



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

Policlinico – P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENZA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

RELAZIONE SULLA
SORVEGLIANZA DELL'INFLUENZA IN PUGLIA NELLA STAGIONE 2017-2018:
ANALISI DELLA CIRCOLAZIONE DEI TIPI, SOTTOTIPI E LINEAGGI DEI VIRUS
INFLUENZALI

a cura di Daniela Loconsole e Maria Chironna

Gruppo di lavoro: Anna Lisa De Robertis, Daniele Casulli, Donata Anna Pepe, Viviana Bruno,
Cinzia Germinario, Michele Quarto

Il laboratorio di Epidemiologia molecolare dell'U.O.C. di Igiene dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Consorziale Policlinico di Bari è stato individuato come centro regionale di riferimento per la sorveglianza virologica dell'influenza stagionale (Nota A00_152/9792 del 31.8.2016, Dip. Promozione della Salute e del Benessere Sociale e dello Sport, Sezione promozione della salute e benessere, Regione Puglia) e per l'accertamento dei casi gravi e complicati di influenza (Nota A00_04.01.2017/52, Dip. Promozione della Salute e del Benessere Sociale e dello Sport, Sezione promozione della salute e benessere, Regione Puglia). La DGR 565/2014 prevede, inoltre, che ciascuno dei medici sentinella che fanno parte della rete per la sorveglianza dell'influenza invii al laboratorio di riferimento regionale campioni biologici (tamponi nasofaringei) prelevati da soggetti con diagnosi di sindrome simil-influenzale (ILI – influenza-like illness) ai fini dell'accertamento della possibile eziologia da virus influenzali. Presso lo stesso laboratorio vengono eseguite analisi molecolari finalizzate all'identificazione dei sottotipi dei virus influenzali A (H3N2, H1N1pdm09) e dei lineaggi dei virus influenzali di tipo B (Victoria e Yamagata). Vengono inoltre eseguiti sequenziamenti di segmenti genomici (emoagglutinina e neuraminidasi) e analisi filogenetica ai fini della verifica delle caratteristiche dei ceppi circolanti e della loro similarità o dissimilarità (compresi i cosiddetti *mismatch*) rispetto



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

Policlinico – P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENDA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

ai ceppi virali contenuti nei vaccini antinfluenzali della stagione in corso.

Nella stagione 2017-2018, i primi due casi sporadici di influenza in Puglia sono stati identificati rispettivamente nella settimana 38/2017 (18/09/2017) e 45/2017 (06/11/2017). Si trattava di un caso da virus A(H3N2) e un caso da virus B lineaggio Yamagata. Dall'avvio della sorveglianza virologica ufficiale (settimana 46/2017), i primi casi di influenza sono stati accertati nella terza settimana di novembre (47/2017). In quella settimana, sono stati identificati 7 casi di influenza, 6 da tipo B e 1 da sottotipo A(H1N1)pdm09. Al termine del periodo di sorveglianza virologica, i dati indicano la circolazione di ceppi influenzali di tipo B nel 71% dei casi e di ceppi di tipo A nel 28,3% dei casi (Figura 1). Sono state, inoltre, identificate 4 coinfezioni da virus A(H1N1)pdm09 e virus B (settimana 52/2017, 5, 6 e 8/2018). Nella Figura 2 si può osservare l'andamento dei campioni risultati positivi per tipo/sottotipo e l'incidenza delle ILI per settimana di sorveglianza in Puglia. Nella prima parte della stagione ha circolato prevalentemente il virus B. A partire dalla settimana 5/2018 (29 gennaio - 4 febbraio 2018), invece, la stagione è stata caratterizzata da una circolazione predominante del virus A(H1N1)pdm09.

Dei ceppi di tipo A, il 91,8% è risultato sottotipo H1N1pdm09, il 4,4% H3N2 e il 3,8% non sono stati sottotipizzati (bassa carica virale) (Figura 1).

Sono stati caratterizzati 269 (67%) dei 401 ceppi influenzali di tipo B e tutti sono risultati appartenere al lineaggio Yamagata (Tabella 1).

Sono stati segnalati 50 casi gravi e complicati di influenza accertati (Tabella 2). In 25 casi (50%) il ceppo responsabile era A(H1N1)pdm09, in 24 (48%) il ceppo B (lineaggio Yamagata nell'83% dei casi) e in 1 caso (2%) il ceppo A(H3N2).

Dall'analisi della distribuzione dei tipi/sottotipi di virus influenzali per fasce d'età è emerso che il tipo B ha prevalso nettamente nei soggetti al di sopra dei 5 anni d'età (Figura 3). Nella fascia 0-4 anni è stata riscontrata una notevole frequenza (44/103, 42,7%) anche del sottotipo A(H1N1)pdm09. Nelle fasce 65-74 anni e >75 anni la prevalenza del tipo B ha raggiunto rispettivamente l'83,4% e l'82%. La figura 4 mostra la distribuzione dei casi gravi e complicati di influenza per fasce d'età e tipo di virus identificato e la proporzione di casi gravi per fasce



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

Policlinico – P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENDA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

d'età. L'andamento rispecchia, per i soggetti ultra 65enni, quello osservato per i casi gravi e complicati riportati in Italia nel corso della stessa stagione (Figura 5). In Puglia, non si sono registrati casi gravi in età pediatrica. Come evidenziato dal grafico, nelle fasce d'età 15-49 anni e 50-64 anni, il sottotipo A(H1N1pdm09) è risultato prevalente.

In considerazione della netta prevalenza del tipo B nel corso della stagione 2017-2018, stagione caratterizzata da *mismatch* rispetto al ceppo vaccinale B, e al fine di meglio dettagliare l'andamento della distribuzione dei ceppi B nel corso delle ultime 9 stagioni influenzali, è stata condotta un'analisi più approfondita a partire dalla stagione d'avvio della pandemia 2009 (Figura 6). Questa analisi è stata condotta nell'ambito di un progetto coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità dal titolo “*Co-circulation of the two influenza B lineages in Italy during years 2005-2015 and its impact on vaccination policy*” a cui la regione Puglia ha partecipato e i cui risultati sono in corso di pubblicazione.

Dall'analisi dei dati emerge come in Puglia, tra le stagioni in cui i ceppi B hanno circolato con una prevalenza maggiore del 20% (stagioni 2012-2013, 2015-2016 e 2017-2018), in ben due di esse è stato osservato il fenomeno del *mismatch* rispetto al ceppo contenuto nel vaccino (stagioni 2015-2016 e 2017-2018). Lo stesso fenomeno è stato osservato nella stagione 2016-2017 anche se la prevalenza dei ceppi B è stata molto contenuta.

Nel corso della stagione influenzale appena trascorsa, sono stati caratterizzati, mediante sequenziamento nel gene dell'emagglutinina (HA), ben 73 ceppi influenzali (2 H3, 36 H1 e 35 B). Parte delle sequenze sono state inviate al centro di riferimento nazionale presso l'ISS che ha provveduto a costruire alberi filogenetici che mostrano le relazioni dei ceppi isolati in Italia nel corso della stagione, compresi quelli pugliesi (evidenziati con il riquadro blu scuro), in relazione ai ceppi vaccinali della stagione appena trascorsa e a quelli che verranno utilizzati per l'allestimento dei vaccini per la prossima stagione influenzale secondo le raccomandazioni dell'OMS.

Per quanto riguarda i virus influenzali A(H1N1)pdm09, le analisi filogenetiche in HA (Figura 7) hanno evidenziato l'appartenenza al sottogruppo genetico 6B.1, caratterizzato dalle variazioni



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

Policlinico – P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENDA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

aminoacidiche S84N, S162N e I216T, con la quasi totalità dei ceppi che presentavano anche le seguenti mutazioni aggiuntive: S74R, S164T e I295V. Molti virus, tra cui alcuni ceppi pugliesi, erano inoltre caratterizzati dalla mutazione T120A.

Per quanto riguarda i ceppi A(H3N2), l'analisi filogenetica, non mostrata per l'esiguità dei campioni caratterizzati (2), ha evidenziato la circolazione di ceppi appartenenti al sottogruppo genetico 3C.2a (ceppo di riferimento Hong Kong/4801/2014), uno dei quali apparteneva al subclade 3C.2a1 (ceppo di riferimento A/Singapore/INFMH160019/2016), nuovo ceppo vaccinale per la stagione 2018-2019 dell'emisfero nord.

Per quanto riguarda le sequenze di HA dei ceppi B (Figura 8), le analisi hanno evidenziato la predominanza di ceppi B Yamagata del *clade* 3 (ceppo di riferimento B/Phuket/3073/2013). Tutti i ceppi pugliesi, così come la gran parte dei ceppi italiani, erano caratterizzati da 2 sostituzioni aminoacidiche in HA1 (L172Q e M251V) rispetto al ceppo B/Phuket/3073/2013. Non è stato isolato nessun ceppo Victoria in Puglia. È da rilevare però che in Italia, i pochi ceppi caratterizzati appartenenti a questo lineaggio appartenevano al *clade* 1A-2Del, emerso nel 2017 (ceppi di riferimento: B/Norway/2409/2017 e B/Colorado/06/2017, quest'ultimo incluso nella formulazione vaccinale trivalente per la stagione 2018-2019 nell'emisfero nord). (1)

Considerazioni: La stagione 2017-2018 è stata caratterizzata da una prevalente circolazione di ceppi di tipo B del lineaggio Yamagata, con estesi focolai epidemici che hanno interessato anche

¹ Per la stagione influenzale 2018-2019 le raccomandazioni sulla composizione vaccinale sono:

-Per il vaccino trivalente:

A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09-like virus;
A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2)-like virus
B/Colorado/06/2017-like virus (B/Victoria/2/87 lineage)

-Per il vaccino quadrivalente anche:

B/Phuket/3073/2013-like virus (B/Yamagata/16/88 lineage)

Il vaccino per la stagione 2018/2019 conterrà una nuova variante antigenica di sottotipo A(H3N2) che sostituisce il ceppo A/HongKong/4801/2014, ed una nuova variante antigenica di tipo B, lineaggio B/Victoria, che sostituirà il ceppo B/Brisbane/60/2008



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

Policlinico – P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENZA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

adulti e anziani. In particolare, in Puglia, così come a livello nazionale, si è registrato un elevato numero di casi gravi e complicati sostenuti da virus B in soggetti ultra 65enni. In questa fascia d'età si è dunque verificato un notevole *mismatch* per quanto riguarda il vaccino trivalente, utilizzato nella formula adiuvata.

Studi di costo-efficacia hanno dimostrato che la somministrazione del vaccino antinfluenzale (trivalente, trivalente adiuvato, trivalente intradermico, quadrivalente) rispetto alla non vaccinazione comporta sempre un vantaggio, sia in termini di salute che in termini di impatto economico (Capri et al. 2018). Tuttavia, dalla valutazione effettuata da Barbieri et al. (2017), l'utilizzo del vaccino quadrivalente in soggetti 65-74enni a basso rischio è risultato essere associato ad un sostanziale beneficio non solo in termini di salute ma anche in termini di risparmio di risorse finanziarie. Questa indicazione è supportata anche dalla dimostrazione che la somministrazione del vaccino quadrivalente induce una risposta immunitaria considerata protettiva secondo i criteri EMA anche negli ultra 65enni (Montomoli 2018). Dall'analisi effettuata da Capri et al. (2018), al contrario, l'utilizzo del vaccino trivalente intradermico e del quadrivalente negli ultra 65enni comporterebbe costi maggiori e minori benefici in termini di salute rispetto all'utilizzo del vaccino trivalente adiuvato. Questo lavoro, tuttavia, non prende in considerazione quanto avvenuto nell'ultima stagione influenzale, caratterizzata da una predominante circolazione di virus B-Yamagata (non presente nella formulazione trivalente per la stagione 2017-2018) che ha determinato un'elevata quota di casi gravi nella popolazione degli ultra 65enni.



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

Policlinico – P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENZA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

Riferimenti bibliografici essenziali

1. Barbieri M, Capri S, Waure C, Boccalini S, Panatto D. Age- and risk-related appropriateness of the use of available influenza vaccines in the Italian elderly population is advantageous: results from a budget impact analysis. *J Prev Med Hyg.* 2017 Dec 30;58(4):E279-E287
2. Capri S, Barbieri M, de Waure C, Boccalini S, Panatto D. Cost-effectiveness analysis of different seasonal influenza vaccines in the elderly Italian population. *Hum Vaccin Immunother.* 2018 Feb 9:1-11
3. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2018/03/WC500246403.pdf
4. Mennini FS, Bini C, Marcellusi A, Rinaldi A, Franco E. Cost-effectiveness of switching from trivalent to quadrivalent inactivated influenza vaccines for the at-risk population in Italy. *Hum Vaccin Immunother.* 2018 Apr 30:0
5. Montomoli E, Torelli A, Manini I, Gianchecchi E. Immunogenicity and Safety of the New Inactivated Quadrivalent Influenza Vaccine Vaxigrip Tetra: Preliminary Results in Children ≥ 6 Months and Older Adults. *Vaccines (Basel).* 2018 Mar 8;6(1)
6. Osservatorio Epidemiologico Regione Puglia - Report finale stagione influenzale 2017-2018
7. Rapporto della Sorveglianza Virologica dell'Influenza n.24 del 2 maggio 2018. http://www.salute.gov.it/portale/temi/documenti/virologica/AggVir_02-05-18.pdf



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

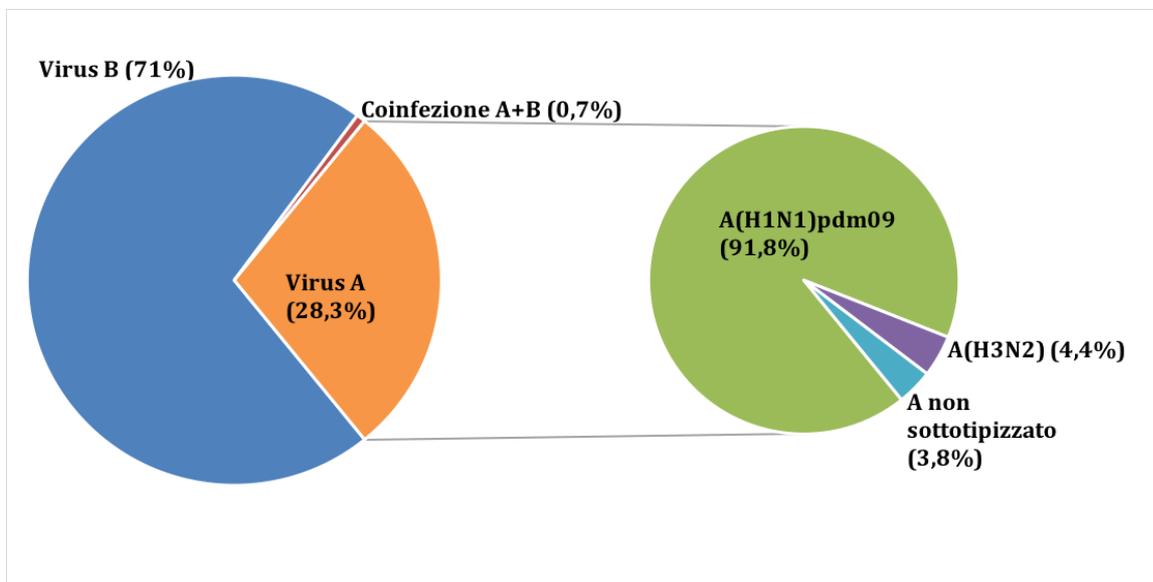
Policlinico - P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENDA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

Figura 1. Distribuzione dei campioni positivi per influenza per tipo e sottotipo, Puglia, stagione 2017-2018





UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

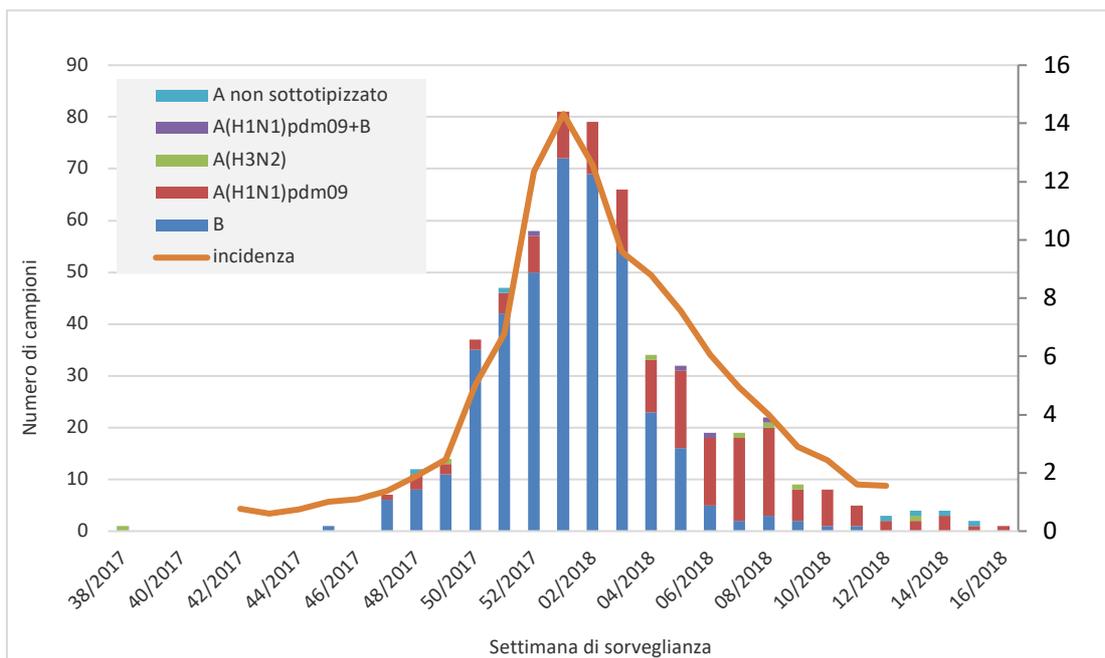
Policlinico - P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENDA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

Figura 2. Andamento settimanale dei campioni positivi per tipo/sottotipo e incidenza delle ILI (influenza-like illness), Puglia, stagione 2017-2018





UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

Policlinico – P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENZA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

Tabella 1. Distribuzione dei ceppi influenzali caratterizzati per tipo/sottotipo/lineaggio, Puglia, stagione 2017-2018

| Ceppi virali | N. totale |
|-----------------------------|-----------|
| A | 2 |
| A(H1N1)pdm09 | 145 |
| A(H3N2) | 7 |
| A non sottotipizzati | 6 |
| (bassa carica virale) | |
| B | 401 |
| Lineaggio Yamagata | 269 |
| Non tipizzati | 132 |
| A(H1N1pdm09) + B | 4 |
| Totale complessivo | 565 |

Tabella 2. Casi gravi e complicati di influenza aggiornati al 3 maggio 2018, per caratteristiche dei pazienti, Puglia, stagione 2017-2018

| | |
|------------------------------------|---------------------------------|
| N° casi gravi e complicati | 50 |
| Età media (anni) | 64,8±14,1 (range = 27,0 – 94,0) |
| Genere | |
| • Maschi | 30 (60,0%) |
| • Femmine | 20 (40,0%) |
| Vaccinati | 9 (18,0%) |
| ECMO | 5 (10,0%) |
| Virus influenzale | |
| • A/H1N1pdm09 | 25 (50,0%) |
| • B/Yamagata | 20 (40,0%) |
| • B | 4 (8,0%) |
| • A/H3N2 | 1 (2,0%) |
| N° soggetti con comorbilità | 46 (94,0%) |
| Tasso di letalità | 52,0% (n=26) |



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

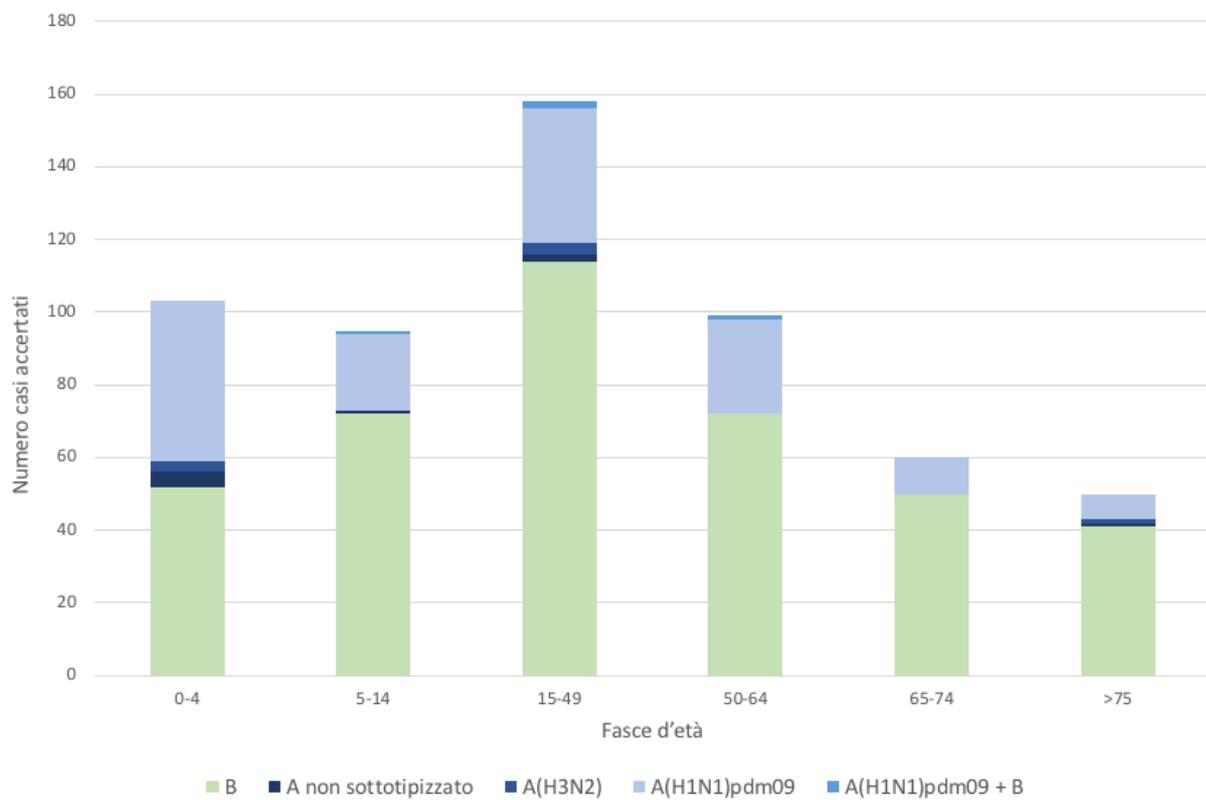
Policlinico - P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENDA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

Figura 3. Distribuzione dei tipi/sottotipi di virus influenzali per fasce d'età, Puglia, stagione 2017-2018





UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

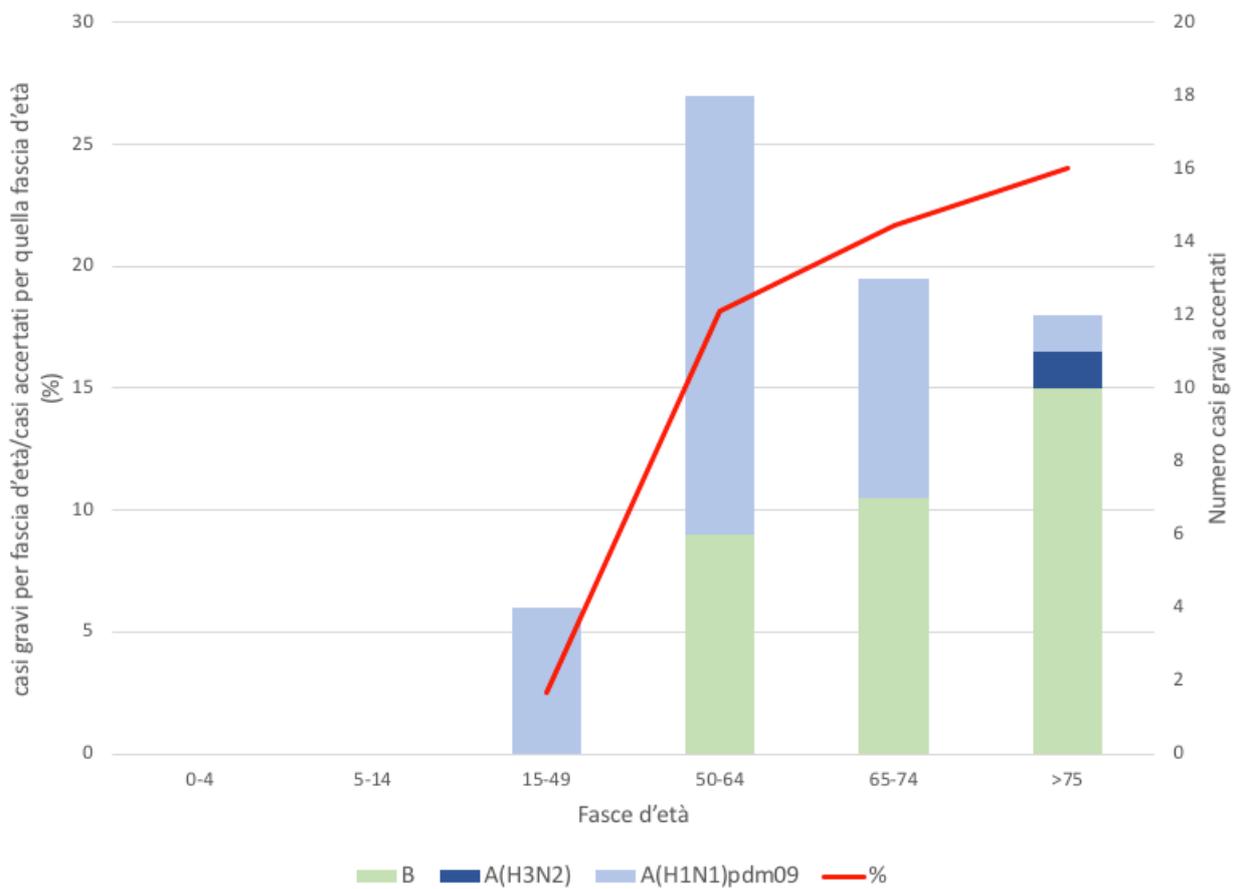
Policlinico – P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENZA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

Figura 4. Distribuzione dei casi gravi e complicati di influenza per fasce d'età e tipo di virus identificato e proporzione di casi gravi per fasce d'età, Puglia, stagione 2017-2018





UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

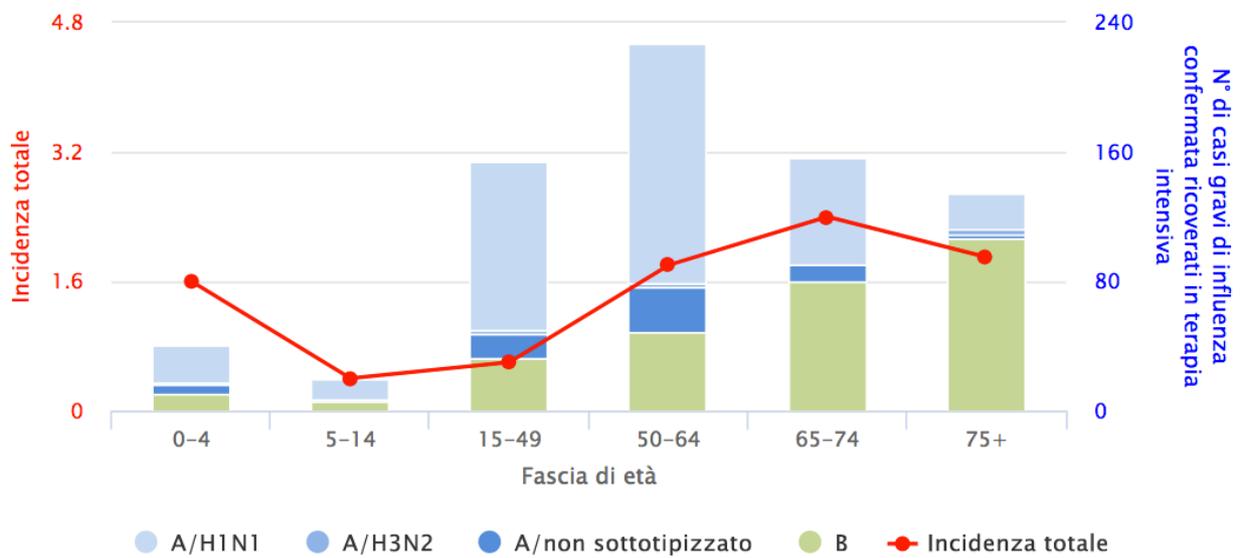
Policlinico - P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENDA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

Figura 5. Distribuzione dei casi gravi e complicati di influenza confermata per fascia di età e tipo di virus isolato in Italia, stagione 2017-2018





UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

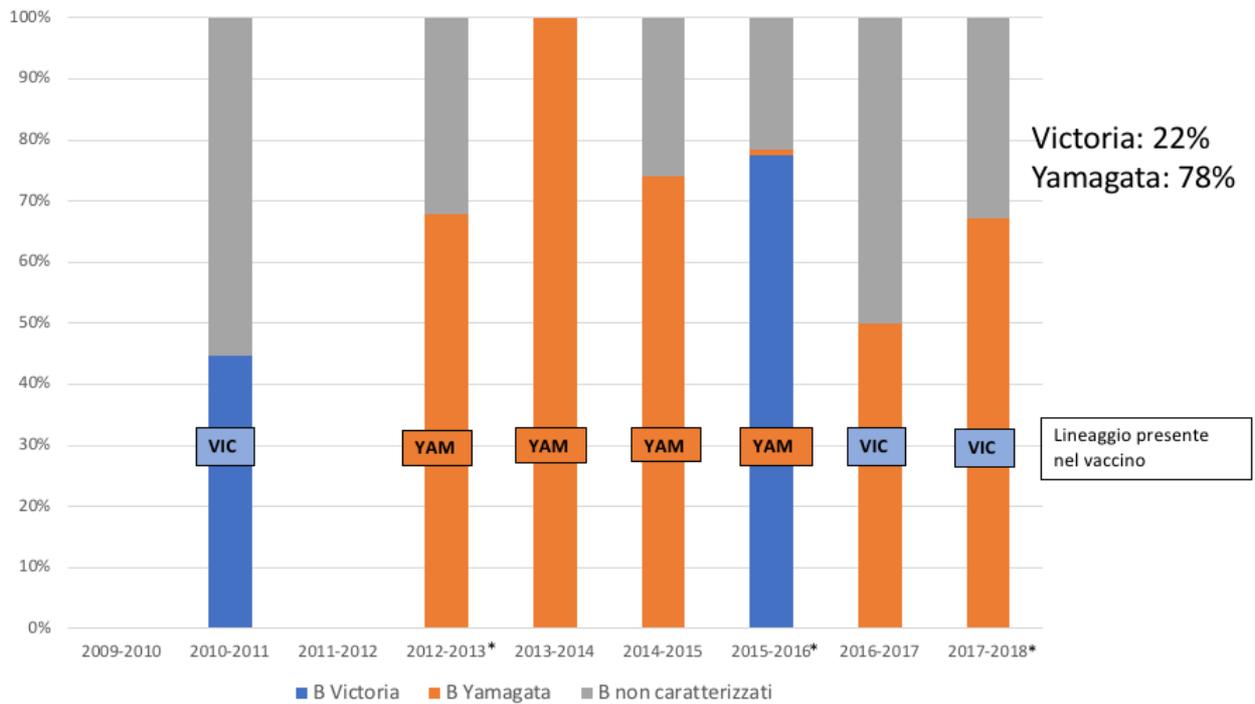
Policlinico - P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENDA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

Figura 6. Proporzione dei due lineaggi B in Puglia, stagioni 2009-2018



*Stagioni con >20% delle infezioni influenzali causate da ceppi B



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

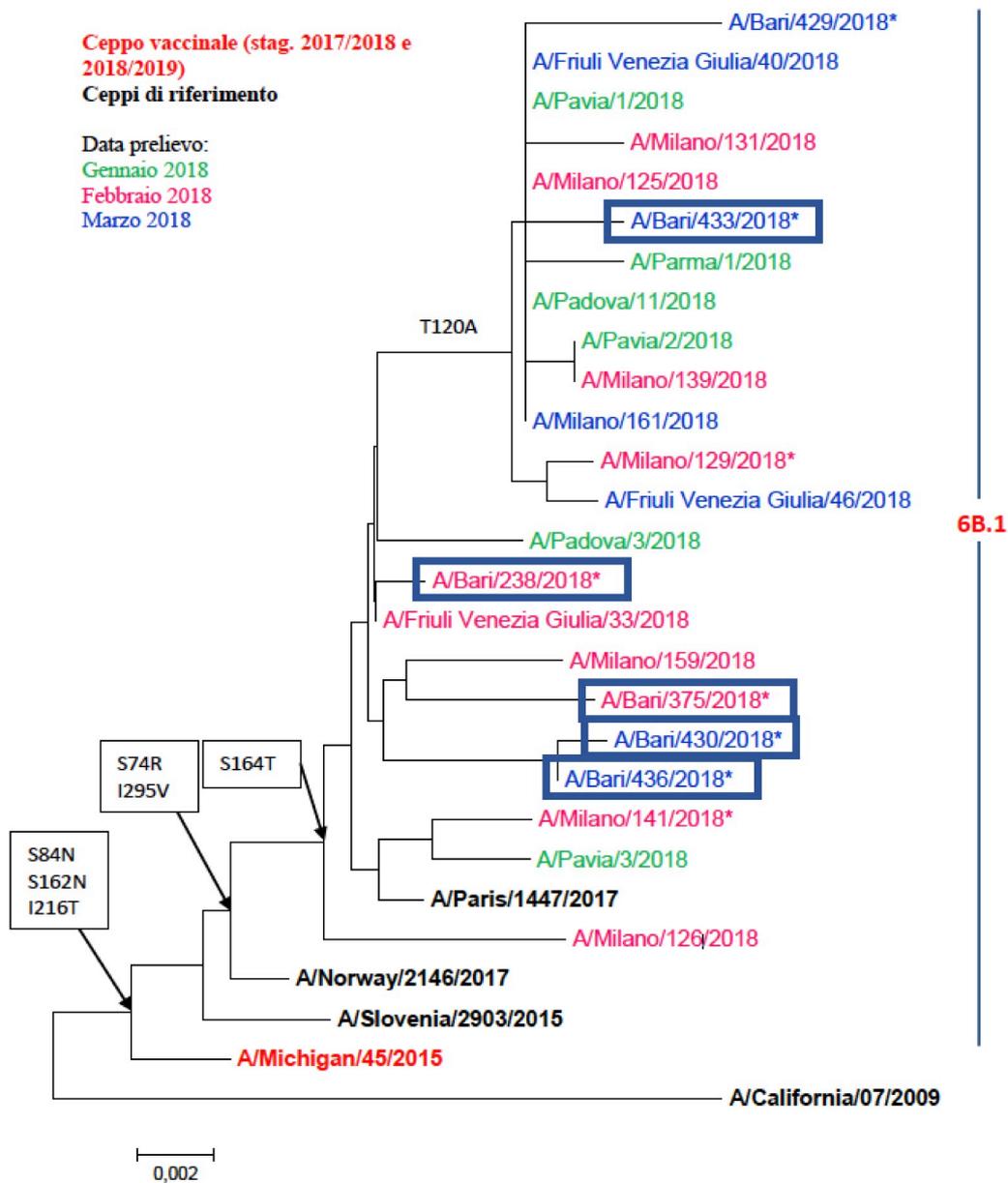
Policlinico - P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENDA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

Figura 7. Analisi filogenetica relativa al gene HA di un numero rappresentativo di virus A(H1N1)pdm09 in Italia, stagione 2017-2018





UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

ED ONCOLOGIA UMANA

SEZIONE DI IGIENE

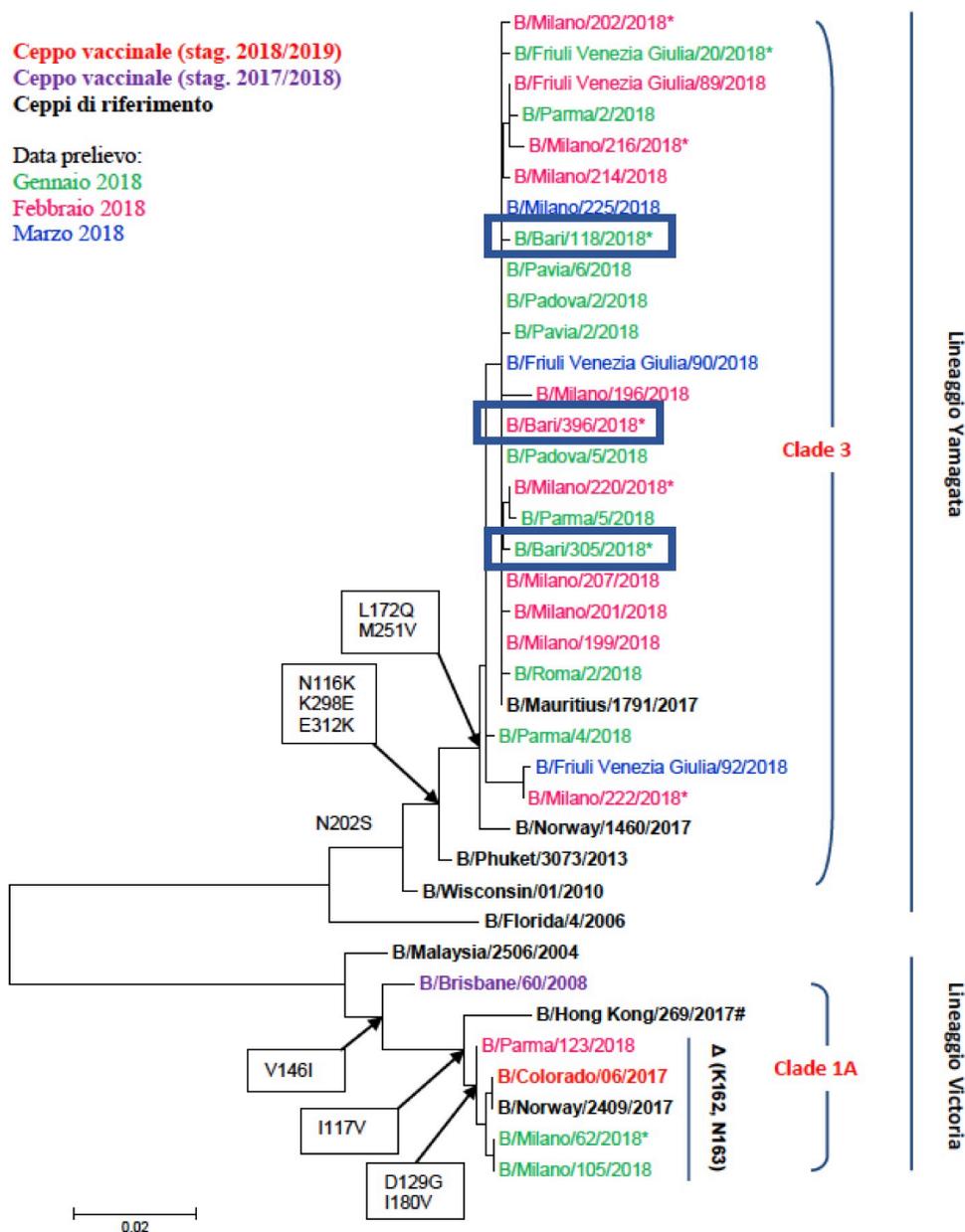
Policlinico - P.zza G. Cesare, 70124 BARI
Tel. 0805592328/Fax 080 5478472

U.O. IGIENE

AZIENDA OSPEDALIERO-
UNIVERSITARIO
POLICLINICO DI BARI

(Direttore: Prof. Michele Quarto)

Figura 8. Analisi filogenetica relativa al gene HA di un numero rappresentativo di virus B in Italia, stagione 2017-2018



*: sequenza ottenuta presso il laboratorio regionale; Δ(K162, N163): presenza di delezione di 2 aminoacidi in posizione 162, 163
#: presenza della delezione di 3 aminoacidi in posizione 162, 163 e 164 (Δ (K162, N163, D164))