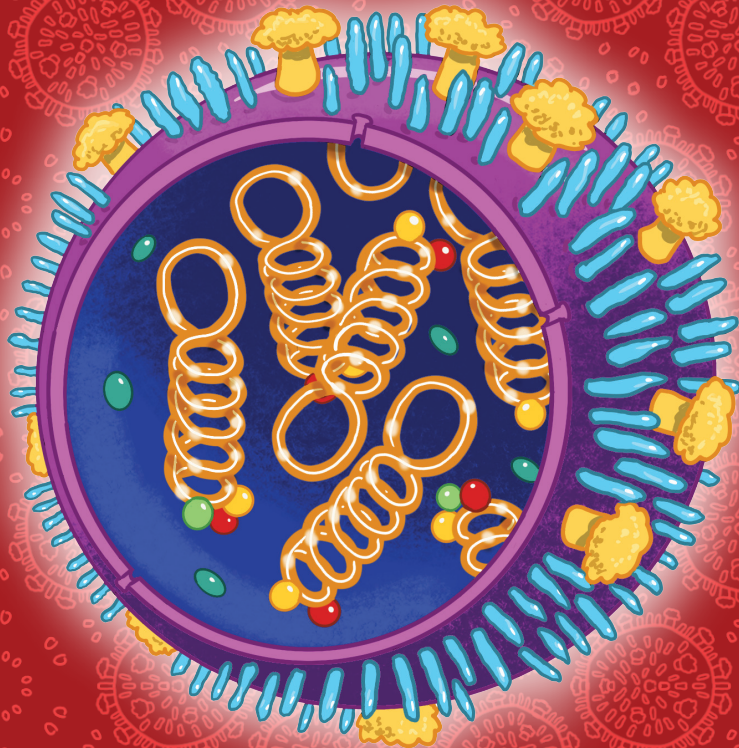


I VIRUS DELL'INFLUENZA

UNA SFIDA PER IL SISTEMA IMMUNITARIO
E PER LA MEDICINA ALLA LUCE DELL'EVOLUZIONE



TERESA NOGUEIRA • RITA PONCE

Originariamente pubblicata in portoghese
"Vírus da Gripe: Desafios do Sistema Imunitário e da Medicina à Luz da Evolução", 2019,
questa pubblicazione è finanziata da APBE - Associação Portuguesa de Biologia Evolutiva



Teresa Nogueira

Biologa, Ph.D. in microbiologia all'Università di Parigi Sud-XI (Francia). Ricercatrice nel campo della genomica microbica all'INIAV - *Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária* e al cE3c - *Centro de Ecologia, Evolução e Alterações Ambientais* dell'Universidade de Lisboa (Portogallo).



Rita Ponce

Biologa, Ph.D. in Genetica all'Università di Lisbona e Master in Comunicazione Scientifica all'Università di Nova de Lisboa (Portogallo). È insegnante presso *Escola Superior de Saúde de Instituto Politécnico de Setúbal* (Portogallo) e comunicatrice scientifica.

Le autrici hanno dato un contributo uguale per la realizzazione di questo lavoro

Design: Alexandre Algarvio

Questa pubblicazione è il frutto dell'attività realizzata nell'ambito della COST Action "EuroCitizen - Building on scientific literacy in Evolution towards scientifically responsible Europeans", finanziata da COST (European Cooperation in Science and Technology).

COST (European Cooperation in Science and Technology) è un'agenzia che finanzia le reti di ricerca e innovazione. Le "Action" contribuiscono a mettere in rete iniziative di ricerca in tutta Europa e consentono alla comunità scientifica di far sviluppare le proprie idee condividendole con colleghi e colleghe. In questo modo viene dato impulso alla loro ricerca, alla loro carriera e all'innovazione.

www.cost.eu



Traduzione e revisione scientifica:



Lucia Martinelli

Biologa, Ph.D. in genetica agraria all'Università di Wageningn (Olanda) e un master in comunicazione e giornalismo scientifico, è ricercatrice senior al MUSE – Museo delle scienze di Trento.

Autrici: Teresa Nogueira e Rita Ponce.

Revisione científica: João Piedade - Instituto de Higiene Tropical (IHMT), Universidade Nova de Lisboa.

Traduzione, adattamento alla versione italiana e revisione scientifica della versione italiana: Lucia Martinelli, MUSE - Museo delle Scienze, Trento, Italia

Design: Alexandre Algarvio



I VIRUS DELL'INFLUENZA:

UNA SFIDA PER IL SISTEMA IMMUNITARIO
E PER LA MEDICINA ALLA LUCE
DELL'EVOLUZIONE

L'INFLUENZA NELLA STORIA

Ogni anno, l'autunno e l'inverno arrivano con una nuova epidemia¹ di influenza. La stagionalità di questa malattia è spiegata considerando le condizioni climatiche prevalenti in questo periodo: maggiore umidità e temperature più basse, che favoriscono la diffusione dei virus che causano l'influenza. Inoltre, il fatto che si trascorra più tempo in ambienti chiusi, ne favorisce il contagio.

Nei paesi di lingua inglese, l'influenza è conosciuta come "the flu". L'etimologia di questo termine, che è anche usato per indicare il virus che provoca questa malattia (Influenza virus in inglese, virus dell'influenza, in italiano), proviene dall'italiano "influenza". La malattia fu così chiamata perché i medici medievali, avendo identificato la sua stagionalità, credevano che fosse soggetta all'influenza degli astri.

¹ Epidemia: la comparsa e la rapida diffusione di una malattia contagiosa in una certa area geografica; sinonimo di epidemico.

Benché le epidemie di influenza si verificano ogni anno, alcune di esse causano un maggior numero di persone infette e casi più gravi. A volte si verificano epidemie a livello globale, definite “pandemie”. Ne è un esempio la terribile pandemia del 1918 (conosciuta anche come “influenza spagnola”) che causò la morte prevalentemente di giovani adulti durante la prima guerra mondiale. Altri esempi sono la pandemia del 1957-1958 (nota anche come “influenza asiatica”), la pandemia del 1968 (nota anche come “influenza di Hong Kong”) e la più recente pandemia del 2009.

La pandemia del 1918 fu una delle più funeste mai registrate. Si stima che 500 milioni di persone ne furono infettate (1/3 della popolazione mondiale dell’epoca) e che provocò la morte di almeno 50 milioni di persone² tra la primavera del 1918 e l’inverno del 1919. La pandemia emerse alla fine della prima guerra mondiale. La Spagna, che aveva scelto la neutralità, era l’unico paese dove i giornalisti corrispondenti potevano scrivere liberamente in merito alla malattia. Per questo fatto fu denominata “influenza spagnola”, benché non avesse origine in Spagna. Non è ancora chiaro dove sia originata questa pandemia: il Nord Europa, la Francia, la Cina e gli Stati Uniti hanno avuto focolai prima che in altre parti del mondo.

² Per fare una proporzione, consideriamo che la popolazione italiana al 1° gennaio 2021 conta 59.258.000 persone

La pandemia del 1918 fu anche insolita poiché la maggior parte dei decessi avvenne tra i giovani adulti di età compresa tra i 20 e i 40 anni, piuttosto che tra i gruppi più vulnerabili come i bambini e le persone anziane. Ora sappiamo che la pandemia è stata provocata da un ceppo H1N1 e ricerche sono tuttora in corso per scoprire perché questo ceppo sia stato così tanto letale.

La pandemia del 1957-1958 iniziò nel 1957 in Asia orientale e fu responsabile di uno o due milioni di morti in tutto il mondo. Questa epidemia è stata causata da un ceppo H2N2 derivato da una combinazione di genomi di ceppi di virus umani e aviari. La pandemia del 1968 ebbe origine a Hong Kong e fu causata da un nuovo ceppo - H3N2 - che, come la precedente pandemia, proveniva da un riassortimento di segmenti del genoma virale. Si stima che un milione di persone siano morte per questa pandemia. Un'altra pandemia si è verificata nel 2009, questa volta causata dal nuovo ceppo H1N1 che conteneva materiale genetico di ceppi di influenza umana, aviaria e suina e, anche se meno mortale dell'influenza spagnola, si è dimostrata altamente contagiosa.

Alcuni ceppi di virus dell'influenza infettano specie aviarie come polli e anatre, e mammiferi come maiali, cavalli, gatti, balene e foche.

Questi ceppi posseggono caratteristiche che li rendono specifici per queste specie, anche se nel tempo possono subire mutazioni che permettono loro di infettare nuove specie ospiti.

I virus dell'influenza mutano - si evolvono - rapidamente. Queste modifiche possono avvenire mediante l'accumulo di piccole mutazioni genetiche all'interno di un singolo ceppo o attraverso riassortimenti di materiale genetico tra ceppi diversi. Ciò è possibile poiché il genoma di questi virus è segmentato.

Attualmente la ricerca è concentrata sull'origine e le cause degli effetti più dannosi di alcuni ceppi più aggressivi, e sta cercando di dare risposte in merito all'evoluzione genomica di questi virus.

I VIRUS DELL'INFLUENZA

STRUTTURA E ORGANIZZAZIONE

L'influenza è una malattia respiratoria acuta, di solito lieve, ma che può comunque avere un grande impatto in termini di salute pubblica, in termini di morbilità e mortalità e in termini di impatto sull'economia sanitaria. La malattia è causata da virus della famiglia Orthomyxoviridae. Sono noti quattro specie di virus dell'influenza, di cui almeno tre (*Alphainfluenzavirus*, *Betainfluenzavirus* e *Gammainfluenzavirus*) possono causare l'influenza negli umani, con frequenza e gravità variabili.

I virus sono particelle composte da materiale genetico (DNA o RNA) avvolto da un capsido prevalentemente di natura proteica. I virus sono inerti al di fuori delle cellule viventi, ma in alcuni casi possono rimanere nell'ambiente per lunghi periodi di tempo, come avviene per le spore e i semi di alcune specie viventi. Tuttavia, quando i virus penetrano nelle cellule ospiti, si comportano come parassiti intracellulari, sfruttando il "macchinario" cellulare per sintetizzare nuove particelle virali - la progenie virale.

I virus della famiglia *Orthomyxoviridae* posseggono un nucleocapside a simmetria elicoidale e un genoma a RNA a singolo filamento a polarità negativa non codificante. Il genoma virale è suddiviso in sei-otto segmenti, ciascuno codificante per una o due proteine virali.

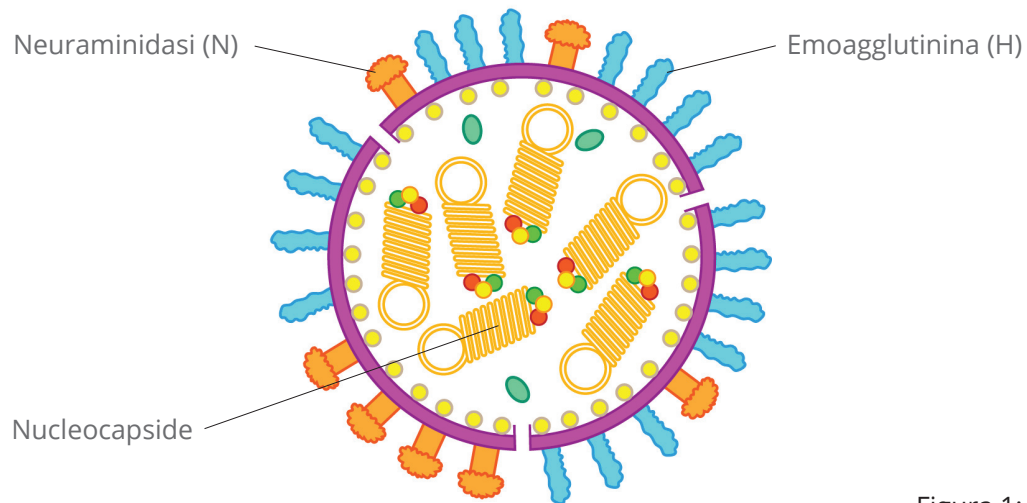


Figura 1:
Struttura dei virus dell'influenza

Ciascun segmento di RNA è impacchettato con proteine virali per formare nucleocapsidi strutturalmente indipendenti (otto nel caso del virus dell'influenza A). Una di queste proteine virali è l'enzima RNA polimerasi RNA-dipendente, enzima essenziale per la replicazione del virus perché permette la sintesi di nuove molecole di RNA usando il genoma virale come "templato" (modello). Questa funzione è specifica dei virus con genoma a RNA.

Le particelle virali sono pleomorfe, cioè possono avere forme diverse: possono essere sferiche con un diametro di 100 nm o filamentose con una lunghezza da 80 a 120 nm. Sono inoltre ricoperte da un involucro virale di natura lipidica che proviene dalla cellula ospite infettata e che è cosparso sulla superficie esterna da due glicoproteine di origine virale: l'emoagglutinina e la neuraminidasi. Queste formano strutture (spicole) che sporgono dalla superficie della particella virale per circa 10 nm e giocano un ruolo cruciale nel ciclo replicativo e nella patogenesi virale. Funzionano come importanti antigeni di superficie, responsabili della variabilità antigenica virale e dell'immunità dell'ospite.

Esistono almeno tre tipi di virus dell'influenza che possono provocare patologie negli esseri umani: i tipi A, B e C. I virus dell'influenza A e B sono i più comuni e i più epidemici. Il tipo B può mostrare qualche variabilità antigenica ed è solitamente responsabile di epidemie stagionali, mentre il tipo C è antigenicamente stabile e provoca solo una patologia lieve in individui immunocompromessi.

I virus influenzali di tipo A, in particolare, provocano malattie da moderate a gravi e possono anche essere trasmessi ad altri animali. Sono anche antigenicamente molto variabili e responsabili della maggior parte dei casi di influenza e delle pandemie. Sono suddivisi in sottotipi, quali influenza A H1N1, H3N2, H5N1 o H7N9, denominazioni che indicano le diverse forme molecolari di emoagglutinina (H) e di neuraminidasi (N) e le loro combinazioni sulla superficie delle particelle virali.

L'emoagglutinina è una glicoproteina ancorata all'involucro virale. Permette il riconoscimento e il legame specifico all'acido sialico, un recettore presente sulla superficie delle membrane cellulari epiteliali del sistema respiratorio o del tratto gastrointestinale (anche se raramente, infatti, alcuni virus influenzali inducono patologie gastrointestinali). La funzione principale dell'emoagglutinina è

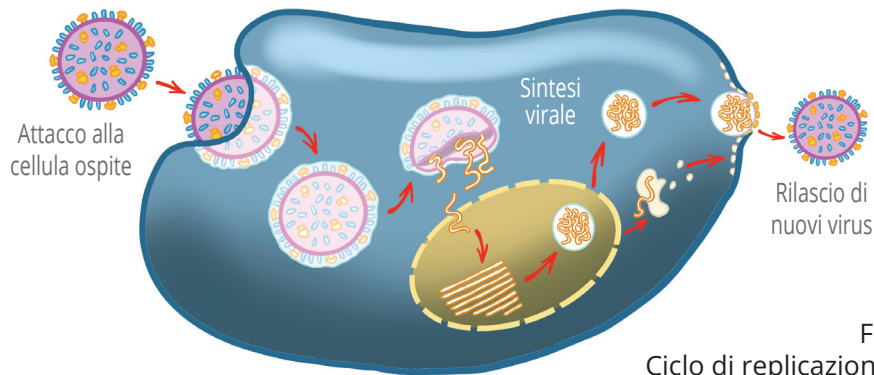
legare i virus ai recettori della cellula ospite. Il nome deriva dai primi test per i virus dell'influenza in cui i globuli rossi si agglutinano (si ammassano). I diversi sottotipi sono numerati da H1 a H15, e non tutti sono specifici per le cellule umane.

Anche la neuraminidasi, l'altra proteina presente sulla superficie esterna dell'involucro virale, riconosce l'acido sialico della cellula ospite. Per la sua capacità di degradarlo, gioca un ruolo molto importante nel rilascio di nuove particelle virali durante il ciclo replicativo del virus. I diversi sottotipi sono numerati da N1 a N9.

IL CICLO DELLA REPLICAZIONE VIRALE

I virus sono particelle di dimensioni molto inferiori rispetto a quelle delle cellule. Una particella virale, o virione, entrata in una cellula ospite, inizia il ciclo di replicazione virale, che consiste nella sintesi di tutte le molecole necessarie per generare nuovi virioni. Per questo i virus sono detti parassiti intracellulari obbligati.

Il ciclo della replicazione dei virus dell'influenza inizia con l'adesione dei virioni alla cellula ospite. Questo processo avviene mediante spicole di emoagglutinina ancorate all'involucro virale di origine lipidica, che si legano ai recettori di acido sialico presenti sulla superficie della cellula ospite. Dopo l'adesione, grazie alla componente lipidica, i virus vengono internalizzati e i nucleocapsidi contenenti le molecole di RNA vengono rilasciati nel citosol.



Secondo un principio fondamentale della biologia molecolare, l'informazione genetica è trasmessa dal DNA all'RNA e dall'RNA alle proteine attraverso i meccanismi molecolari, rispettivamente, della trascrizione e della traduzione. Tuttavia, ci sono eccezioni a questa direzione del flusso di informazioni genetiche, come nel caso di alcuni virus, come quelli dell'influenza. Poiché i virus dell'influenza sono virus a RNA a polarità negativa non codificanti, il genoma virale funge solo da "templato" (modello) per la sintesi del filamento complementare codificante. La trascrizione in RNA messaggero virale, che serve come template per la traduzione in proteine virali, avviene nel nucleo dell'ospite grazie all'enzima RNA polimerasi RNA-dipendente presente nel virione, associata al suo nucleocapside.

Affinché la replicazione avvenga e affinché nuovi filamenti di RNA a polarità negativa siano sintetizzati e incapsulati per originare nuovi virioni, occorre che per ciascuno dei segmenti del genoma sia sintetizzato un intermedio replicativo a polarità positiva. Durante questa fase, il tasso di mutazione è relativamente alto.

Questi RNA virali appena sintetizzati e le proteine virali prodotte dall'RNA messaggero nel citosol cellulare si localizzano verso la membrana cellulare dove vengono assemblate le nuove particelle virali per poi essere rilasciate.

L'INFLUENZA

L'influenza è un'infezione respiratoria che si diffonde nella popolazione durante l'inverno.

Quando una persona infetta tossisce o starnutisce, milioni di particelle di virus vengono rilasciate nell'ambiente mediante goccioline e aerosol che possono essere trasportati dall'aria e depositarsi sulle superfici. Gli ambienti scarsamente ventilati permettono a queste particelle di persistere nell'aria ed essere inalate da altre persone. La trasmissione può avvenire anche attraverso il contatto con superfici contaminate.

In ambienti potenzialmente contaminati, il lavaggio frequente delle mani e la ventilazione sono quindi misure essenziali contro la trasmissione e il contagio.

Quando le particelle del virus entrano in contatto con la mucosa del tratto respiratorio superiore, esse iniziano il ciclo di replicazione e la diffusione, consentendo ad alcuni virioni di raggiungere i polmoni. I primi sintomi della malattia compaiono entro quattro giorni dall'infezione virale (periodo di incubazione). La gravità della malattia varia da persona a persona, a seconda della risposta del sistema immunitario individuale.

L'infezione e l'infiammazione indotte dal virus portano a cambiamenti nel funzionamento dell'epitelio del sistema respiratorio, che a sua volta porta allo sviluppo di infezioni opportunistiche secondarie potenzialmente fatali, come la polmonite batterica causata da *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* o *Haemophilus influenzae*.

Mentre la terapia antibiotica è giustificata solo in caso di infezione batterica secondaria, l'Eurobarometro 2013 aveva rilevato che in Europa il 40% delle persone crede erroneamente che gli antibiotici siano efficaci contro influenza e raffreddore.

L'influenza è spesso confusa con il comune raffreddore poiché le due patologie condividono alcuni dei loro sintomi più comuni, come naso chiuso, starnuti, mal di gola e tosse. Tuttavia, esse sono il risultato di infezioni del tratto respiratorio provocate da virus differenti.

Un raffreddore è un'infezione delle vie respiratorie superiori, nota anche come rinofaringite, che può progredire in un'infezione dell'orecchio. L'influenza, invece, è caratterizzata da una comparsa improvvisa di malessere, febbre alta accompagnata da mal di testa, dolori muscolari o al corpo e tosse secca. È una malattia che può colpire sia il tratto respiratorio superiore che quello inferiore, causando eventualmente polmonite, così come sintomi gastrointestinali.

L'EVOLUZIONE DEI VIRUS DELL'INFLUENZA

(ECOLOGIA)

I virus dell'influenza sono un ottimo modello per studiare i meccanismi dell'evoluzione. La variabilità genetica è la "materia prima" dell'evoluzione. I virus dell'influenza si evolvono rapidamente e hanno un alto grado di diversità genetica. Durante le generazioni successive, i virus dell'influenza modificano il genoma attraverso due meccanismi: la deriva antigenica e lo spostamento antigenico (con il riassortimento dei segmenti del genoma). Le nuove varianti possono consentire ai virus di sfuggire all'azione del sistema immunitario, ottenendo così un vantaggio adattativo. Queste nuove varianti possono quindi persistere e diffondersi tra le popolazioni ospiti suscettibili.

DERIVA ANTIGENICA

La deriva antigenica riguarda mutazioni puntiformi che si accumulano nei geni che codificano per le proteine virali, in particolare quelle sulla superficie del virus coinvolte nell'adesione del virus alle cellule ospiti e riconosciute dagli anticorpi prodotti dal sistema immunitario.

Queste mutazioni avvengono durante la replicazione del materiale genetico del virus. Ogni volta che il materiale genetico viene replicato dall'azione della RNA polimerasi RNA-dipendente del virus, possono verificarsi errori di sintesi che danno luogo a mutazioni. Mentre la DNA polimerasi, l'enzima che sintetizza il DNA, ha la proprietà di effettuare correzioni (individuando errori durante la sintesi e correggendoli), la RNA polimerasi RNA-dipendente del virus non possiede questa proprietà. Ne consegue il verificarsi di molti più errori durante la replicazione del materiale genetico dei virus dell'influenza che, per esempio, durante la replicazione del nostro stesso materiale genetico.

Le mutazioni sono casuali e possono verificarsi ovunque nel genoma. Anche le conseguenze di queste mutazioni sono casuali: possono essere negative (come quando una proteina perde la sua

funzionalità), neutre (se non incidono sulla proteina, come nel caso delle sostituzioni sinonime) o positive (se conferiscono qualche tipo di vantaggio). Se queste mutazioni si verificano nei geni che codificano per le proteine di superficie, esse possono consentire al virus di diventare più infettivo e/o eludere l'immunità dell'ospite.

SPOSTAMENTO ANTIGENICO E RIASSORTIMENTO DEL GENOMA DEI VIRUS DELL'INFLUENZA

Un meccanismo molecolare che contribuisce alla rapida evoluzione dei virus dell'influenza è la riorganizzazione del genoma mediante il riassortimento dei suoi segmenti. Il genoma del virus A dell'influenza è suddiviso in otto segmenti, ciascuno codificante specificamente per una o due proteine/funzioni virali. Se una cellula ospite suscettibile viene infettata simultaneamente con almeno due varianti diverse di virus dell'influenza, i diversi segmenti dei genomi possono venir replicati simultaneamente. In questo processo, diversi nucleocapsidi di ceppi di virus geneticamente distinti vengono prodotti simultaneamente. Quando i nuovi virioni vengono rilasciati, in ogni virione possono venire incapsulate diverse combinazioni di nucleocapsidi. Ogni virione è formato da otto nucleocapsidi che compongono il genoma virale completo, quindi la loro origine può

essere diversa se ha luogo una riorganizzazione del genoma.

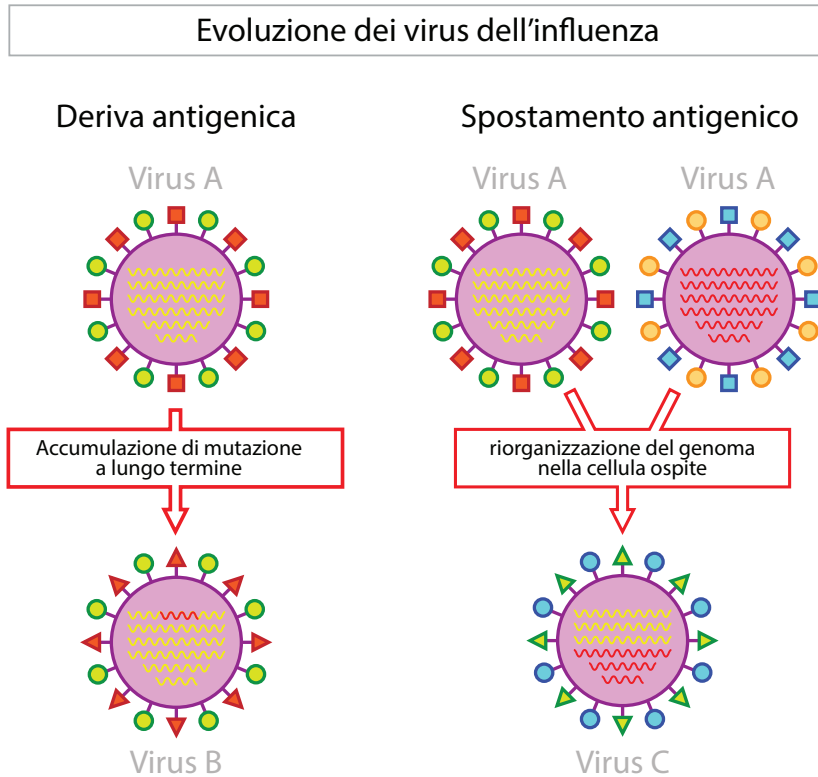


Figura 3:
I due meccanismi con cui i genomi del virus dell'influenza possono evolversi.

Questo meccanismo di riorganizzazione genomica avviene poichè alcuni animali possono infettarsi contemporaneamente con varianti diverse dei virus dell'influenza. I maiali, per esempio, sono suscettibili sia alle varianti virali umane sia a quelle aviarie. Così, quando le cellule epiteliali delle vie aeree suine vengono infettate simultaneamente con varianti diverse di virus, si possono formare nuovi virioni con combinazioni di materiale genetico da virus influenzali suini, umani e aviari.

Questo riassortimento dell'RNA genomico di varianti diverse dei virus dell'influenza può portare alla formazione di nuove combinazioni di proteine H e N. Se queste nuove proteine virali sono sufficientemente diverse da quelle in circolazione e non esiste ancora una protezione immunitaria contro di esse, una nuova variante può diffondersi rapidamente in una popolazione umana suscettibile a questa nuova forma virale. Inoltre, il riassortimento può anche produrre un ceppo più virulento. Tali riarrangiamenti dei genomi virali hanno portato alla pandemia del 1918 ("influenza spagnola"), alla pandemia del 1957-1958 ("influenza asiatica"), alla pandemia del 1968 ("influenza di Hong Kong") e all'influenza del 2009.

EPIDEMIOLOGIA E VACCINO ANTINFLUENZALE

Le epidemie di influenza si verificano di solito in autunno e in inverno. In Italia, il picco della stagione influenzale si verifica di solito in gennaio/febbraio. Dal momento che i virus mantengono la loro vitalità in condizioni di umidità (per la necessità di mantenere intatto l'involucro virale lipidico affinché possa avvenire l'infezione), le condizioni climatiche invernali, con maggiore umidità e temperature più basse, favoriscono la diffusione del virus. Inoltre, il nostro comportamento in inverno favorisce il contagio, poiché trascorriamo più tempo in casa e in spazi chiusi.

Uno studio negli Stati Uniti ha dimostrato che la durata delle epidemie di influenza nelle città sembra dipendere anche dalle caratteristiche delle città stesse. Nelle grandi città, con una maggiore densità di popolazione - un fattore che aumenta la trasmissione e il contagio - le stagioni dell'influenza tendono ad essere più lunghe e meno dipendenti dalle condizioni meteorologiche; mentre nelle città più piccole, le epidemie sono più brevi e più dipendenti dalle condizioni meteorologiche.

Le epidemie di influenza sono monitorate in tutto il mondo. L'identificazione dei ceppi circolanti e la valutazione dei loro effetti sulle popolazioni permettono di emettere informazioni di allerta e di sviluppare dei vaccini appropriati ogni anno. Questa sorveglianza ha luogo durante tutto l'anno, poiché la stagione dell'influenza nell'emisfero meridionale è in inverno mentre nell'emisfero settentrionale è in estate.

I VACCINI

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) raccomanda che alcuni gruppi sociali (il personale sanitario e le persone più a rischio di sviluppare gravi complicazioni dall'infezione influenzale) siano vaccinati contro l'influenza ogni anno, prima dell'inizio della stagione influenzale.

In Italia, per esempio, la Conferenza Stato-Regioni nella seduta del 25 gennaio 2021 ha sancito l'accordo, ai sensi dell'articolo 4 del decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281, tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano, sul Piano strategico-operativo nazionale di preparazione e risposta a una

pandemia influenzale (PanFlu 2021-2023, https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_3005_allegato.pdf). Il piano è stato predisposto sulla base delle raccomandazioni dell'OMS.

Poiché il picco della stagione influenzale si verifica generalmente durante i mesi di gennaio e febbraio, si consiglia di essere vaccinati in anticipo.

La preparazione del vaccino inizia quindi con largo anticipo. Il vaccino antinfluenzale, come altri vaccini, è composto da sostanze derivate o chimicamente simili a uno specifico agente infettivo³. Il vaccino induce una risposta immunitaria specifica per quell'agente infettivo come se la persona fosse stata infettata da esso (è per questo definito immunogenico), ma senza causare la patologia associata, poiché non contiene un agente infettivo in grado di replicarsi e quindi di provocare la malattia. Come tale, questa risposta immunitaria protegge dalle malattie. Se una persona vaccinata viene infettata, il suo sistema immunitario risponderà rapidamente ed efficacemente.

Mentre se per alcune malattie è sufficiente ammalarsi una sola volta per ottenere una protezione a vita verso esse, ammalarsi di

³ A seconda del vaccino, gli antigeni utilizzati e il metodo di produzione possono variare.

influenza una volta non ci impedisce di riammalarci l'anno successivo. Questo perché i virus dell'influenza subiscono mutazioni genetiche (mutazioni e riassortimenti) e i ceppi in circolazione cambiano di anno in anno. Per questo motivo, il vaccino antinfluenzale ha una composizione diversa ogni anno ed è progettato per proteggerci durante quell'anno specifico.

Sulla base dei ceppi virali circolanti e sull'andamento delle sindromi similinfluenzali (ILI) nel mondo, il Global Influenza Surveillance Network dell'OMS, in collaborazione con i National Influenza Centres (NIC) aggiorna ogni anno la composizione del vaccino antinfluenzale, per essere poi ripresa dal Ministero della Salute italiano con la circolare annuale.

Il processo di produzione, approvazione normativa e licenza del vaccino richiede 6-7 mesi, e il vaccino non è disponibile fino a settembre-ottobre.

Le raccomandazioni dell'OMS⁴ si basano sui ceppi in circolazione e sulla conoscenza ottenuta con la ricerca sulle dinamiche della popolazione del virus dell'influenza. Per esempio, nella stagione 2018-2019, la nuova composizione vaccinale del vaccino trivalente,

⁴Le raccomandazioni dell'OMS per gli emisferi nord e sud sono formulate separatamente e secondo un proprio calendario.

per l'emisfero settentrionale conteneva virus inattivati (o antigeni di superficie) dei seguenti ceppi^{5,6}:

- A/Michigan/45/2015 (H1N1) - presente anche nel vaccino 2017-2018
- A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) - nuova variante
- B/Colorado/06/2017 (lineaggio B/Victoria) - nuova variante.

Il vaccino quadrivalente, oltre ai ceppi presenti nel vaccino tetravalente, di cui sopra, includeva anche il ceppo virale B/Phuket/3073/2013-like (lineaggio B/Yamagata).

Per produrre i vari vaccini si utilizzano diversi metodi. Tra i metodi approvati per la produzione del vaccino antinfluenzale, il più comune è il "metodo dell'uovo". Questo comporta la moltiplicazione dei virus in uova di pollo embrionate e la successiva purificazione e inattivazione. Il processo inizia con la selezione dei ceppi bersaglio da includere nel vaccino. Le uova di gallina fecondate vengono inoculate con due ceppi di virus - un ceppo bersaglio e un altro ceppo

⁵ La nomenclatura dei ceppi di virus influenzali segue le convenzioni internazionali che indicano il tipo di antigene (A, B o C), l'ospite di origine se non umano, la regione geografica di origine, il numero del ceppo e l'anno di isolamento. Nel caso dei virus di tipo A, viene data anche la descrizione dell'emoagglutinina e della neuraminidasi (es. H1N1).

⁶ Le raccomandazioni per ogni anno sono disponibili sul sito web dell'OMS (www.who.int). Le informazioni sulla composizione del vaccino si trovano anche nel foglietto illustrativo nella confezione.

non patogeno per gli esseri umani, adattato alle uova, al cui interno si verifica un riassortimento di segmenti genomici dei due ceppi. Vengono quindi selezionati i virus che contengono i segmenti H e N del ceppo bersaglio e il resto del genoma (i restanti sei segmenti) del ceppo in grado di replicarsi efficientemente all'interno delle cellule di pollo. Questo nuovo ceppo viene prodotto in massa in uova di gallina fecondate, selezionato e inattivato e, dopo un'ulteriore purificazione, testato. Pur essendo affidabile, questo è un metodo lento e quindi inadeguato per rispondere a una richiesta elevata e/o per situazioni pandemiche. Ulteriori elementi presenti nella composizione finale del vaccino sono gli stabilizzatori per garantire la stabilità della soluzione durante la conservazione e gli adiuvanti, composti che potenziano la risposta immunitaria.

La capacità di un vaccino di proteggere dall'influenza dipende dalla corrispondenza tra i ceppi inclusi nel vaccino (basati su previsioni effettuate mesi prima) e i ceppi in circolazione nella comunità, e anche dalle caratteristiche dell'individuo vaccinato, quali età e stato di salute.

È in corso ricerca per sviluppare metodi di produzione più veloci e per vaccini "universali" che potrebbero fornire protezione contro tutti i ceppi di influenza.

IL GIOCO

UN VIRUS IN EVOLUZIONE

Lo scopo di questo gioco è for comprendere i meccanismi dell'evoluzione del genoma dei virus dell'influenza che avvengono mediante le mutazioni genetiche e il riassortimento dei segmenti genomici.

Il gioco si focalizza sulla generazione stagionale di nuove varianti causate dai riassortimenti che si verificano naturalmente nel genoma dei virus dell'influenza come risultato dell'interazione tra diversi animali infetti.

Ogni squadra rappresenta un diverso animale ospite che durante il gioco sarà esposto a diverse varianti virali e quindi sarà potenzialmente infettato. Il virus subirà delle mutazioni nel corso del gioco. Il gioco termina quando verrà prodotto un nuovo ceppo in grado di infettare gli ospiti umani.

Questa attività può essere utilizzata a diversi livelli di formazione scolastica, dalla scuola media all'istruzione superiore, nelle materie scientifiche che riguardano l'evoluzione, i microrganismi e le infezioni microbiche, il sistema immunitario e il controllo delle malattie, la salute individuale e comunitaria. Il gioco può essere utile per stimolare un pensiero critico, sperimentando il metodo scientifico basato sulla dimostrazione di ipotesi.

INTRODUZIONE

I virus dell'influenza sono gli agenti eziologici dell'influenza, cioè la causa dell'influenza. Questi virus infettano non solo gli esseri umani ma anche un gran numero di altri vertebrati come uccelli, maiali e cavalli.

Sulla superficie di ogni particella virale sono presenti le glicoproteine antigeniche emagglutinina (H) e neuraminidasi (N). Esiste una grande varietà di proteine H (H1, H2, H3...) e di proteine N (N1, N2, N3...), ma ogni particella virale possiede solo un tipo di H e un tipo di N. Questa combinazione H e N è utilizzata per la sua identificazione (per esempio H3N2 o H1N1). La combinazione di H e

N determina anche la specificità della cellula ospite di un virus: per esempio, il ceppo H3N2 di solito infetta i maiali, ma anche gli umani, mentre il ceppo H1N1 di solito infetta solo gli umani.

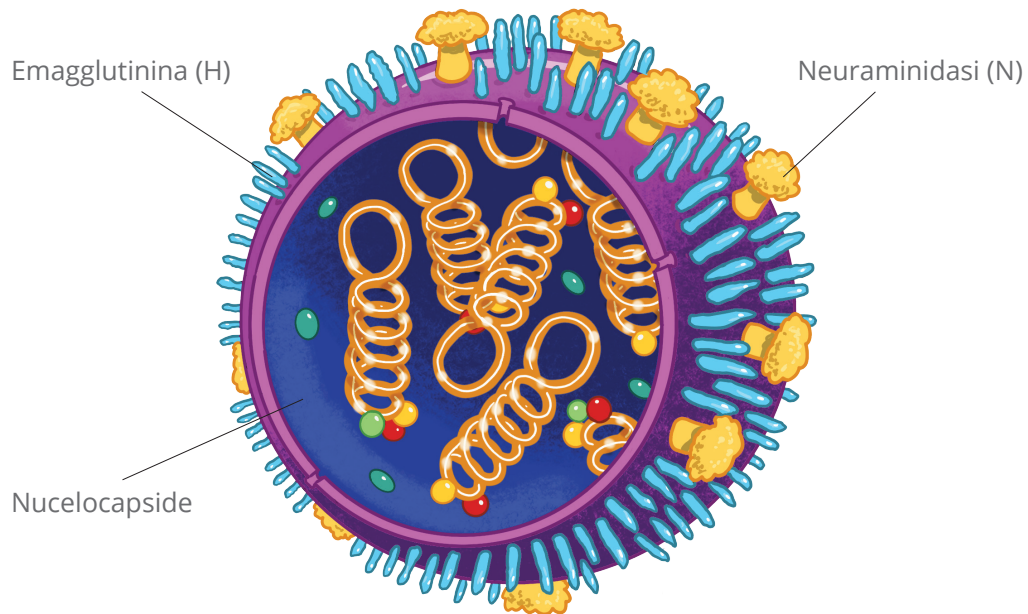


Figura 4: Struttura tridimensionale del virus dell'influenza

Il genoma dei virus dell'influenza è segmentato e contiene le informazioni genetiche necessarie per sintetizzare le proteine virali, tra cui H e N. Quando il virus infetta una cellula, si generano nuovi virus che possono infettare altre cellule. Tuttavia, quando un ospite viene infettato simultaneamente da due diverse varianti dei virus dell'influenza, la progenie di questi virus potrà contenere una combinazione dei genomi dei due virus originali, facendo emergere una nuova variante antigenica.

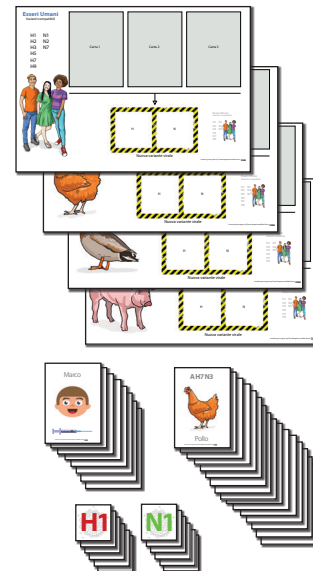
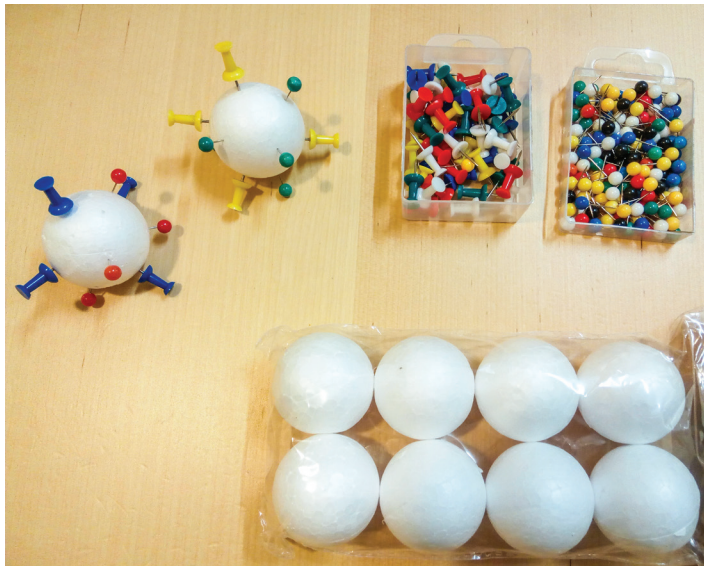
Nuove mutazioni possono verificarsi ad ogni nuova generazione di virus. Le nuove varianti possono avere la capacità di infettare nuovi ospiti.

MATERIALI

- Un tabellone che raffigura un potenziale ospite per i virus dell'influenza per ogni squadra;
- Una scatola (oppure un sacchetto) che rappresenta una cellula ospite per ogni squadra;
- Quattro palle di polistirolo (oppure palle da ping-pong o simili) per ogni squadra;
- Spillini (oppure chiodini) colorati per rappresentare le proteine di superficie H. Ogni colore corrisponde a un determinato tipo (per esempio blu per H1, rosso per H2, ecc.);
- Spillini (oppure chiodini) colorati (colori diversi da quelli usati

per H) per rappresentare le proteine di superficie N. Ogni colore corrisponde a un determinato tipo (ad esempio, verde per N1, giallo per N2, ecc.);

- Un mazzo di carte che riportano gli animali ospiti (ogni carta riporta la combinazione di antigeni di emagglutinina (H) e neuraminidasi (N) del virus che infetta quel particolare animale);
- Un mazzo di carte che riportano i geni che codificano per le diverse H e N;
- Opzionale: un dado per la versione opzionale del gioco che considera l'effetto delle mutazioni.



REGOLE DEL GIOCO

Inizio del gioco:

1. Quale animale ospite sei?

La squadra in gioco prende una tavola da gioco che rappresenta un potenziale ospite per i virus dell'influenza. La tavola da gioco riporta l'elenco delle varianti delle proteine H e N che permettono ai virus di infettare quell'ospite.

2. Siete stati/e in contatto con un animale infetto. Vi ammalerete?

Ogni squadra a turno prende, dal mazzo di carte, una carta da gioco degli animali infettati dal virus su cui è riportata una certa combinazione H e N che infetta quell'animale. Questa fase rappresenta il contatto dell'ospite con un animale infettato dal virus dell'influenza. Questo ospite (l'animale riportato sul tabellone) si infetterà solo se esposto a un virus con H e N compatibili.

Si verificano, in alternativa, i seguenti casi:

a) L'ospite si infetta perché viene esposto a un virus con H e N compatibili.

In questo caso, dal mazzo di carte che riportano i geni che codificano per le H e N si prendono le rispettive carte H e N e le si collocano sul tabellone al loro posto corrispondente. Inoltre, con le palline e gli spillini si deve costruire un modellino del virus corrispondente. Quattro spillini che rappresentano H e quattro che rappresentano N (simulazione del materiale genetico) devono anche essere inseriti nella scatola che rappresenta una cellula ospite.

b) Se H e N virali riportate sulla carta pescata non sono compatibili con le cellule dell'ospite, l'ospite non viene infettato. In questo caso, il gioco prosegue, passando la mano all'altra squadra.

Ad ogni turno, viene pescata una nuova carta dal mazzo delle carte che riportano gli animali infetti e il gioco prosegue riprendendo dal punto 2.

3. È in circolazione una nuova variante del virus?

Quando una squadra ha inserito due virus (spillini corrispondenti a H e N) all'interno della sua scatola, scuote la scatola (per mescolare gli spillini) ed estrae un set di quattro H e quattro N a caso (senza guardare) e lo pone sul tabellone nell'area "nuova variante". Deve quindi costruire un modello di questa nuova particella virale in cui è

avvenuta una riorganizzazione genetica.

L'ospite è esposto a questo nuovo virus, che può infettarlo o meno.

4. La squadra che per prima genera una nuova variante virale in grado di infettare un essere umano (come riportata sul tabellone) ha vinto.

Versioni opzionali del gioco:

1. Versione più veloce: vince la prima squadra che crea una nuova variante del virus, capace di infettare un ospite diverso dall'originale.

2. Versione con in aggiunta l'effetto delle mutazioni: ad ogni turno, uno/una componente di una squadra lancia il dado. Se ottiene un numero dispari, il virus è mutato e diventato più virulento. Per infettare un nuovo ospite, il virus deve essere mutato almeno una volta.

3. Versione che considera la protezione/non protezione del tipo di vaccino, basata sulla composizione H e N dei virus: per questa variante del gioco, è necessario conoscere la costituzione del vaccino dell'anno in corso. Quando viene generato un nuovo virus (come descritto nel punto 3 delle istruzioni del gioco), viene presa una carta

dal mazzo “ospite”. Alcuni di questi individui raffigurati sono stati vaccinati (sulla carta c’è una siringa), mentre altri no. Se l’individuo da infettare è vaccinato e la nuova variante del virus infettiva, generata durante il gioco, è uno dei ceppi contenuti nel vaccino per quell’anno, il virus non lo infetta e la squadra che ha giocato non vince. Il gioco prosegue fino a quando viene ottenuto un ceppo che può infettare gli esseri umani vaccinati e la squadra che lo ha generato vince.

4. Ad ogni turno, il/la componente della squadra che gioca deve immaginare e raccontare una situazione in cui potrebbe entrare in contatto con un animale infetto (ad esempio quando visita un parco).



BIBLIOGRAFIA

Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD). Transmission of Influenza Viruses from Animals to People. <http://www.cdc.gov/flu/about/viruses/transmission.htm>

Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD). Past Pandemics. <https://www.cdc.gov/flu/pandemic-resources/basics/past-pandemics.html>

Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD). Prevent Seasonal Flu. <https://www.cdc.gov/flu/prevent/index.html>

Eurobarometer Special Surveys: Antimicrobial resistance report (2013) <https://europa.eu/eurobarometer/surveys/detail/1101>

Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology (22nd Edition) by George F. Brooks (Editor), Stephen A. Morse (Editor), Janet S. Butel (Editor), Ernest Jawetz. (2001) ISBN0-07-112066-1

Donna M. Tscherne, Adolfo García-Sastre. Virulence determinants of pandemic influenza viruses. *J Clin Invest.* 121(1):6–13 (2011)

Haibo Wu, Xiuming Peng, et al. Genetic and molecular characterization of H9N2 and H5 avian influenza viruses from live poultry markets in Zhejiang Province, eastern China *Scientific Reports* 5:17508 (2015)

Dalziel, B. D. et al. Urbanization and humidity shape the intensity of influenza epidemics in U.S. cities *Science* 362, 75-79 (2018)

Wong & Webby, Traditional and New Influenza Vaccines, *Clin Microbiol Rev.* 26(3): 476–492 (2013).

Zimmer, C. A planet of viruses, 2nd edition, The University of Chicago Press (2015)

