

L'epidemiologia dell'influenza

Il fenomeno della ricombinazione tra ceppi umani e animali del virus dell'influenza può essere responsabile della comparsa di nuovi sottotipi, come il virus che causò la grande pandemia del 1918-1919

di Martin M. Kaplan e Robert G. Webster

L'influenza è stata definita l'ultimo grande flagello della umanità. Certamente la pandemia del 1918-1919, che fece il giro del mondo in tre ondate successive, uccidendo oltre venti milioni di persone e lasciando sulla sua strada gravissimi danni sociali ed economici, è classificabile, in senso assoluto, come uno dei maggiori disastri della storia dell'umanità. Nel corso degli ultimi 250 anni, più o meno, almeno dieci e forse fino a venti pandemie minori di influenza hanno spazzato il globo, inframmezate da un numero molto più grande di epidemie meno violente e più circoscritte. Come spiegare le rilevanti variazioni di estensione e di gravità delle diverse manifestazioni della malattia?

Da molti anni è noto che l'influenza è una infezione virale e che la ripetuta comparsa della malattia fra la popolazione umana è provocata da ceppi differenti del virus dell'influenza. Fino a ora non esiste una spiegazione del tutto soddisfacente dell'origine dei ceppi virali pandemici dell'uomo, ma una serie crescente di prove tende a sottolineare il ruolo importante svolto dai virus influenzali di altre specie, tra cui animali domestici e uccelli migratori. In anni recenti è apparso sempre più evidente che l'esistenza di un ampio serbatoio di ceppi di virus dell'influenza in questi animali costituisce, per il genere umano, una minaccia costante e certo non sradicabile.

La malattia respiratoria acuta e altamente contagiosa, conosciuta oggi con il nome di influenza, sembra aver afflitto il genere umano fin dall'antichità. I sintomi individuali e gli aspetti epidemiologici della malattia sono sufficientemente caratteristici da permettere l'identificazione di numerose epidemie importanti verificatesi nel lontano passato. Una di queste epidemie fu riferita nel 412 a.C. da Ippocrate, mentre altri numerosi episodi furono descritti nel Medioevo.

Il termine «influenza» fu introdotto in Italia nei primi anni del XV secolo, allo scopo di descrivere una epidemia attribuita all'influenza delle stelle. Questo termine fu adottato nella lingua inglese

nel corso del XVIII secolo; nello stesso periodo i francesi diedero alla malattia il nome di *grippe*. Una descrizione accurata e vivace delle caratteristiche principali dell'influenza è contenuta in una lettera inviata da Lord Randolph a Lord Cecil, da Edimburgo, nel novembre 1562.

«Come piace a vostra Signoria, immediatamente dopo l'arrivo della Regina (Mary), ella cadde preda di una nuova malattia, che è diffusa in questa città, e che viene qui chiamata la nuova conoscenza; e che fece il giro della sua corte, tutta intera, non risparmiando neppure i Lord e le Ladies e le damigelle, fossero francesi oppure inglesi. È un tormento per la testa di coloro che la contraggono, con mal di stomaco e una gran tosse, e che perdura in alcuni a lungo, in altri per un periodo più breve, se trova o meno organismi adatti alla natura del morbo. La regina stette a letto sei giorni. Non si ebbe parvenza di pericolo, né uomini morirono di tale malattia, tranne alcuni individui anziani. Ora essa ha colpito il mio Signore di Murray, il Signore di Lidlington l'ha avuta, e io mi vergogno a dire di esserne stato immune, osservando come essa cercasse di fare la conoscenza di tutti».

La prima pandemia, di cui si ha una sicura testimonianza, si verificò nel 1580 e si ritenne fosse originaria dell'Asia, da dove si estese all'Africa e all'Europa. La mortalità fu elevata in alcune città e senza dubbio il prezzo pagato risultò assai più grande a causa della abitudine di praticare salassi agli ammalati per ridurre la febbre. Nei tre secoli successivi, sebbene le registrazioni fossero irregolari e le relazioni spesso poco accurate, si manifestarono numerose gravi pandemie (associate a epidemie intermittenzi) su cui gli storici sono, in genere, d'accordo. La natura della pandemia del 1889 è stata in gran parte chiarita da uno studio retrospettivo, effettuato nello scorso decennio, che si basava sulla ricerca degli anticorpi antinfluenzali nel siero del sangue di individui ancora vivi al momento della ricerca. Tuttavia, solo agli inizi degli anni trenta, si riuscì a identificare come agente causale dell'influenza un

virus specifico, il che rese possibile una migliore comprensione della malattia.

In termini di numero di vittime umane, la grande pandemia del 1918-1919 non ha precedenti. Le stime fatte variano da un minimo di venti milioni di decessi, in tutto il mondo, fino a un numero due volte superiore. Negli Stati Uniti furono registrati più di 500 000 decessi e altre zone della Terra furono colpite in misura uguale o anche maggiore. Secondo una fonte, nella sola India si contarono venti milioni di morti, mentre alcune regioni dell'Alaska e delle isole del Pacifico persero più di metà della loro popolazione.

Negli Stati Uniti l'epidemia portò con sé gravi disastri e, nel periodo di massima virulenza, la vita comunitaria di molte città rimase quasi paralizzata. Nell'autunno e nell'inverno, tra il 1918 e il 1919, furono osservati circa 25 milioni di casi clinicamente accertati: un quarto dell'intera popolazione. Nella sola Filadelfia, durante la terza settimana di ottobre del 1918, si contarono 4000 decessi da influenza. In quasi tutte le città importanti, i teatri e altri luoghi pubblici di ritrovo vennero chiusi, mentre gli ospedali erano sovraffollati e carenti di personale medico. Individui adulti, che prima erano del tutto sani, a volte si ammalavano e morivano nel giro di 24 ore. Intere famiglie furono colpite, spesso senza nessuno che si occupasse di loro, a dispetto del massiccio impiego di servizi volontari, formati in ogni parte del paese. Abbandavano i rimedi più strani, ma alla fine l'unico trattamento efficace era una buona assistenza di tipo infermieristico.

Le forze armate degli Stati Uniti furono duramente colpite, tanto che nell'estate del 1918 la disponibilità di truppe americane sul fronte occidentale era ridotta in briciole. I decessi per influenza tra le forze armate degli Stati Uniti nel 1918 assommarono a 43 000, circa l'80 per cento del numero totale di decessi di soldati americani per cause belliche. Il rallentamento e, alla fine, il fallimento dell'ultima offensiva tedesca, nella primavera e nell'estate del 1918, furono in gran parte attribuiti, da alcuni generali

tedeschi, all'influenza. Non è ancora chiaro perché la pandemia sia stata così letale. Sicuramente le infezioni batteriche secondarie, responsabili di polmoniti e di altre gravi condizioni patologiche, spiegano molti, se non la maggior parte, dei decessi. Queste infezioni possono oggi essere trattate efficacemente con antibiotici. Un altro fattore potrebbe essere stato rappresentato dall'incremento significativo della virulenza dello stesso agente virale, durante le prime fasi della pandemia, nella primavera e nella estate del 1918. Fino a ora tutti i tentativi fatti per risolvere questi problemi, tra cui l'esame microscopico di campioni di tessuto prelevati dalle vittime della malattia, e l'esumazione effettuata negli anni cinquanta, di cadaveri sepolti nelle terre gelate dell'Alaska, alla ricerca del ceppo virale responsabile, sono falliti.

Il nome dato alla pandemia del 1918-1919, fu di «influenza spagnola», una denominazione non appropriata, ma che è rimasta fino ai giorni nostri, nonostante la maggior parte dei resoconti collochi altrove la comparsa dei primi casi umani. Sembra che la Spagna abbia ricavatato questo dubbio riconoscimento per ragioni politico-militari. La non ingeren-

za della Spagna nel conflitto consentiva di escludere che la malattia potesse essere dovuta a un'«arma biologica» di una delle parti belligeranti. È difficile risalire alla zona geografica colpita per prima, dal momento che la pandemia si verificò in tre ondate successive: nella primavera del 1918, nell'autunno dello stesso anno e nei primi mesi del 1919. La malattia non attirò su di sé l'attenzione fino a quando, nell'autunno del 1918, non si abbatté l'ondata «assassina». Alcune fonti situano l'origine della prima ondata epidemica in Cina, nel marzo 1918, ma negli archivi dell'esercito degli Stati Uniti si trovano informazioni su cui si può fare molto più affidamento. Questi resoconti localizzano con precisione il primo gruppo di casi di influenza tra le truppe di stanza a Fort Riley, nel Kansas, l'11 marzo 1918. Che la malattia si sia diffusa in tutto il mondo, da quell'unico focolaio, non può essere dimostrato in modo definitivo, ma prove ulteriori indicano che ciò non è improbabile.

Fu proprio a causa della terribile esperienza della pandemia del 1918-1919, che tra le autorità sanitarie degli Stati Uniti si diffuse grande apprensione, quando un'altra eruzione del morbo, che interes-

sò apparentemente lo stesso ceppo virale, si verificò a Fort Dix nel New Jersey, nel gennaio 1976.

Per secoli gli uomini hanno speculato in modo del tutto irrazionale sulla causa dell'influenza: le stelle, il tempo e i gas benefici delle paludi sono stati chiamati in causa, di volta in volta. (Ancora nel 1894, un eminente epidemiologo britannico, Charles Creighton, insisteva sulla non contagiosità dell'influenza.) Tuttavia, dalla fine del XIX secolo, il concetto microbiologico di malattia infettiva aveva ormai messo salde radici, preparando il terreno alla scoperta di un bacillo, rinvenuto nella gola di molti pazienti affetti da influenza. Questo bacillo, *Haemophilus influenzae* (conosciuto anche come bacillo dell'influenza di Pfeiffer, dal nome del batteriologo tedesco Richard F.J. Pfeiffer), rimase per molti anni il principale indiziato quale agente eziologico dell'influenza. La scoperta della causa virale reale avvenne verso la fine degli anni venti, quando un ceppo del virus fu isolato per la prima volta dai maiali. Infine, un ceppo correlato fu isolato da un paziente umano nel 1933.

Numerose relazioni storiche della ma-



Maschere di garza, adottate come misura di sanità pubblica in molte zone degli Stati Uniti, durante la seconda ondata «assassina» di influenza, che spazzò il paese nell'autunno del 1918, sono qui portate da una squadra di poliziotti di Seattle, nel dicembre di quello stesso

anno. La pandemia di influenza del 1918-1919, comunemente nota con il nome di «spagnola» fu quella che registrò il più alto tasso di mortalità della storia, provocando la morte di almeno 20 milioni di persone in tutto il mondo, tra cui più di mezzo milione di americani.

lattia riportano, come coincidenza interessante, la comparsa di malattie simili alla influenza negli animali, soprattutto nei cavalli, che precedono immediatamente o che accompagnano le epidemie di influenza nell'uomo. La vasta gamma di agenti microbici diversi dai virus dell'influenza e noti per causare malattie del tratto superiore delle vie respiratorie degli animali ha confuso il quadro. È oggi accertato con sicurezza che, in passato, si sono verificate diverse volte, tra gli animali, manifestazioni di origine virale del morbo. Tuttavia, solo nell'autunno del 1918 venne stabilita in modo attendibile una stretta correlazione tra influenza umana e influenza animale. J.S. Koen di Fort Dodge, Iowa, un veterinario che lavorava allora come ispettore per il Dipartimento dell'agricoltura degli Stati Uniti, riferì che una nuova malattia comparsa tra i maiali del Middle West era fortemente somigliante e coincidente con l'influenza umana diffusa tra le famiglie delle fattorie.

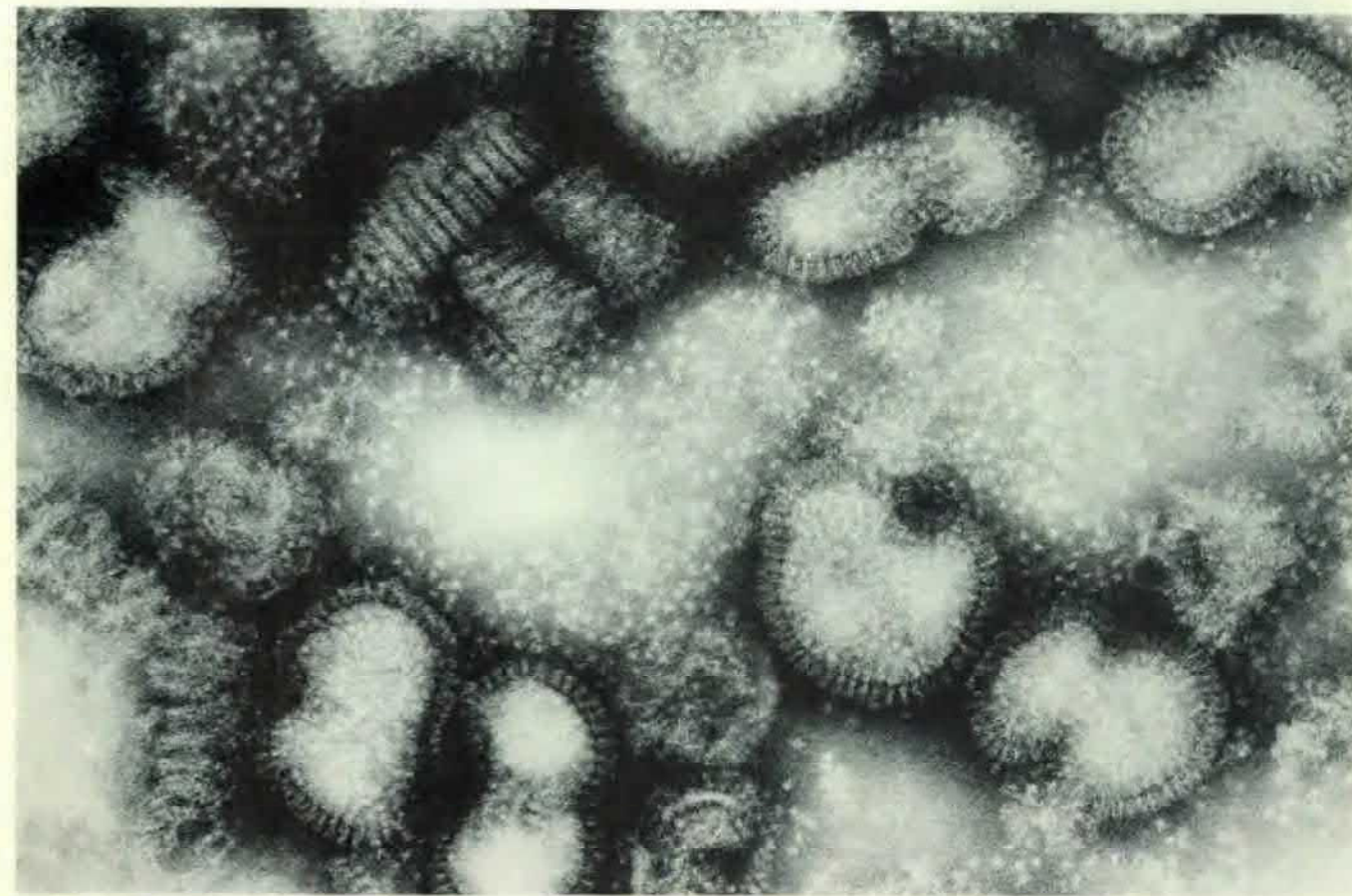
Dopo lunghe ricerche sulla trasmissibilità della influenza tra i maiali, un gruppo di veterinari del Bureau of Animal

Industry, coordinato da C.N. McBryde riuscì, nel 1928, a trasmettere la malattia per mezzo di muco non filtrato estratto dalle vie respiratorie di maiali malati, mentre il tentativo di trasmettere la malattia con materiale filtrato fallì. Proseguendo in queste ricerche, Richard E. Shope, del Rockefeller Institute of Comparative Pathology di Princeton, New Jersey, fu in grado di dimostrare che il virus poteva essere trasmesso tra i maiali usando materiale filtrato e pubblicò i suoi risultati nel 1931.

Il lavoro di Shope fu attentamente preso in considerazione in Inghilterra, dove, nel 1933, durante una epidemia di influenza umana, venne fatto un altro tentativo di isolare il virus. Wilson Smith, Christopher Howard Andrewes e P.P. Laidlaw, che lavoravano al National Institute for Medical Research di Londra, riuscirono alla fine nell'intento, inoculando il filtrato di un lavaggio faringeo dell'uomo nel naso di furetti, lo stesso metodo seguito da Shope nei suoi esperimenti sui maiali. Il gruppo inglese riuscì in un secondo tempo a indurre la polmonite nei topi mediante inoculazione di

materiale infetto che era stato prelevato dal naso dei furetti.

La dimostrazione che il virus dell'influenza poteva essere trasmesso ai furetti e ai topi fu seguita da rapidi progressi. Nel 1940 i furetti furono infettati sperimentalmente con un secondo tipo di virus dell'influenza umana. Il secondo ceppo umano fu indicato come ceppo dell'influenza B, per distinguerlo dal primo tipo isolato, che divenne quindi noto come ceppo dell'influenza A. (Un terzo tipo, ceppo dell'influenza C, fu isolato dall'uomo nel 1949.) Inoltre nel 1940 l'australiano F.M. Burnet scoprì che il virus dell'influenza si moltiplicava nelle cellule di rivestimento della cavità allantoidea dell'embrione di pollo e, un anno più tardi, George K. Hirst del Public Health Research Institute di New York, osservò che il fluido infetto da virus influenzali ottenuto dagli embrioni di pollo riusciva ad agglutinare, ovvero ad ammassare, i globuli rossi dei polli. Il fenomeno di emagglutinazione scompariva con il calore, suggerendo la presenza, nel virus, di un enzima provocante la dissociazione tra virus ed eritrociti.



In questa microfotografia elettronica, realizzata da Gopal Murti presso il St. Jude Children's Research Hospital di Memphis, Tennessee, sono mostrati i virioni (particelle virali) dell'influenza suina, ingranditi circa 300 000 volte. Le particelle virali sono tipicamente sferiche, con un diametro di circa 100 nanometri, tuttavia la loro forma può variare grandemente, e alcune possono assumere l'aspetto di lunghi filamenti. Le proiezioni a forma di aculeo che ricoprono la superficie esterna delle particelle integre sono molecole di emagglutinina (H) e di neuroamminidasi (N). Su ogni particella sferica si trovano in media circa 500 aculei H e 100 aculei N. L'aculeo H

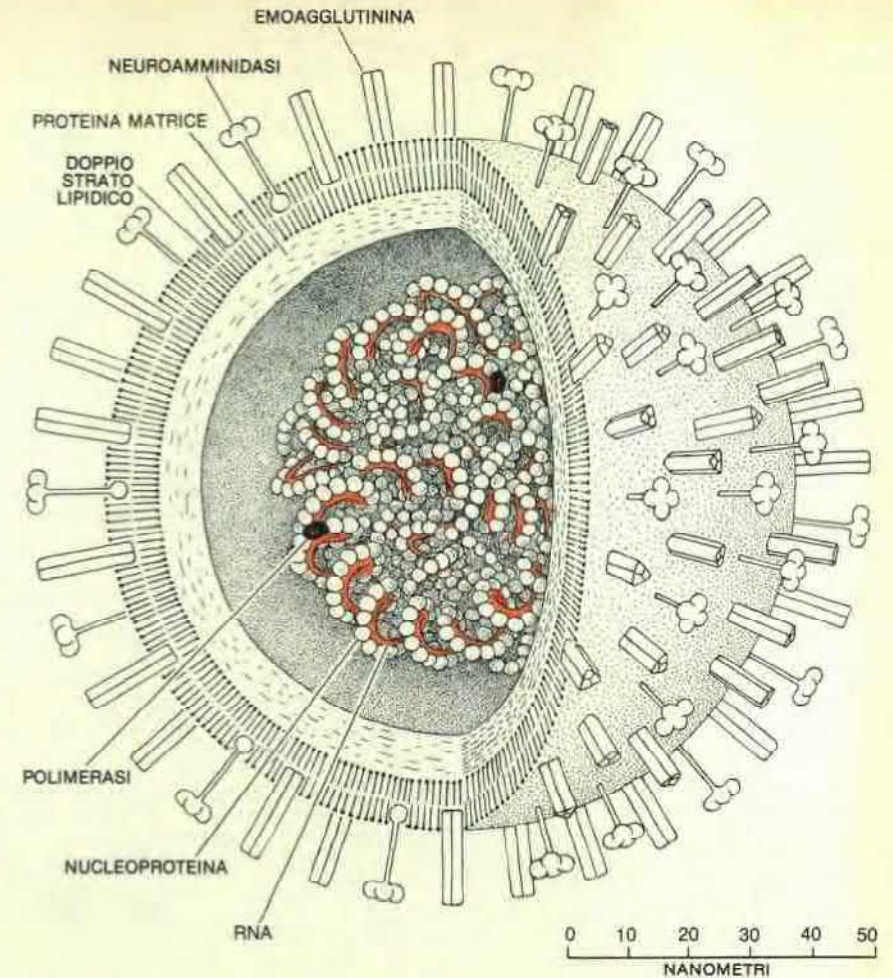
permette al virus di aderire alla cellula dell'organismo ospite; in seguito all'infezione si formano anticorpi per gli aculei H che prevengono una reinfezione da parte dello stesso ceppo di virus influenzale. Si pensa che l'aculeo N, un enzima, sia responsabile della rottura del legame esistente tra i virioni e la cellula infetta, facilitando quindi la diffusione del virus da cellula a cellula. Anche per l'enzima N si formano anticorpi specifici, tuttavia essi sono meno importanti nel fornire protezione contro infezioni successive. Alcuni virioni sono spezzati ed è quindi possibile vedere le loro strutture interne. Le macchioline bianche visibili nella microfotografia sono aculei H e N liberi.

Questi sviluppi posero le basi per ulteriori progressi. La disponibilità di grandi concentrazioni di virus dell'influenza, ottenuti da embrioni di pollo, condusse alla preparazione di vaccini inattivati per uso umano. La reazione di emagglutinazione poteva essere inibita da anticorpi specifici del siero del sangue di uomini o animali infettati o vaccinati con virus dell'influenza, così che divenne possibile disporre di un metodo semplice per distinguere tra ceppi virali diversi dell'influenza e misurare la risposta immunologica dell'organismo a un dato ceppo.

Una microfotografia elettronica del virione, o particella virale, dell'influenza mostra una sfera del diametro approssimativo di 100 nanometri, la cui superficie è ricoperta di «aculei» cioè di proiezioni ad andamento radiale strettamente addensate. Gli aculei superficiali sono di due specie differenti, una delle quali si combina con gli eritrociti e ne determina la agglutinazione (da cui il nome di emagglutinina, di solito abbreviato in H), e l'altra che dissolve il legame tra l'aculeo emagglutinina e gli eritrociti. Il secondo tipo di aculeo è un enzima, la neuroamminidasi (N). L'emagglutinina determina l'adesione dei virus dell'influenza sulla superficie cellulare. In seguito all'infezione, si formano anticorpi nei confronti dell'aculeo H, in grado di impedire reinfezioni da parte dello stesso ceppo virale dell'influenza. A carico dell'antigene emagglutinina si osservano variazioni antigeniche rilevanti.

L'aculeo N del virione è, sia nell'aspetto sia nelle funzioni, totalmente diverso dall'aculeo H. L'enzima neuroamminidasi è verosimilmente responsabile della fuoriuscita del virus dalla cellula infetta; si sa che esso facilita la diffusione del virus da cellula a cellula. In seguito all'infezione si formano anticorpi anche contro l'enzima N, che si dimostrano però di minore importanza nel fornire protezione contro l'infezione. Anche la molecola della neuroamminidasi mostra una variabilità antigenica, pur se minore di quella della emagglutinina. Perciò sia gli aculei H sia quelli N sono proteine altamente variabili e i relativi anticorpi distinguono i vari ceppi dei virus dell'influenza.

I virus dell'influenza si differenziano dalla maggior parte degli altri virus animali per il fatto che l'RNA, o acido ribonucleico, che contiene la loro informazione genetica, è replicato e incluso nel virione sotto forma di 8 segmenti separati a singola elica. Questa segmentazione dell'RNA indica che la ricombinazione genetica, o il riassortimento, possono rapidamente verificarsi nel corso di infezioni miste causate da ceppi diversi dell'influenza A. La ricombinazione dei segmenti di RNA è probabilmente di importanza fondamentale per spiegare le principali variazioni antigeniche dei virus dell'influenza. Si è dimostrato che ogni segmento di RNA comprende l'informazione necessaria per codificare una singola proteina virale: otto proteine sono sintetizzate dal virus nella cellula infetta.



In questo spaccato è mostrata la complessa struttura interna ed esterna di un virus dell'influenza. Gli aculei H e N sono avvolti in un doppio strato lipidico, o di acidi grassi, che circonda il nucleo centrale della particella virale. Le molecole della proteina matrice rivestono la superficie interna del doppio strato lipidico, circondando la parte centrale. In essa si trova una struttura molecolare avvolta a elica, formata da RNA (acido ribonucleico) associato a una nucleoproteina e a polimerasi (enzimi che danno inizio alla replicazione virale). L'RNA (in colore), che contiene l'informazione genetica del virus, è suddiviso in otto segmenti di lunghezza diversa. Gli anticorpi per le ribonucleoproteine e le proteine matrici che si formano nell'organismo in seguito all'infezione sono specifici per i tipi virali dell'influenza A, B e C, ma non sono in grado di distinguere tra sottotipi, o ceppi, all'interno di ciascun tipo, e si ritiene che non siano importanti nell'assicurare protezione contro successive reinfezioni. Dopo che il virus è stato adsorbito alla superficie di una cellula, le molecole lipidiche del doppio strato del virione si fondono con il doppio strato lipidico della cellula, o alla superficie cellulare, o all'interno di piccole vescicole entro il corpo cellulare. Una volta che il nucleo virale è penetrato nella cellula, vengono realizzate copie complementari degli otto segmenti di RNA del virus, con l'aiuto della polimerasi della stessa particella virale. A sua volta l'RNA complementare dirige la sintesi proteica e di RNA per il montaggio di nuove particelle virali. A tutt'oggi non si comprende bene la sequenza degli eventi che si svolgono all'interno della cellula infetta, tra cui la localizzazione dei siti della replicazione virale e la funzione assolta dal nucleo della cellula nel corso della replicazione virale.

Nel virione ciascuno degli otto segmenti di RNA è associato a quattro altre molecole: una nucleoproteina e tre enzimi polimerasici. L'esatta disposizione di questi complessi molecolari non è finora conosciuta, ma essa è perlomeno apparentemente responsabile delle strutture interne a elica distinguibili nelle microfotografie elettroniche di alcuni virioni. Le due proteine più importanti del nucleo centrale del virione, la nucleoproteina e la proteina matrice, sono molto simili nei virus dell'influenza dello stesso tipo; in altre parole esse sono tipo-specifiche per i virus dell'influenza A, B e C. Gli anticorpi prodotti in seguito all'infezione

non distinguono tra le nucleoproteine dei differenti virus dell'influenza A, vale a dire che, all'interno dello stesso tipo, non sono in grado di distinguere i sottotipi. Si ritiene che gli anticorpi per queste proteine non abbiano importanza nel fornire protezione contro l'infezione.

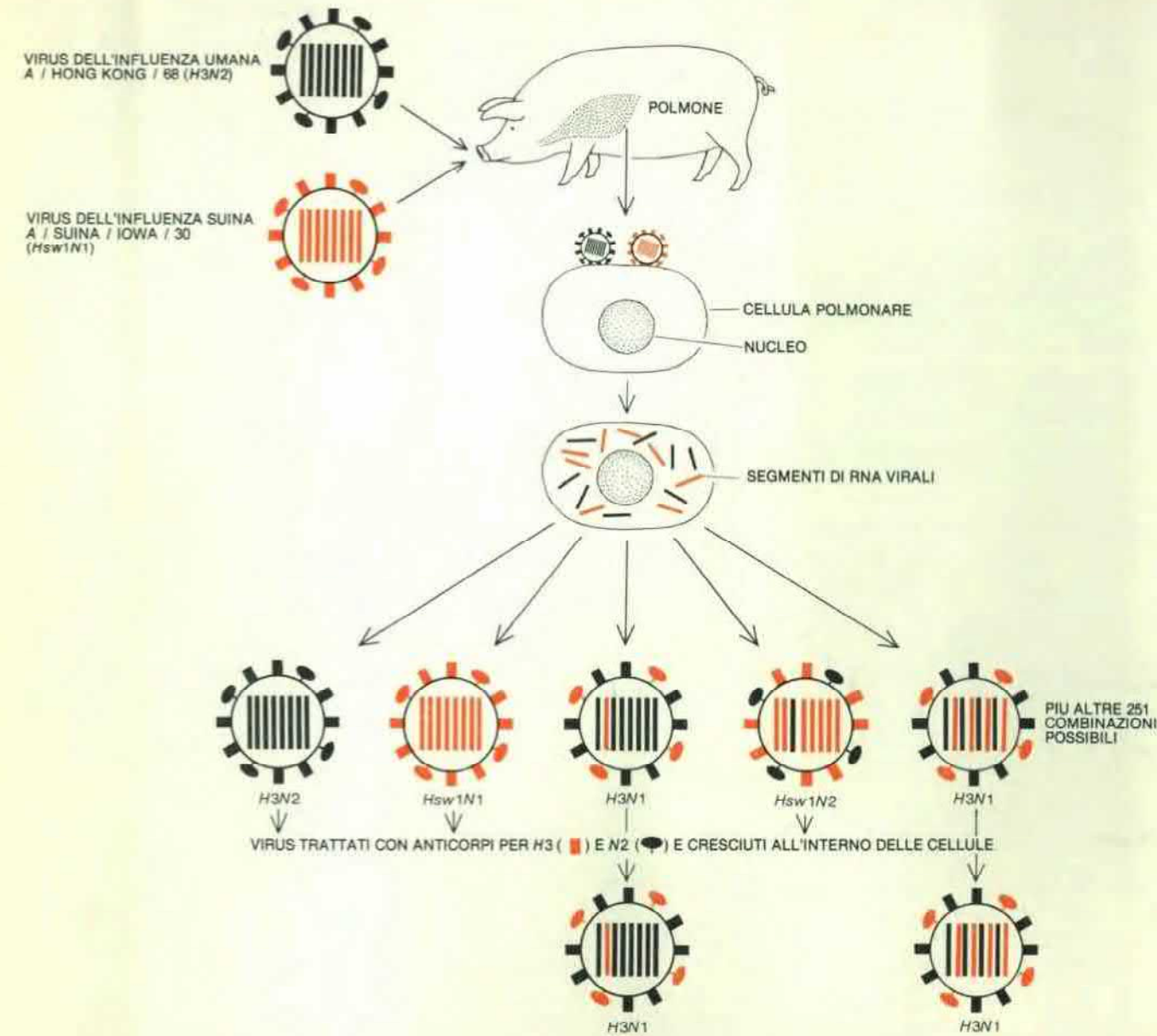
I virus dell'influenza esibiscono due tipi di variazione antigenica a carico dei loro antigeni principali H e N. Il primo tipo di variazione, chiamato «deriva antigenica», consiste in una serie di modificazioni minori all'interno di un gruppo di ceppi simili. Il secondo tipo di variazione è chiamato «spostamento antigenico», a indicare una modificazione im-

portante e improvvisa della composizione dell'antigene emoagglutinina o dell'antigene neuroamminidasi (o di entrambi), che, per convenzione, i virologi indicano con le sigle *H0*, *H1*, *H2*, *H3*, *N1*, *N2* e così via. Entrambi i tipi di variazione antigenica sono osservabili nei virus dell'influenza *A*, mentre nei virus dell'influenza *B* sono stati scoperti solo fenomeni di deriva antigenica. Il virus dell'influenza *C* è raramente isolabile, ed è

stato molto meno studiato. Il virus della influenza *A* è stato isolato da molte specie animali inferiori, ma anche dall'uomo ed è anzi l'unico tipo a provocare pandemie nell'uomo. Per questa ragione ci occuperemo dei virus di tipo *A*.

Fino dal 1933, quando venne isolato nell'uomo il primo virus dell'influenza, ora indicato come *H0N1*, nei virus di tipo *A* si sono verificati sia derive sia spostamenti antigenici. Modificazioni minori,

che conferiscono ai virus mutanti un vantaggio selettivo sulla popolazione cellulare ospite altrimenti immune, sono state dimostrate in entrambi gli aculei proteici superficiali, soprattutto a carico della molecola di emoagglutinina. Per esempio, una variante isolata nel 1947, fu indicata con la sigla *H1N1*, per sottolineare una modificazione distintiva dell'aculeo *H*. Lavori recenti, tuttavia, hanno dimostrato che questi virus particolari



In questo diagramma è rappresentata schematicamente la ricombinazione del materiale genetico di due virus diversi dell'influenza *A*. (I diversi ceppi virali sono classificati, per convenzione tra i virologi, secondo la sequenza in cui le variazioni più importanti delle due principali componenti antigeniche del virione, emoagglutinina e neuroamminidasi, fanno la loro prima comparsa.) Nell'uomo, per esempio, le varianti degli antigeni di superficie *H* e *N* sono indicate con le sigle *H0*, *H1*, *H2*, *H3*, *N1*, *N2* e così via. Nel caso di ceppi che compaiono per la prima volta in altri animali, come i maiali, alla sigla vengono aggiunti numeri o lettere appropriati; in questo caso *sw* (da *swine*, suino). In questa immagine è mostrata l'inoculazione nel naso di un maiale di due virus dell'influenza, uno di tipo umano (*H3N2*) e uno di tipo suino (*Hsw1N1*). L'inoculazione si traduce nella infezione contemporanea di una singola cellula polmonare da parte degli otto segmenti dell'RNA provenienti da ciascun virus. Una volta penetrato

nella cellula, il virus si moltiplica, e i 16 segmenti differenti di RNA possono ricombinarsi in vari modi, durante il «montaggio» di nuove particelle virali. In presenza di anticorpi per la neuroamminidasi del ceppo umano e per la emoagglutinina del ceppo suino, tutti i virus prodotti verranno neutralizzati, a eccezione di quelli che posseggono la combinazione di antigeni di superficie *H3N1*. Il virus dell'influenza *H3N1* può contenere molte combinazioni differenti dei segmenti di RNA, che comprendono quelle che codificano per le due proteine di superficie, ma il loro riarrangiamento con i sei segmenti rimanenti può variare e alcuni dei prodotti di ricombinazione possono indurre l'infezione nei maiali. Il diagramma illustra un esperimento compiuto da uno degli autori (Webster) insieme a Charles H. Campbell presso il centro di isolamento del Dipartimento dell'agricoltura degli Stati Uniti, sull'isola di Plum, al largo di Long Island. Il ceppo *H3N2* fu scoperto per la prima volta in esseri umani a Hong Kong nel 1968.

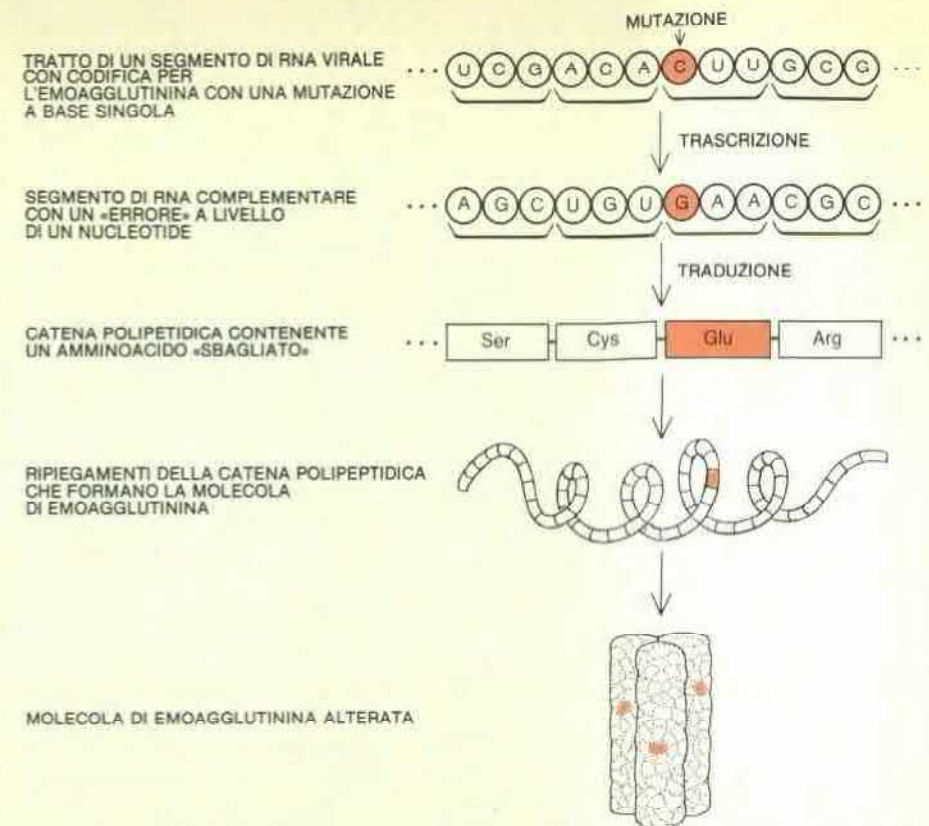
(*H0N1* e *H1N1*) appartengono allo stesso tipo. La prima variazione antigenica importante (spostamento antigenico), scoperta dopo il 1933, fu registrata nel 1957, quando comparve un nuovo ceppo pandemico. Il virus era il primo dei ceppi asiatici e entrambi gli antigeni di superficie *H* e *N* erano del tutto diversi da quelli dei ceppi precedenti. Gli antigeni degli aculei superficiali furono indicati con la sigla *H2N2*, per sottolineare la loro diversità dal virus precedente *H1N1*. Il virus asiatico non subì derive antigeniche fino al 1968, quando comparve il sottotipo di Hong Kong. Il virus di Hong Kong possedeva un aculeo *H* nuovo, ma l'aculeo *N* era identico a quello del ceppo asiatico; a questo virus fu assegnata all'unanimità la sigla *H3N2*. Il virus di Hong Kong da allora ha mostrato fenomeni di deriva antigenica, producendo varianti conosciute come varianti di Inghilterra, di Port Chalmers, di Scozia, e di Victoria, in cui ciascun ceppo ha preso il nome della zona geografica in cui fu isolato per la prima volta.

Quando compare un nuovo virus dell'influenza umana, il ceppo precedente scompare pressoché completamente dalla popolazione. Così nel 1977, mentre la variante Victoria del virus di Hong Kong, o *H3N2*, circolava ancora tra gli uomini, i precedenti gruppi virali del 1957-1968 (indicati con *H2N2*) e del 1933-1957 (*H0N1* e *H1N1*) non poterono più essere trovati nell'uomo.

A partire dal 1918 si sono verificate diverse pandemie, ma nessuna ha avvicinato in gravità quella del 1918. Nel frattempo epidemie localizzate, di natura relativamente più benigna, si sono succedute a intermittenza tra le diverse pandemie. In termini epidemiologici questi eventi sono caratterizzati da ondate morbigena all'interno della popolazione umana, imputabili alla mancanza di protezione immunologica conferita dai ceppi precedenti cui la popolazione umana è stata esposta.

Nell'ambito di ciascun sottotipo antigenico, i ceppi che presentano fenomeni di deriva sono strettamente correlati, sebbene l'ampiezza della deriva (in un sottotipo come *H2*, o come *H3* per esempio) possa essere abbastanza consistente. Questo è il motivo per cui un vaccino preparato da un ceppo *H3* più vecchio (apparso, per esempio nel 1968) non assicura la stessa protezione di un vaccino preparato da un ceppo più recente (apparso, per dire, nel 1975). Per questa ragione, i virus isolati da pazienti umani ammalati di influenza, soprattutto dopo una recrudescenza dei sintomi clinici della malattia, vengono costantemente sottoposti ad analisi antigenica, in modo da poter preparare all'occorrenza dei vaccini che incorporino i nuovi ceppi.

Una spiegazione ragionevole del fenomeno della deriva antigenica è che essa sia il risultato della selezione immunologica di un mutante naturale, non neutralizzato dagli anticorpi per il ceppo precedente. A un processo del genere ci si ri-



La deriva antigenica, una delle due forme di variazione antigenica che si verifica nei virus dell'influenza a carico dei loro antigeni principali *H* e *N*, consiste in una serie di modificazioni genetiche minori all'interno di un gruppo di ceppi simili. Qui è illustrata una di queste modificazioni. Il tratto breve di un segmento di RNA virale mostrato in alto contiene l'informazione genetica che codifica per la molecola di emoagglutinina; il segmento porta una mutazione a singola base (in colore). L'RNA, rappresentato semplicemente come un nastro contrassegnato da lettere, è in realtà una catena di nucleotidi, ciascuno dei quali è formato da una molecola di ribosio, uno zucchero, da un gruppo fosfato e da una delle quattro basi organiche: adenina (*A*), uracile (*U*), guanina (*G*) e citosina (*C*). L'RNA virale viene «copiato» dalla polimerasi del virione, producendo un'elica di RNA complementare, dove, normalmente, *A* si appaia con *U* e *G* si appaia con *C*. In questo caso, però, è stato commesso un «errore»: la base mutante *C* si appaia con *G*. Ne consegue che il codice a tre lettere che codifica per uno specifico amminoacido inserisce, invece, un amminoacido «sbagliato» nella catena polipeptidica della proteina *H*. Il nuovo amminoacido può a sua volta interferire nel processo di ripiegamento della catena polipeptidica, distorcendo la struttura della molecola *H*, oppure può comparire nella regione antigenica della molecola, dando origine in questo modo a una variante antigenica minore che non può essere neutralizzata dagli anticorpi per i virus dell'influenza correlati.

ferisce con il termine di pressione immunologica, allo scopo di sottolineare la neutralizzazione di identiche particelle virali da parte di un anticorpo specifico, che favorisce quindi la selezione di forme mutanti. È agevole dimostrare in laboratorio la deriva antigenica sfruttando la selezione immunologica nei confronti dei ceppi precedenti. Burnet, Alick Isaacs (scopritore, con Jean Lindemann, dell'inibitore virale conosciuto come interferon) e i loro collaboratori, riuscirono per la prima volta nell'intento, nel 1949, utilizzando uova di pollo contenenti embrioni in via di sviluppo. Essi mescolarono un ceppo di virus influenzale con il suo antisiero specifico e quindi inocularono la sospensione nel sacco allantoideo delle uova embrionate. L'antisiero neutralizzò tutti i virus a eccezione di una forma mutante, che divenne quindi il virus predominante nelle successive sottoculture in uova.

Nella replicazione virale (e nella repli-

cazione microbica in generale), i mutanti compaiono con una frequenza di circa uno su un milione di particelle, a seconda del ceppo virale e della condizione della coltura. Questi mutanti del virus dell'influenza sono considerati come il risultato di mutazioni puntiformi che interessano solo uno dei nucleotidi strutturali dell'RNA, cosicché la differenza per un singolo amminoacido nella molecola proteica *H* deriva dalla traduzione del codice modificato dell'RNA.

Lo spostamento antigenico, d'altra parte, rappresenta un cambiamento molto più radicale nella composizione della molecola di RNA e coinvolge probabilmente la ricombinazione di segmenti differenti di RNA, ciascuno dei quali rappresenta un gene, cioè una sequenza di migliaia di nucleotidi. È del tutto improbabile che il fenomeno dello spostamento antigenico si verifichi semplicemente come effetto di eventi mutativi e selettivi indotti dalla pressione immunologica.

Sembra ancora meno probabile che uno spostamento doppio, come quello osservato in entrambi gli antigeni più importanti, *H* e *N*, del ceppo asiatico del 1957 (da *H1N1* a *H2N2*) si sia verificato come effetto di una mutazione, o addirittura di una ricombinazione, di ceppi esistenti esclusivamente all'interno della popolazione umana. I motivi per cui noi dubitiamo di questa ipotesi, che trova ancora sostegno presso alcuni virologi ed epidemiologi, saranno evidenti in seguito.

Fino al 1955 si riteneva che gli animali, a eccezione dei maiali e di alcune specie utilizzate in laboratorio, non fossero suscettibili all'infezione del virus dell'influenza. All'inizio di quell'anno, la scoperta che i virus che provocano l'influenza nei cavalli, nelle anitre e in altri animali, appartenevano allo stesso gruppo del virus dell'influenza *A* dell'uomo, stimolò un certo interesse per questo tipo di infezione. Nel luglio del 1957, subito dopo l'esordio di una nuova pandemia di influenza asiatica e dopo l'arrivo di notizie imprecise provenienti dalla Cina, riguardanti una manifestazione concomitante del morbo tra i maiali, uno degli autori (Kaplan), a quel tempo membro dello staff della Organizzazione mondiale della sanità (WHO), si dedicò a verificare l'interessante possibilità che il ceppo umano potesse essere originato in un serbatoio animale.

Un controllo a livello mondiale di maiali e cavalli fu avviato per iniziativa della WHO, allo scopo di determinare lo stato dell'infezione influenzale in questi animali, prima che la pandemia colpisse e dopo che ebbe colpito le popolazioni animali locali. Nel 1958, Chu Chi-Ming dell'Istituto nazionale per i sierici e i vaccini di Changchun descrisse le caratteristiche epidemiologiche dell'epidemia del 1957 occorsa in Cina, individuando la sua origine nelle regioni del Kweichow occidentale e dello Yunnan orientale, nel febbraio 1957. Egli pensò anche che il carattere radicalmente differente del nuovo ceppo del 1957, rispetto al ceppo precedentemente dominante, suggerisse l'origine del nuovo ceppo da un serbatoio animale.

Fin dal luglio 1957, la WHO ha promosso e coordinato studi sull'influenza animale in diverse regioni del mondo, per far luce sul ruolo che gli animali svolgono nell'epidemiologia dell'influenza umana. Gran parte delle notizie qui esposte sono il risultato di quegli studi. Gli scopi principali erano quelli di (1) determinare se gli animali inferiori all'uomo hanno o meno una qualche importanza come fonte primaria delle componenti antigeniche principali del virus dell'influenza *A*, che provoca le pandemie ricorrenti nell'uomo e (2), posto che gli animali siano importanti nell'ambito di queste pandemie, se ciò avviene a causa della produzione di un ceppo animale leggermente modificato, capace di diffondersi tra gli uomini, o a causa delle ricombinazioni che avvengono naturalmente tra ceppi umani e ceppi animali e

che portano alla formazione di un nuovo ceppo, o a causa di entrambi i fattori.

Nel 1941 Shope descrisse un tipo di influenza suina caratterizzata da un ciclo biologico notevolmente complesso e che egli riteneva rappresentasse il decorso naturale della malattia tra i maiali. Il ciclo infettivo coinvolgeva un parassita dei polmoni dei maiali (*Metastrongylus apri*), il comune lombrico (*Lumbricus terrestris*) e un fattore favorente, quale l'improvviso cambiamento del tempo verso il brutto, tutti elementi associati all'infezione causata dalla varietà suina del bacillo di Pfeiffer. Il ciclo di Shope, maiale-parassita polmonare-lombrico-maiale fu in seguito confermato sperimentalmente da altri ricercatori. Una ipotesi analoga, cioè quella di un virus che alloggia comunemente nell'uomo, in attesa di un evento favorente, è ancora ammessa.

Ricerche successive hanno dimostrato che il complesso ciclo biologico di Shope, non è necessario come serbatoio temporaneo intermedio della influenza suina. Verso la metà degli anni sessanta il gruppo di Dionyz Blaskovic, che comprendeva uno degli autori, (Kaplan), condusse una serie di esperimenti sulla trasmissione della malattia tra i maiali, presso l'Istituto di virologia della Accademia cecoslovacca delle scienze, a Bratislava. Questo gruppo di ricercatori dimostrò che maiali privi di parassiti potevano rimanere infettati e trasmettere l'infezione ai maiali con cui venivano in contatto, fino a tre mesi dopo l'avvenuta infezione sperimentale. Inoltre J. Mensik e i suoi colleghi dell'Istituto di ricerche veterinarie di Brno dimostrarono la trasmissione senza parassiti dalla scrofa alla prole, con il risultato del decesso dei nuovi nati. Bernard C. Easterday e i suoi colleghi dell'Università del Wisconsin estesero questi risultati nell'ambito di studi sulla storia naturale della malattia, negli stati del Middle West e in altre zone degli Stati Uniti.

Si è potuti giungere ora alla conclusione che l'influenza colpisce i maiali in ogni stato del paese e che il virus può essere isolato da maiali diversi in ogni mese dell'anno. Sebbene le manifestazioni cliniche della malattia siano osservabili soprattutto in autunno e in inverno, nelle regioni centrosettentrionali degli Stati Uniti, il virus evidentemente, è presente tra le mandrie di suini per tutto l'anno. Il virus dell'influenza suina (siglato *Hsw1N1*) è stato isolato dai maiali in Inghilterra, Cecoslovacchia, Kenia, Polonia, Unione Sovietica, a Hong Kong, in Italia e in Germania Occidentale, anche se in questi paesi le manifestazioni cliniche della malattia sono state osservate solo sporadicamente.

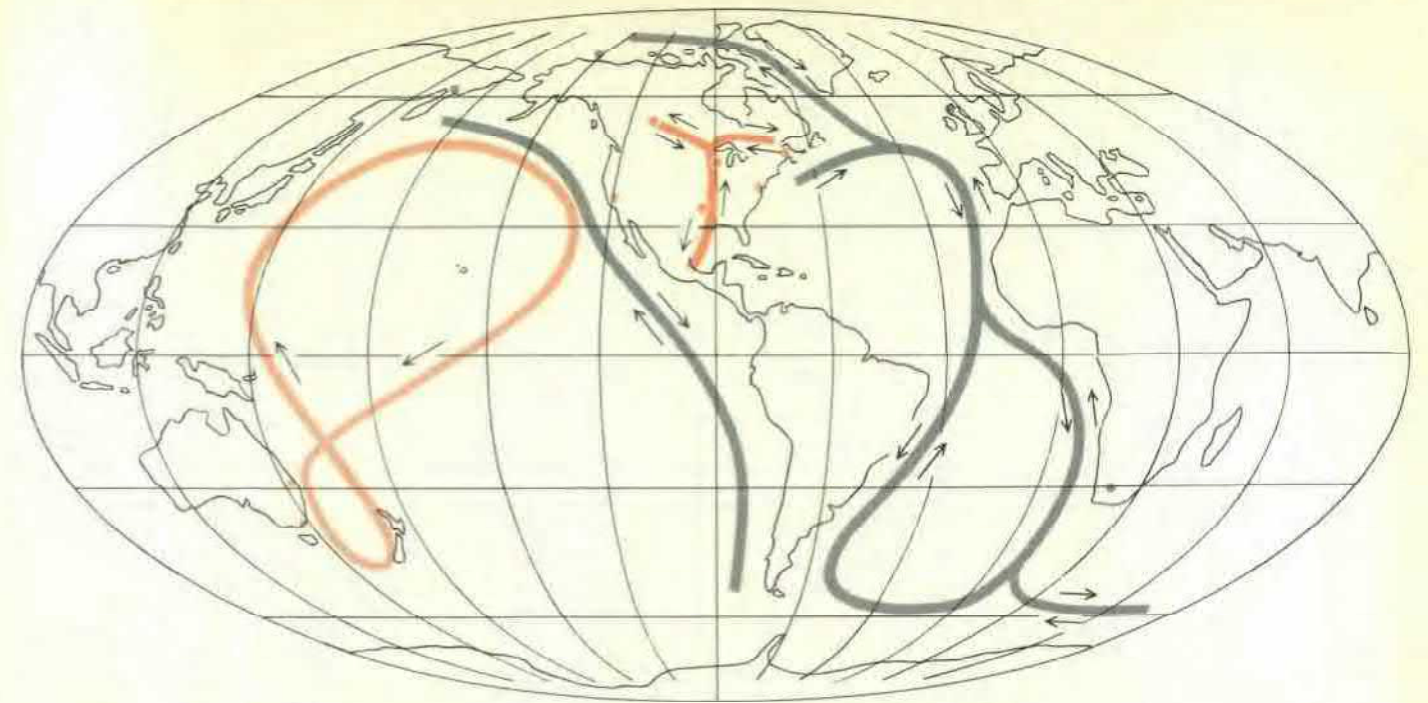
Controlli effettuati su maiali di molti paesi, prima e dopo la pandemia del 1968 causata dal virus umano di Hong Kong (*H3N2*), hanno dimostrato in modo evidente il passaggio di quel ceppo virale dall'uomo al maiale. I ceppi del gruppo *H3N2* che hanno subito una deriva antigenica nell'uomo, fin dal 1968,



Gli uccelli migratori possono ricoprire un ruolo importante nella diffusione dei ceppi virali dell'influenza tra le altre specie animali. In questo planisfero sono segnate le rotte migratorie di tre specie aviarie note per essere portatrici di virus dell'influenza. I virus dell'influenza che portano gli antigeni di superficie *Hav6N2* sono stati isolati in anni recenti da

sono stati isolati anche dai suini, e il più recente di questi (*A/Victoria/75*) è stato trovato nei maiali a Hong Kong e negli Stati Uniti, nel 1976. (Il ceppo di Hong Kong del 1968 è stato isolato anche dai cani, negli Stati Uniti e in Russia, e ha causato una malattia nei polli, nella penisola della Kamchatka, in Russia, e nei vitelli, nelle regioni centrali della Russia. È stato dimostrato che il ceppo isolato era l'agente eziologico di una infezione respiratoria acuta dei vitelli da esperimento, presso il centro di isolamento del Dipartimento dell'agricoltura degli Stati Uniti, sull'isola di Plum, al largo di Long Island. Per motivi sconosciuti infezioni naturali di polli e vitelli da parte dei ceppi virali di Hong Kong non sono state osservate altrove.)

Nel gennaio 1976, il ceppo del virus suino *Hsw1N1*, identico a quelli trovati nei maiali di altre regioni degli Stati Uniti in anni recenti, venne isolato dal cadavere di un soldato morto per influenza a Fort Dix. Questo ceppo virale fu isolato anche in cinque altri casi di influenza verificatisi tra il personale di servizio di Fort Dix, sebbene in quello stesso periodo, i soldati della guarnigione fossero infettati dal ceppo influenzale del tipo *A/Victoria/75*. Le indagini sierologiche dimostrarono che il ceppo virale suino di Fort Dix aveva infettato circa 500 persone a Fort Dix, ma evidentemente non si era ulteriormente diffuso.



una specie di anitre selvatiche (*Anas platyrhynchos*) nella provincia canadese dell'Alberta, e dalla stessa specie nel corso delle sue migrazioni attraverso il Wisconsin e l'Arkansas; un virus identico è stato isolato nel 1965 da tacchini nel Massachusetts, dove provocò una malattia respiratoria non grave (punti in colore scuro). Analogamente i virus dell'influenza siglati *Hav5N2*, isolati nel 1961 dalla *Sterna hirundo* nell'Africa meridionale e da specie aviarie della Russia orientale e delle isole dell'Alaska, sono correlati a un virus (*Hav5N1*) isolato nel 1959

Infezioni a carico dell'uomo da virus *Hsw 1N1* erano state osservate in precedenza solo nel 1961 in un garzone cecoslovacco e nel 1974 in un garzone di fattoria del Minnesota, morto di morbo di Hodgkin (che inibisce il sistema di protezione immunologica, per cui l'infezione da parte del virus suino costituì probabilmente un evento collaterale). Appena prima dell'episodio di Fort Dix, tuttavia, una infezione da virus *Hsw 1N1* a carico di un bambino di otto anni e di altri membri della sua famiglia fu registrata nell'autunno del 1975, nel Wisconsin, in coincidenza con una manifestazione di influenza suina. A partire dal febbraio 1976, una infezione umana da parte del virus *Hsw 1N1* è stata scoperta isolando il virus da individui malati in due fattori del Wisconsin e del Minnesota, dove vi era anche un'infezione a carico dei maiali.

È probabile che la trasmissione da maiale a uomo si sia verificata molte volte, senza peraltro essere stata dimostrata dalle indagini virologiche ed epidemiologiche di routine. Fortunatamente queste infezioni sembrano essersi autolimitate. Tuttavia, nell'ambito della ipotesi di un rapporto tra il virus *Hsw 1N1* e il ceppo presunto responsabile della pandemia del 1918, il grande interesse delle autorità per la salute pubblica nei confronti dell'incidente di Fort Dix non deve destare meraviglia. C'era sempre la possibilità che, se il ceppo del 1976 avesse sviluppato la capacità di diffondersi in una po-

polazione umana associando il carattere di virulenza, potesse risultarne una pandemia simile a quella del 1918.

Sorge spontaneo il problema se il ceppo pandemico del 1918 si sia sviluppato nei maiali (o in qualche altro serbatoio animale) o se esso abbia infettato i maiali per la prima volta nel corso di quell'anno, come era allora opinione dei veterinari del Middle West. Il problema non potrà mai essere risolto, ma l'ipotesi della trasmissione dai maiali agli uomini nel 1918 sarebbe confermata dagli episodi epidemici di Fort Dix e dalle altre infezioni umane citate precedentemente. L'ipotesi è inoltre accreditata dalla natura circoscritta dell'influenza suina negli Stati Uniti, una situazione che indica l'esistenza di un ciclo ospite-parassita da lungo tempo costituitosi e ben adattato in una popolazione animale.

È particolarmente interessante il fatto che i primi casi circoscritti di influenza tra gli uomini, osservati con accuratezza, nel marzo del 1918, si siano verificati a Fort Riley e che questo campo militare sovraffollato reclutasse molti dei suoi uomini presso le fattorie degli stati del Middle West. È del tutto possibile che un evento simile (la trasmissione del virus suino all'uomo) sia avvenuta a Fort Dix nel 1976, con la differenza che nel 1918 il virus sviluppò in qualche modo la capacità di diffondersi ampiamente e, fatto ancora più grave, di acquisire una grande virulenza, proprietà che non possono

essere descritte fino a ora se non a livello biologico o molecolare. L'influenza equina si verifica ampiamente in molte parti del mondo ed è particolarmente fastidiosa per i cavalli da corsa e da equitazione. Fino a quando il virus dell'influenza equina non venne isolato nel 1956, il termine di influenza era applicato in modo inesatto a malattie diverse, che noi oggi sappiamo causate da altri agenti. Molte manifestazioni di una «influenza dei cavalli» furono descritte nel XIX secolo e vennero messe in relazione con epidemie umane, ma le conoscenze attuali indicano che i due ceppi di influenza equina oggi prevalenti, *Heq1Neq1* e *Heq2Neq2*, non sono molto infettivi per l'uomo. Entrambi i ceppi possono causare simultaneamente una malattia nella medesima scuderia, sebbene di solito si riesca a isolare un solo ceppo per volta.

Di particolare interesse sono i risultati di analisi compiute in anni recenti sul siero di sangue prelevato da individui nati prima del 1889. Queste analisi indicano che un ceppo contenente l'antigene *H*, strettamente correlato all'antigene di Hong Kong del 1968 (*H3*) e all'antigene *N* del secondo ceppo equino, infettò in quell'anno l'uomo. Questo antigene, *Heq2*, fu dapprima identificato come un ceppo virale dell'influenza isolato da cavalli da corsa, durante una eruzione della malattia, a Miami nel 1963. Esso è

anche correlato con un antigene aviario *H* (*Hav7*) isolato nel 1963 da un'anitra, in Ucraina, cinque anni prima che l'antigene *H3* comparisse tra la popolazione umana, nel 1968.

Un altro fatto singolare è che negli anni sessanta furono scoperti anticorpi *Heq2* nel siero di cavalli, in Mongolia, una popolazione animale isolata che non ha contatti con cavalli di altri paesi. Il problema di come una infezione dei cavalli della Mongolia, e apparentemente da lungo tempo insediata, possa aver raggiunto Miami è ancora avvolto nel mistero. Una spiegazione possibile è che il virus sia stato trasportato da uccelli migratori.

Dopo l'identificazione, nel 1955, di un virus capace di provocare la peste aviaria e appartenente al tipo *A* dell'influenza umana, centinaia di virus dell'influenza sono stati isolati da una grande quantità di specie aviarie domestiche e selvatiche. Questi virus sono stati raggruppati in nove sottotipi *H* diversi (*Hav*) e in 6

sottotipi *N* (*Nav*). Alcuni comprendono gli antigeni principali *H* e *N* correlati con i ceppi umani.

L'influenza dei volatili provoca infezioni che possono essere ad alto tasso di mortalità, tra i polli e i tacchini, e clinicamente mute tra queste e altre specie di volatili che ospitano gli stessi ceppi. Le anitre domestiche e le quaglie spesso manifestano infezioni influenzali con tosse, starnuti, gonfiore attorno al becco e con tasso di mortalità variabile. Le specie selvatiche e la maggior parte delle specie domestiche mostrano segni scarsi, o addirittura assenti, di malattia.

L'ampia diffusione dell'infezione influenzale in alcune specie di uccelli migratori è particolarmente degna di nota. Per esempio, Easterday e i suoi colleghi hanno esaminato diverse specie migratorie di anitre, catturate lungo le rotte di migrazione dell'alto Mississippi e hanno trovato il virus in molti casi anche nel 30 per cento degli esemplari presi in esame. Studi analoghi condotti su anitre selva-

tiche giovani da Virginia Hinshaw e dai suoi colleghi, in Canada, hanno indicato la presenza di virus dell'influenza in campioni prelevati dalla cloaca degli uccelli, con un tasso di incidenza del 25 per cento. Il virus dell'influenza è stato isolato nelle procellarie dal gruppo inglese di Geoffrey Schild, sulle isole al largo della Norvegia, e dall'australiano Graeme Laver, nelle berte, presso la Grande barriera corallina. D.K. Lvov e i suoi colleghi dell'Istituto D.I. Ivanovsky di virologia di Mosca hanno isolato numerosi ceppi virali da una grande varietà di uccelli selvatici, nel corso di diverse spedizioni in molte regioni dell'URSS.

Gli uccelli selvatici migratori sono probabilmente responsabili della diffusione dei virus dell'influenza aviaria nel mondo e possono anche fungere da serbatoio di virus in grado di indurre manifestazioni sporadiche di influenza tra i gallinacci domestici. Per esempio, un virus influenzale isolato dai polli nel 1959 in Scozia è correlato, tramite l'antigene di

superficie *H*, con un virus trovato in una sterna (*Sterna hirundo*) in Sudafrica nel 1961. Anticorpi per il virus della sterna sudafricana furono quindi scoperti in uccelli selvatici sulla costa russa del Pacifico nel 1971 e, recentemente, Easterday ha isolato lo stesso virus da uccelli catturati in Alaska. Diverse specie aviarie possono essere coinvolte nella diffusione più circoscritta di questo virus, ma la sterna artica è il solo uccello migratore conosciuto che colleghi queste zone tra loro.

Analogamente, un virus influenzale isolato da una berta (*Puffinus pacificus*) presso la Grande barriera corallina al largo dell'Australia, è stato isolato anche da tacchini domestici della California (dove ha causato malattie respiratorie clinicamente manifeste), da anitre selvatiche sulla rotta migratoria atlantica del Delaware e da polli domestici di Hong Kong. Il solo uccello conosciuto che migra attraverso queste regioni è una berta, il *Puffinus tenuirostris*. Questa specie è però esclusivamente oceanica, per cui se essa è coinvolta nella trasmissione dei virus dell'influenza, è solo attraverso il contatto con altri uccelli che portano il virus nell'entroterra.

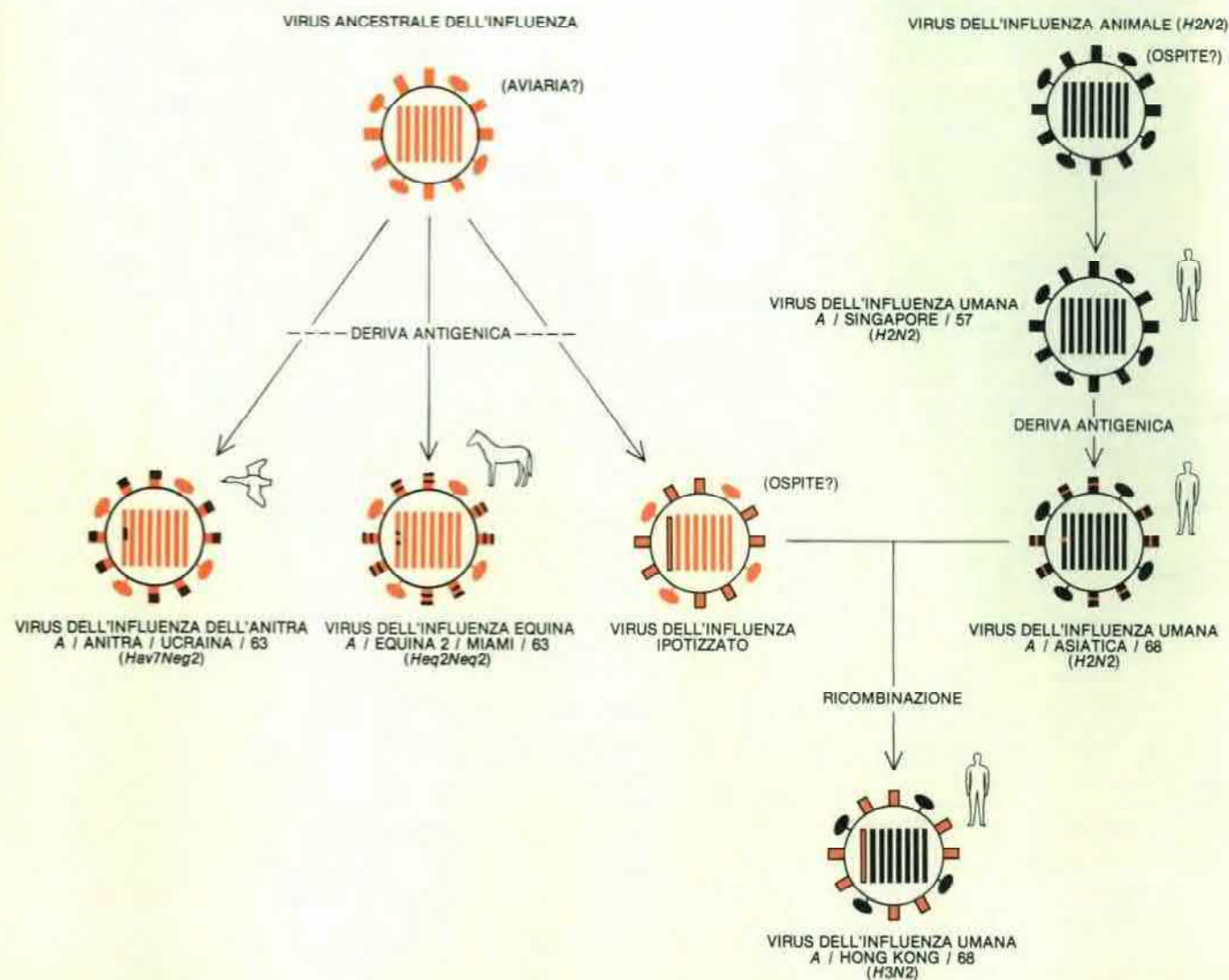
Un altro esempio della trasmissione dei virus dell'influenza da parte di uccelli migratori si può vedere nelle anitre selvatiche dell'America settentrionale. Un virus dell'influenza trovato in tacchini domestici affetti da malattia respiratoria, nel Massachusetts, nel 1965, è stato successivamente isolato da anitre selvatiche migratrici, in Canada, nel Wisconsin e nell'Arkansas. Nell'anitra selvatica il virus non provoca sintomi di malattia.

La possibilità che i virus dell'influenza siano trasmessi dagli uccelli selvatici agli uccelli domestici, e infine ai mammiferi, uomo compreso, sembra a prima vista, piuttosto remota, soprattutto se la trasmissione avviene solo per via respiratoria. Tuttavia, studi recenti condotti da uno degli autori (Webster) hanno dimostrato che molti virus dell'influenza delle anitre si moltiplicano nelle cellule che rivestono le pareti intestinali e vengono diffusi in grande concentrazione nell'acqua. Questi virus possono rimanere vitali per almeno quattro settimane nell'acqua a bassa temperatura (4°C) e per 5 giorni in acqua a temperatura ambiente (20°C). È dunque probabile che l'influenza sia un'infezione che viene trasportata dall'acqua, almeno per quanto riguarda le specie aviarie, ed è resa più facile così la trasmissione dalle anitre selvatiche agli animali domestici, e forse perfino all'uomo, attraverso acque non trattate. Fino a ora, però, è stato registrato un solo caso di infezione a carico dell'uomo, sicuramente causata da un ceppo virale della influenza aviaria (peste aviaria).

Sembra ragionevole concludere che, da un punto di vista evolutivistico, la famiglia dei virus dell'influenza abbia avuto origine nel regno dei volatili, un gruppo animale vecchio di circa 100 milioni di anni che oggi sembra vivere in armonia con i propri virus influenzali.

SPECIE OSPITE (LUOGO E ANNO DEL PRIMO ISOLAMENTO)		ANTIGENI DI SUPERFICIE	
		H	N
UMANA	A / INGHILTERRA / 33	0	1
	A / AUSTRALIA / 46	1	1
	A / SINGAPORE / 57	2	2
	A / HONG KONG / 68	3	2
	A / NEW JERSEY / 76	1 (0 1)	1
SUINA	A / SUINA / IOWA / 30	1 (0 1)	1
	A / SUINA / TAIWAN / 70	3	2
EQUINA	A / EQUINA 1 / PRAGA / 56	1 (1)	2
	A / EQUINA 2 / MIAMI / 63	2 (3)	2
AVIARIA	A / POLLI / ROSTOCK / 02	1	1
	A / POLLI / SCOZIA / 59	6 (0 1)	1
	A / STERNA / SUD AFRICA / 61	5 (0 1)	2
	A / ANITRA / UCRAINA / 63	7 (3)	2
	A / TACCHINO / MASSACHUSETTS / 65	6	2
	A / TACCHINO / WISCONSIN / 66	9	2
	A / ANITRA / ITALIA / 66	2	2
	A / ANITRA / GERMANIA OCCIDENTALE / 68	5	1
	A / POLLI / KAMCHATKA / 71	3	2
	A / ANITRA / GERMANIA ORIENTALE / 73	2	6
	A / ANITRA / GERMANIA OCCIDENTALE / 73	2	3
	A / BERTA / NORVEGIA / 73	3	2

Le relazioni tra i ceppi dell'influenza *A* isolati da specie diverse, tra cui l'uomo, sono state definite sulla base di analisi del siero ematico, compiute assieme ad altri esami progettati allo scopo di scoprire anticorpi per le più importanti proteine antigeniche del virione dell'influenza: l'emoagglutinina, la neuroamminidasi e la ribonucleoproteina. Il virus dell'influenza isolato dall'uomo nel 1957 (*A/Singapore/57*), per esempio, possiede un antigene emoagglutinina (*H*) simile a quello di un virus isolato da anitre nella Germania Orientale nel 1973, mentre la neuroamminidasi (*N*) del virus dell'influenza isolato dall'uomo nel 1957 è simile alla neuroamminidasi di un virus isolato dai tacchini nel 1965, nel Massachusetts. La tavola mostra come ciascuno degli antigeni presenti nei virus dell'influenza umana possono essere trovati nei virus dell'influenza di animali inferiori all'uomo. In anni recenti, analisi biochimiche di proteine e segmenti separati di RNA si sono dimostrate molto utili per migliorare l'accuratezza nei confronti tra le componenti provenienti da virus differenti. L'accuratezza dei confronti è stata inoltre migliorata da lavori condotti sulla struttura degli amminoacidi di alcune molecole, in particolare della emoagglutinina. Questa tavola, che si basa sulle analisi sierologiche degli antigeni *H* e *N*, mostra che l'antigene *H* è più variabile ed esibisce una deriva antigenica maggiore dell'antigene *N*. Ad esempio, l'antigene *H* della serie di Hong Kong del ceppo umano del 1968 (*A/Hong Kong/68*) e quello del ceppo suino dello Iowa del 1930 (*A/suina/Iowa/30*) hanno subito una notevole deriva antigenica, mentre gli antigeni *N* si sono dimostrati più stabili. Il ceppo *A/New Jersey/76*, isolato dai soldati di Fort Dix, nel New Jersey, all'inizio dello scorso anno, e trovato successivamente in lavoratori agricoli di diversi altri stati, è identico ai numerosi ceppi isolati da maiali nello stesso periodo. I ceppi suini sono derivati dal ceppo *A/suina/Iowa/30*.



È qui delineata l'origine proposta del ceppo di Hong Kong del virus dell'influenza umana, del 1968. Secondo le ipotesi degli autori, un virus ancestrale dell'influenza (probabilmente aviario) ha dato luogo a una serie di virus animali correlati, tra cui un virus isolato da cavalli a Miami e un altro isolato da anitre in Ucraina nel 1963. Cinque anni più tardi, un altro virus della stessa famiglia, correlato sia

con i ceppi equini che con quelli aviari, si ricombinò con il ceppo virale umano asiatico *H2N2*, allora comune, dando luogo al ceppo di Hong Kong, *H3N2*. Così il nuovo ceppo umano acquisì il gene per la emoagglutinina (*H3*) dal supposto ceppo animale intermedio, conservando sia il gene per la neuroamminidasi (*N2*), sia i geni necessari a indurre la malattia nell'uomo, derivati dal ceppo umano asiatico.

Esistono a tutt'oggi almeno tre possibili spiegazioni dell'origine dei ceppi virali dell'influenza, pandemici per gli esseri umani: (1) un virus dell'influenza umana si ricombina con un virus dell'influenza di animali inferiori all'uomo e produce una proteina di superficie totalmente nuova, pur conservando la capacità di indurre la malattia nell'uomo; (2) un virus dell'influenza di animali inferiori all'uomo è trasmesso all'uomo e acquisisce la capacità di indurre la malattia nell'uomo e (3) i ceppi umani esistenti subiscono rapide modificazioni multiple per mutazione, dando luogo ad antigeni di superficie diversi da quelli dei ceppi primitivi.

Noi pensiamo che vi siano buone possibilità dimostrative per le prime due ipotesi, ma poche o nessuna per la terza. La prova più convincente che riguarda il ruolo della ricombinazione nella produzione di un nuovo ceppo virale dell'influenza, pandemico per l'uomo, proviene da studi condotti da Laver e da uno degli autori (Webster) sul ceppo di Hong Kong, scoperto per la prima volta nella Cina sudorientale nel 1968. Come abbiamo osservato, il ceppo di Hong Kong acquisì un nuovo aculeo superficiale del tipo *H*, indicato come *H3*, ma conservò il primitivo antigene *N2* e la capacità di indurre la malattia nell'uomo. Studi immunologici e biochimici suggeriscono che la sequenza amminoacidica delle catene polipeptidiche che costituiscono la struttura dell'aculeo *H* del virus di Hong Kong (1968) è del tutto diversa dalla sequenza delle catene strutturali dell'aculeo della famiglia asiatica dei virus dell'influenza (1957). Questi studi indicano inoltre che la molecola *H* del ceppo di Hong Kong è strettamente correlata alla molecola *H* dei virus dell'influenza isolati nel 1963 dalle anitre, in Ucraina, e alla molecola *H* del virus equino (*Heq2Neq2*) isolato nello stesso anno dai cavalli, a Miami. Questa prova, aggiunta alla dimostrazione sperimentale che due diversi virus della influenza *A* possono ricombinarsi, se introdotti simultaneamente nello stesso animale, accredita la prima delle ipotesi sopra elencate, cioè quella di un virus dell'influenza umana che si ricombina con un virus dell'influenza di animali inferiori all'uomo, acquisendo una proteina di superficie totalmente nuova. Sarebbe necessario, tuttavia, sottolineare il fatto che la prova è circostanziale, dal momento che lo stesso ceppo di Hong Kong non fu isolato da animali prima di essere isolato dall'uomo. Prima di poter essere sicuri dell'origine di questi virus, sono necessari dei confronti con le altre proteine virali dei ceppi umani, dell'anitra e dei cavalli del virus dell'influenza, e devono essere ancora compiuti studi sulla sequenza dell'RNA di questi virus. Ricerche in questa direzione sono attivamente compiute in numerosi laboratori.

Le prove a sostegno della seconda ipotesi, cioè quella della trasmissione diretta del virus dell'influenza dagli animali all'uomo, derivano dal recente isolamento

del virus dell'influenza suina da esseri umani, durante l'episodio di Fort Dix e da maiali e uomini in tre casi verificatisi nelle stesse fattorie del Wisconsin e del Minnesota, tra il 1974 e il 1976. Questi ultimi incidenti forniscono la prima prova inequivocabile della trasmissione diretta di virus dell'influenza animale all'uomo. È anche possibile che i ceppi asiatici (*H2N2*) del 1957 siano originati da animali; fino a ora, tuttavia, gli antigeni *H2* e *N2* sono stati trovati solo in virus differenti dell'influenza animale, isolati dopo il 1957. Questo fatto, naturalmente, non esclude la possibilità della trasmissione diretta di un virus da animali all'uomo avvenuta in quel periodo, perché studi sulla influenza degli animali furono intrapresi dalla WHO solo dopo il 1957. Per quanto riguarda la terza ipotesi, quella di una rapida modificazione multipla per mutazione di un ceppo umano, tale da produrre un virus radicalmente diverso a livello degli aculei superficiali, manca fino a ora qualsiasi prova a suo favore, sebbene questa ipotesi non debba essere scartata del tutto.

I dati finora disponibili indicano, quindi, che gli spostamenti antigenici che danno origine a ceppi pandemici del virus dell'influenza possono risultare sia dalla ricombinazione sia dalla trasmissione diretta del virus dagli animali. Il criterio definitivo della capacità di un virus dell'influenza di provocare una pandemia è che esso deve possedere la doppia proprietà di passare facilmente da un essere umano a un altro e di essere in grado di indurre la malattia. Le pandemie sono spiegate in modo molto lineare dal fenomeno della ricombinazione tra un virus influenzale proveniente (o interno) da (o a) un serbatoio animale e un virus già presente nell'uomo, con la acquisizione di aculei proteici nuovi e la conservazione dei geni responsabili delle proprietà morbigene e della capacità di diffusione. A tutt'oggi non sappiamo quale delle otto combinazioni geniche del virus dell'influenza specifici la capacità di trasmissione. La virulenza è quasi sicuramente poligenica (cioè richiede l'azione di 20 o più segmenti di RNA). Ne consegue che i virus dell'influenza suina isolati dall'uomo, nel 1976, mancavano evidentemente della proprietà di trasformarsi, nell'uomo, in un ceppo pandemico, ma non siamo ancora in grado di dire a quale livello genico.

I vaccini contro l'influenza sono finora solo parzialmente efficaci per la prevenzione della malattia tra gli esseri umani e non riescono a limitare la grande diffusione dell'influenza nelle epidemie e nelle pandemie. Questa situazione è in netto contrasto con quella del vaiolo, che possiede un complesso di caratteristiche epidemiologiche molto speciali, come l'assenza di serbatoi animali significativi e l'esistenza di una immunità a lungo termine acquisita in seguito a infezione naturale oppure a vaccinazione. Queste caratteristiche rendono relativamente facile il compito di prevenire la diffusione

estensiva di una malattia come il vaiolo.

Anche se l'efficacia degli attuali vaccini antinfluenzali inattivati fosse grandemente migliorata, ostacoli quali i processi di produzione del vaccino, laboriosi e costosi, e i problemi della applicazione di massa in un breve lasso di tempo (esemplificati dalla recente esperienza con il vaccino contro l'influenza suina negli Stati Uniti) ne limiterebbero l'utilizzazione a pochi paesi privilegiati. Sono in atto ricerche in numerosi paesi, tra cui Stati Uniti, Inghilterra, Cina e Russia, allo scopo di sviluppare vaccini vivi modificati che siano efficaci, sicuri e geneticamente stabili. Secondo le indicazioni attuali un vaccino del genere sarà anche economico e relativamente facile da produrre e da somministrare. Il cammino necessario al raggiungimento di una simile combinazione di proprietà, tuttavia, sarà arduo, soprattutto per quanto riguarda la sicurezza e l'efficacia.

Laddove è stata individuata la deriva antigenica di un ceppo virale, e in tutti i casi di spostamento antigenico, è essenziale incorporare nel vaccino tutti i nuovi antigeni formati. Ciò richiede procedimenti altamente specialistici e che occupano molto tempo, con il risultato che possono trascorrere diversi mesi prima che il vaccino possa essere disponibile in quantità. Ciò richiede anche un programma di sorveglianza globale efficiente, allo scopo di controllare la comparsa di nuovi ceppi, una attività che è oggi coordinata dalla WHO. Le modalità attuali di produzione del vaccino comprendono la ricombinazione degli antigeni più importanti *H* e *N* con ceppi che danno un notevole rendimento, negli embrioni di pollo; i virus ottenuti vengono quindi inattivati. Una direttiva intelligente per il futuro può essere quella di preparare, e conservare in frigoriferi, ricombinanti di ceppi altamente riproduttivi, con tutti i nuovi antigeni *H* e *N* scoperti nell'uomo e negli animali. Quindi se un nuovo ceppo dovesse acquisire caratteristiche epidemiche, nella «banca» dei ricombinanti si potrebbero produrre rapidamente i relativi vaccini. Questo tentativo è in corso di attuazione in alcuni paesi, ma è complicato dalla scoperta continua di nuovi tipi antigenici del virus della influenza animale.

È impossibile prevedere la dimensione della minaccia costante rappresentata dal grande e non eliminabile serbatoio di virus dell'influenza, esistente nelle specie animali domestiche e negli uccelli. Ciò che oggi è maggiormente necessario è ampliare le nostre conoscenze, allo scopo di determinare la eventuale esistenza di limitazioni di tipo naturale alle combinazioni geniche; in altre parole, determinare se solo certi ceppi influenzali siano prevedibilmente in grado di indurre la malattia nell'uomo. È certo che in futuro si verificheranno pandemie di influenza, ma, considerata la nostra sempre maggiore conoscenza della malattia e della sua ecologia, sembra improbabile che queste nuove manifestazioni possano essere devastanti come quelle del passato.