolati allo svolgimento della loro attività lavorativa; a tale riguardo, è facoltà delle Regioni/PP.AA. definire i principi e le modalità dell'offerta a tali categorie. d) Infine, è pratica internazionalmente diffusa l'offerta attiva e gratuita della vaccinazione antinfluenzale da parte dei datori di lavoro ai lavoratori particolarmente esposti per attività svolta e al fine di contenere ricadute negative sulla produttività.
Personale che, per motivi di lavoro, è a contatto con animali che potrebbero costituire fonte di infezione da virus influenzali non umani	a) allevatori b) addetti all'attività di allevamento c) addetti al trasporto di animali vivi d) macellatori e vaccinatori e) veterinari pubblici e libero-professionisti

Allegato 8

Laboratori periferici afferenti alla rete INFLUNET e accreditati dall'ISS per la sorveglianza sentinella in periodo interpandemico*

REGIONE	Laboratori accreditati
Alto Adige	<ul style="list-style-type: none"> AS Alto Adige, Laboratorio di Microbiologia e Virologia/Comprensorio sanitario di Bolzano, Via Amba Alagi, 5 – 39100 Bolzano (C. Larcher)
Piemonte	<ul style="list-style-type: none"> Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedale Amedeo di Savoia, Corso Svizzera, 164 – 10149 Torino (V. Ghisetti)
Lombardia	<ul style="list-style-type: none"> Dipartimento di Sanità Pubblica – Virologia/ Microbiologia, Università degli Studi di Milano, Via Pascal, 36 - 20133 Milano (A. Zanetti) Virologia molecolare, Struttura complessa virologia/ microbiologia, Fondazione IRCCS Policlinico "San Matteo", Via Taramelli, 5 - 27100 Pavia (F. Baldanti)
Veneto	<ul style="list-style-type: none"> Laboratorio di Virologia, Dipartimento di istologia, microbiologia e biotecnologie mediche, Università degli Studi di Padova, Via Gabelli, 63 - 35121 Padova (G. Palù)
Friuli Venezia Giulia	U.C.O. Igiene e Medicina Preventiva, Dipartimento Universitario Clinico di Scienze mediche , chirurgiche e della salute, Università degli Studi di Trieste, Via dell' Istria , 65/1 – 34137 Trieste (P. D'Agaro)
Liguria	<ul style="list-style-type: none"> Laboratorio UO Igiene, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Genova, Via Pastore,1 – 16126 Genova (F. Ansaldi)
Emilia Romagna	<ul style="list-style-type: none"> Dipartimento di Sanità Pubblica, Istituto di igiene, Università degli Studi di Parma, Via Volturmo, 39 - 43125 Parma (M.L. Tanzi)
Toscana	<ul style="list-style-type: none"> Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica, Laboratorio di Virologia, Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni, 48 – 50134 Firenze (A. Azzi)
Marche	Servizio di Virologia, Azienda Ospedaliera Universitaria "Ospedali Riuniti", Via Conca Ternana, 71 - 60020 Torette di Ancona (P. Bagnarelli)
Umbria	Dipartimento Igiene e Sanità Pubblica, Università degli Studi di Perugia Via del Giochetto - 06126 Perugia (A.M. Iorio)
Lazio	<ul style="list-style-type: none"> Servizio di Analisi II, Istituto di Microbiologia, Università Cattolica S. Cuore, Facoltà di Medicina e Chirurgia "A. Gemelli", Largo Agostino Gemelli, 8 – 00168 Roma (G. Fadda)
Puglia	<ul style="list-style-type: none"> UOC Policlinico di Bari DIMO - Dipartimento di Scienze Biomediche ed Oncologia Umana, Sezione di Igiene e medicina preventiva, Policlinico P.zza G. Cesare, 11-70124 Bari (M. Chironna)
Sardegna	<ul style="list-style-type: none"> Dipartimento Scienze Biochimiche, Sez. Microbiologia Sperimentale e Clinica, Università degli Studi di Sassari, Viale S. Pietro, 43/B - 07100 Sassari (A. Dolei)
Sicilia	<ul style="list-style-type: none"> Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Sezione Igiene, Università degli Studi di Palermo, Piazza Marina, 61 - 90133 Palermo (F. Vitale)

* Nell'elenco non sono riportati i laboratori della rete INFLUNET che non partecipano al monitoraggio virologico in periodo interpandemico.

Centro di Riferimento Nazionale (NIC) per l'OMS

Il NIC (presso il Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate dell'Istituto Superiore di Sanità) fa parte, su designazione del Ministero della Salute, della Rete mondiale dei laboratori coordinati dall'OMS, per lo svolgimento delle attività di sorveglianza del Global Influenza Programme (GIP). Tutti i laboratori del Network OMS sono validati attraverso lo svolgimento di External Quality Assessment Projects (WHO-EQAP). Essi sono notificati e registrati presso il Centro Europeo di Controllo delle Malattie (ECDC) di Stoccolma.

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

Roma, ottobre-dicembre 2012 (n. 4) 19° Suppl.