

Virus influenzali emergenti

Misure di prevenzione nella popolazione generale

Fra il mese di Ottobre 2008 ed il primo trimestre 2009 i Centri di sorveglianza epidemiologica della World Health Organization (WHO) rilevarono a Città del Messico un inatteso incremento dei casi di influenza A, cui seguì un primo comunicato ufficiale del 29 Aprile 2009¹. L'incremento era inatteso per tempi, modalità e popolazione interessata. In primo luogo perché si verificava a stagione influenzale ormai chiusa per quell'area geografica; in secondo luogo per la sintomatologia in

parte anomala rispetto a quella classica; infine, perché ad essere colpiti non erano gli anziani ma prevalentemente le fasce più giovani. Da quella data sino al 6 Luglio si sono succeduti, a ritmo pressoché quotidiano, 58 Situation Updates relativi ad un *nuovo virus influenzale A*, di sottotipo H1N1, presente negli allevamenti di maiali e per questo motivo informalmente definita *Influenza Suina (Swine Flu)*.

Ai costanti aggiornamenti delle Autorità sanitarie internazionali e nazionali, si è aggiunta una campagna mediatica che ricorda, per molti aspetti, quella che fra la fine del 2003 e l'inizio del 2004 accompagnò un'altra potenziale pandemia: l'influenza aviaria da virus influenzale A sottotipo H5N1. Apparentemente, l'allarme planetario potrebbe sembrare in parte stimolato dai media; in realtà il progressivo innalzamento della soglia di allarme è dettato dalle Autorità sanitarie preposte (WHO) o con riconosciuta competenza (Centers for Disease Control -CDC-), e si basa su dati storici e di virologia molecolare cui sono applicati modelli matematici di diffusione del virus, con previsione dei casi di contagio e di decesso; tali proiezioni sono quindi comparate con i casi realmente osservati dai centri di rilevamento e, sulla base di queste compara-

zioni, si definisce il livello di allarme².

Perché virus influenzali emergenti determinano elevato allarme sanitario?

Dopo poche settimane dal primo bollettino WHO si è propagato il crescente timore che un focolaio apparentemente circoscritto ad una piccola area geografica, potesse colpire vasti strati della popolazione in tutto il mondo, configurando il rischio di una pandemia, ovvero un' "*epidemia a larghissima estensione, senza limiti di regione o continente*". Sulla base di questa ipotesi l'11 Giugno 2009 alle ore 14 ora di Greenwich, la Dr.ssa Margaret Chan, Direttore Generale WHO, dichiarava che a partire da quel momento si passava al livello 6 di allarme, il livello di rischio pandemico.

Il passaggio a questo livello di allarme si imponeva sulla base degli ultimi riscontri epidemiologici, essendo già stati confermati 28.774 casi di infezioni da virus influenzale suino (A/H1N1) in 74 Paesi del mondo con 144 decessi già accertati³. Tuttavia, se si considera solo il numero complessivo dei casi di contagio ed il tasso di mortalità (0.5%), i dati sembrerebbero preoccupanti ma non da allarme planetario. Perché quindi tale livello di

Pregliasco F. *Emerging influenza viruses. Prevention in the general population. Trends Med* 2009; 9(4):211-217.

©2009 Pharma Project Group srl.
ISSN: 1594-2848

Key words:
oxidative stress
viral infection*
pandemia
influenza A (H1N1)
antioxidant*
resveratrol
supplementation
swine flu

✉ **Fabrizio Pregliasco**
Dipartimento di Sanità Pubblica -
Virologia - Microbiologia
Università Degli Studi di Milano
Via C. Pascal, 36
20133 Milano

Tabella 1. Impatto delle grandi pandemie influenzali.

Nome	Anno	Sottotipo	Decessi
Russa	1889-90	¿H2N2?	>1 milione
Spagnola	1918-20	H1N1	50-100 milioni
Asiatica	1957-58	H2N2	1.5-2.0 milioni
Hong Kong	1968-69	H3N2	0.75-1.0 milioni
Aviaria	2003-2005	H5N1	258
Suina	2009-??	H1N1	144 (al 11/06/09)

vigilanza? Il livello di allerta origina in questi casi da tre fattori: 1) le caratteristiche genetiche del virus in questione, ovvero l'assenza di precedente contatto con la popolazione generale; 2) la sua patogenicità; 3) la sua trasmissibilità. In questo caso il virus, isolato per la prima volta su un paziente californiano di rientro dal Messico, si è dimostrato essere il "riassortimento recente di un precedente virus a sua volta proveniente dalla tripla ricombinazione genetica maiale-uomo-uccello, circolante da oltre dieci anni in suini ma mai/rarissimamente passato all'uomo"⁴. L'esame dei casi ha inoltre evidenziato l'elevata trasmissibilità interumana di questo nuovo virus suino e, fortunatamente, la sua bassa letalità. Ciò che ha determinato la rapida escalation dell'allarme sanitario è stato quindi non solo il salto di specie (*antigenic shift*) di un virus geneticamente nuovo, ma l'aver acquisito nel tempo un'elevata capacità di contagio. Va infatti ricordato che, mentre i casi di contagio accertati fra uomo ed uomo di vari virus influenzali di origine suina registrati fra il 1958 ed il 2009 ammontano a soli 61 episodi, la nuova variante ha fatto registrare quasi 30.000 casi in poco più di 6 mesi.

Più che alla precedente influenza aviaria del 2004 (virus influenzale A/H5N1), che aveva bassa trasmissibilità interumana ma elevata mortalità, questa influenza ricorda piuttosto l'Asiatica del 1957 (A/H2N2) e la Hong Kong del 1968 (A/H3N2), entrambe con livelli di diffusibilità e letalità moderati (tabella 1). In un modello matematico preparato nel 2005 in occasione della possibile pandemia di influenza aviaria, che teneva conto della letalità e trasmissibilità del virus, si stimarono circa 180 milioni di decessi in assenza di profilassi vaccinale e con una permanenza media del virus nell'ambiente per 12-36 mesi se non fossero state adottate efficaci misure globali di contenimento⁵. Fortunatamente, le misure adottate e la bassa capacità di trasmissione interumana del virus aviario hanno ridotto i decessi a poche centinaia di unità. Ad oggi il virus è ancora circolante e fra il 2007 ed il 2008 sono stati accertati 106 casi con 76 decessi (letalità 71%).

Misure di prevenzione e contenimento

I rischi di trasmissione sono ovviamente correlati alla circolazione del virus nell'ambiente, quindi alla circolazio-

ne delle persone contagiate, una variabile a basso impatto fino alla prima metà degli anni '50 ma incontrollabile nell'era della globalizzazione. La soglia di allarme 6 WHO (allarme pandemia) prevede l'attivazione a livello nazionale di una serie di misure dirette ed indirette di *prevenzione e risposta* coordinate a livello mondiale dalla WHO medesima. Tali misure prevedono la tutela della popolazione potenzialmente interessata attraverso la preparazione di numerose strutture, sanitarie e non, atte a far fronte alla crisi: dalla preparazione dei posti letto ospedalieri alle scorte di farmaci, dal controllo sanitario degli ingressi alle frontiere sino alla quarantena dei sospetti portatori ed alla profilassi antivirale obbligatoria del personale impiegato in servizi di pubblica utilità. Tali norme sono contenute per l'Italia in un apposito documento del Ministero della Salute, il *Piano Nazionale di Preparazione e Risposta ad una Pandemia Influenzale*⁶.

In linea generale le misure di prevenzione in attesa di un vaccino efficace prevedono la limitazione degli spostamenti verso le zone maggiormente colpite e quelle non ancora colpite, l'adozione di specifiche norme igieniche, l'isolamento domiciliare dei pazienti sospetti, l'uso di sistemi di

Il livello di allarme pandemia si basa sul rischio di contagio effettivamente misurato nella popolazione generale che, combinato con i tassi di letalità registrati, consente di allestire modelli matematici con previsione dei decessi.

La WHO ha individuato da anni nelle carenze nutrizionali uno dei fattori di rischio per la diffusione di numerose malattie infettive, in particolare da patogeni emergenti.

protezione per le persone a contatto con persone potenzialmente infette e “campagne informative per promuovere una diagnosi precoce anche da parte dei pazienti stessi”⁶.

Che cosa può essere fatto, in aggiunta alle misure sopra citate e, soprattutto, quale ruolo gioca in questo contesto il Medico di famiglia? Tre aspetti sono essenziali: 1) informare la popolazione sulle modalità di contagio e sulle misure di prevenzione; 2) evitare, nei limiti del possibile, l'esposizione; 3) aumentare la reattività immunitaria.

Il medico di famiglia può intervenire su tutti e tre i fattori di rischio appena esposti. Le Linee Guida WHO sconsigliano la profilassi a tappeto con farmaci antivirali, se non in casi selezionati, sia per evitare la comparsa di resistenze precoci sia per conservare le scorte di farmaci, ma indicano *nella malnutrizione e nelle carenze nutrizionali uno dei rischi maggiori di allargamento del contagio*⁷.

La reattività immunitaria alle infezioni virali

In effetti, molti lavori sperimentali e clinici hanno dimostrato un'aumentata suscettibilità alle infezioni virali in presenza di malnutrizione e deficit di alcuni micronutrienti e vitamine più direttamente coinvolti nei processi

di ingresso e replicazione dei patogeni⁸⁻¹⁰. Sin dal 1979, in un apposito report, il WHO aveva sottolineato che “*maggiori sforzi dovrebbero essere spesi per spezzare il rapporto malnutrizione-infezione con misure di immunizzazione più efficaci... riducendo il rischio di deficit immunitario... anche con l'adozione di supplementi nutrizionali e misure di immunopotenziamento*”⁷. Oggi, sulla base dell'esperienza maturata con le ripetute emergenze epidemiche, abbiamo due ulteriori buone ragioni a favore del ruolo dell'immunopotenziamento, sia in attesa del vaccino sia nella eventuale fase vaccinale: 1) la capacità produttiva di un vaccino antinfluenzale a livello mondiale è in grado di fornire non più di 450 milioni di dosi/anno, con copertura di solo il 7.5% della popolazione; 2) la vaccinazione non sempre determina livelli anticorpali adeguati ed intere categorie (anziani, defedati, etc) rimangono comunque esposte al-

l'infezione¹¹. In entrambi i casi favorire la reattività immunitaria può essere di notevole beneficio nel contenimento dell'infezione¹².

Fattori nutrizionali e permissività all'infezione

In questo contesto, quindi, l'uso preventivo di supplementi contenenti sostanze attive sul sistema immunitario ha un suo razionale di impiego, sia in attesa della profilassi vaccinale sia come adiuvante al vaccino per aumentare il titolo anticorpale negli anziani e nei soggetti defedati, notoriamente caratterizzati da risposta immunitaria *pigra*^{13,14}. Adeguate dosi di vitamina A, vitamina C, vitamina E, zinco, selenio ed antiossidanti hanno dimostrato di contrastare, con modalità varie e talvolta sinergiche, sia la fase di contagio che quella di replicazione^{15,16}.

In questo contesto un ruolo rilevante è attribuito in letteratura ad un polifenolo non flavonoide, *il resveratrolo*

Figura 1. Resveratrolo inibisce l'attività delle Protein-Kinasi C (PKC), con blocco della traslocazione delle particelle virali nascenti al di fuori del nucleo, nel quale avviene l'assemblaggio finale della particella matura.

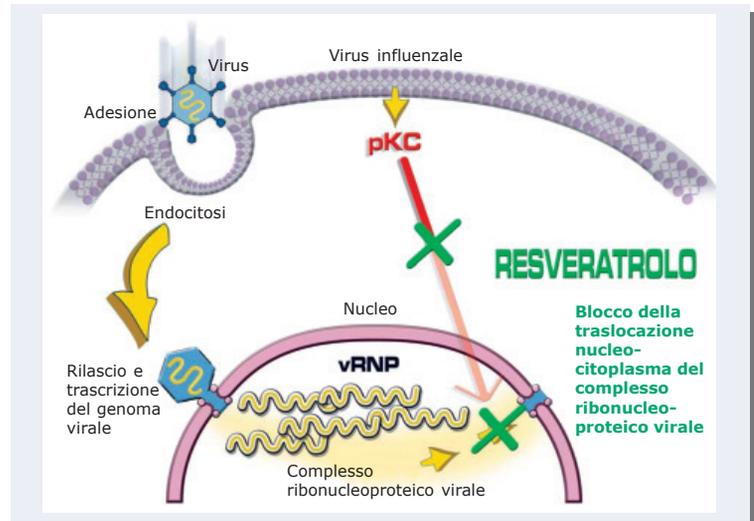
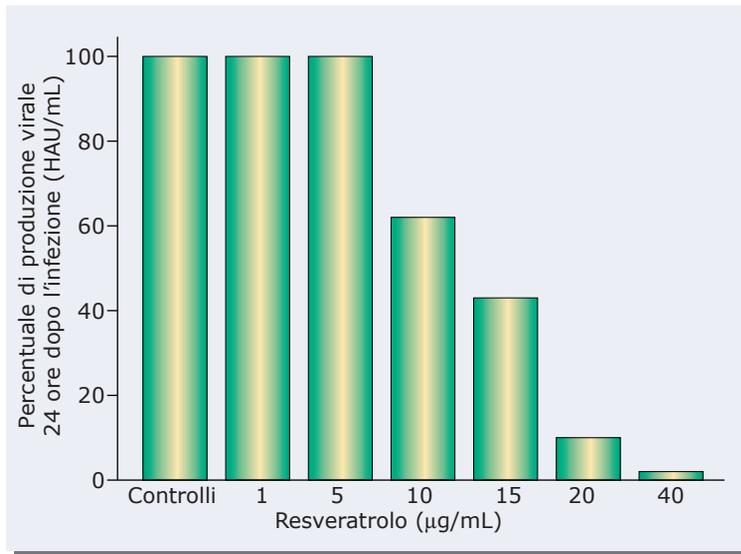


Figura 2. Inibizione in vitro della replicazione del virus influenzale A a 24 ore dall'infezione. (Dati da Palamara et al. 2005¹⁸).



(RES) che, fra una moltitudine di effetti biologici, *esprime anche una spiccata attività antivirale* sia diretta, su numerosi virus incluso quelli influenzale, sia indiretta attraverso un'azione immunofavorente¹⁷⁻¹⁹.

Resveratrolo e virus respiratori

Numerosi studi sperimentali hanno dimostrato che RES è in grado di inibire la replicazione dei virus erpetici, del citomegalovirus e, con meccanismi ancora non noti, di aumentare la risposta al trattamento con antivirali nei soggetti HIV-positivi²⁰⁻²². In studi più recenti, resveratrolo ha inoltre dimostrato di inibire l'infezione da virus influenza-

le con un meccanismo probabilmente generalizzabile a molti altri virus respiratori, inclusi gli Adenovirus ed il Virus Respiratorio Sinciziale^{18,19}.

Azione antivirale diretta.

L'attività diretta della molecola sul virus influenzale sembra correlata alla sua capacità di interferire con la sintesi delle proteine virali tardive e con il trasferimento extranucleare delle ribonucleoproteine virali (figura 1). Più precisamente, resveratrolo blocca le Protein-Kinasi C (PKC) e le vie enzimatiche da esse dipendenti, un meccanismo cruciale nella cascata replicativa di tutti i virus influenzali. L'effetto di resveratrolo è risultato dose-dipendente,

con efficacia *in vitro* a partire da 10 µg/mL (figura 2).

In uno studio più recente è stato inoltre possibile dimostrare che l'azione antivirale osservata sul virus influenzale, misurata come inibizione dell'effetto citopatico diretto virus-indotto, si estendeva a differente concentrazione anche ad altri virus respiratori, suggerendo che l'attività antivirale della molecola è potenzialmente ad ampio spettro (tabella 2).

Azione immunofavorente.

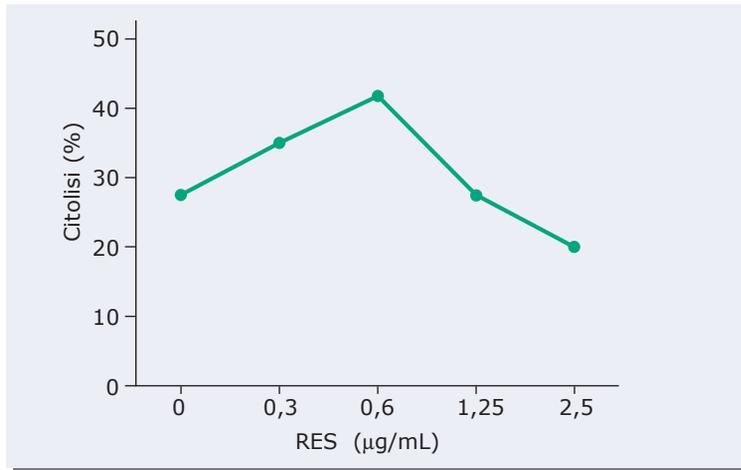
Il resveratrolo esercita azione immunostimolante a basse dosi, ed inversione della risposta per dosaggi più elevati, ai quali si ha effetto inibitorio sulla proliferazione linfocitaria e sull'espressione di alcune citochine, con conseguente immunosoppressione²³⁻²⁵. Questo apparente paradosso è stato confermato da uno studio di Feng che ha osservato in splenociti di ratto attivazione linfocitaria, con stimolazione della risposta umorale e produzione di interferone gamma (IFN-γ) e delle interleuchine 2 e 12 (IL-2; IL-12) per concentrazione di resveratrolo <12 µmol/L e, viceversa, inibizione della risposta linfoproliferativa per concentrazioni >24 µmol/L²³. L'effetto bifasico di RES sulla stimolazione di cellule mononucleate di sangue periferico (PBMC) è stato dimostrato anche da Falchetti *et al.* per varie citochine (figura 3).

Questi dati supportano l'ipotesi che la supplementazione con basse dosi di RES per periodi congrui possa mantenere il sistema immunitario in *stato di vigilanza* di fronte all'ingresso di vari patogeni respiratori.

Tabella 2. Attività antivirale di resveratrolo (RES) su differenti virus respiratori. (Dati da Drago L et al 2008¹⁹).

Patogeno	RES (mg/mL)
Influenzale A	0.5
Adenovirus	1.0
Virus Respiratorio Sinciziale	2.0

Figura 3. Effetti di RES a varie concentrazioni sulla induzione di linfociti T-citotossici (CTL) dopo sensibilizzazione di polimorfonucleati con cellule MT-2: la citolisi è massima verso l'agente esterno per concentrazioni di RES pari a 0.6 µg/mL. (Dati da Falchetti et al 2001¹⁷).



Vitamine antiossidanti (A, C, E)

Numerose evidenze suggeriscono che lo squilibrio della bilancia ossidoriduttiva possa essere un fattore di permissività all'infezione^{26,27}. Le modalità con cui i radicali liberi rilasciati da neutrofili e macrofagi, evento fisiologico e necessario a contenere le infezioni, può invece favorire la replicazione virale se prodotti in modo abnorme sono molteplici; fra queste, la possibilità di alterare il pH cellulare è stata individuata come fattore preminente²⁸. Per questo motivo, alcuni supplementi mirati a modulare il sistema immunitario contro le infezioni virali contengono mix di vitamine ad azione antiossidante come la vitamina A, C ed E più alcuni elementi traccia (oligoelementi) come zinco e selenio²⁹⁻³¹.

Elementi traccia

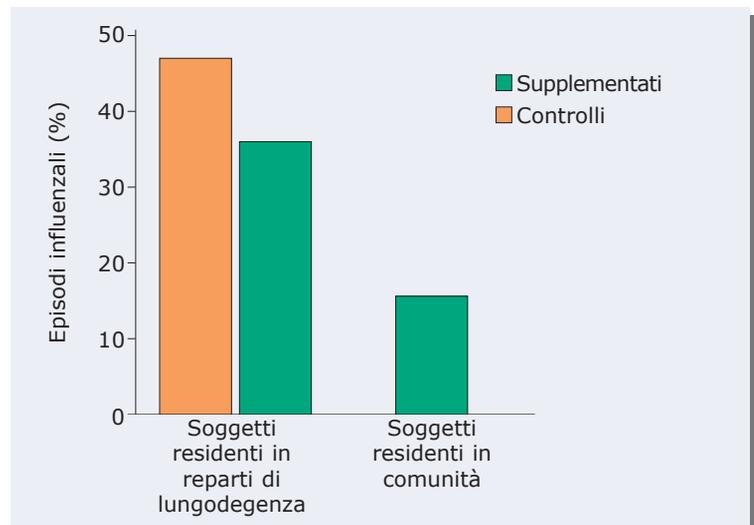
Almeno due elementi traccia, Zinco (Zn) e Selenio (Se) sembrano essere direttamente coinvolti nei processi di im-

munomodulazione³²⁻³⁵. Supplementi contenenti questi micronutrienti, in associazione a vitamine ed antiossidanti, hanno dimostrato di migliorare la risposta anticorpale in generale e dopo vaccinazione influenzale in soggetti anziani e/o defedati^{36,37}. In uno studio pilota, soggetti anziani (suddivisi come: lungodegenti ospitati in casa di

L'uso di supplementi immunofavorenti contenenti miscele di antiossidanti, elementi traccia e vitamine si basava in passato su osservazioni epidemiologiche che mostravano un minor tasso di infezioni in soggetti con elevato introito dietetico di queste sostanze e che oggi hanno un fondamento in osservazioni di patologia molecolare.

riposo oppure residenti in comunità) sono stati sottoposti a profilassi vaccinale antinfluenzale da sola o in associazione ad un ciclo di supplementazione adiuvante con un composto a base di resveratrolo (2.5 mg/b.i.d.) più zinco (7 mg/b.i.d.) più vitamina C (90 mg/b.i.d.) più flavonoidi (80 mg/b.i.d.), somministrato per un periodo di 30 o 60 giorni³⁸. Nei soggetti supplementati si è osservata una riduzione degli episodi influenzali e delle complicanze polmonari (bronchite acuta e riacutizzazione della bronchite cronica)

Figura 4. Incidenza di episodi influenzali dopo stratificazione dei pazienti per luogo di cura e trattamento adiuvante a base di resveratrolo. (Dati da Ripoli RC et al 2006³⁸).



rispetto ai controlli (figura 4). Questi dati, presi complessivamente, confermano che l'uso di supplementi può essere di aiuto nel migliorare la risposta immunitaria alle infezioni da virus influenzale A e, più in generale, da virus respiratori. I benefici della supplementazione sono maggiormente evidenti nei soggetti anziani e con carenze nutrizionali, ma numerose indagini epidemiologiche indicano la frequente carenza di vitamine e micronutrienti essenziali nella popolazione generale, con introiti al di sotto dei valori RDA (recommended daily allowance - dosi giornaliere raccomandate) in conseguenza di diete sempre più "occidentalizzate"³⁹⁻⁴¹.

Conclusioni

La possibile epidemia di influenza suina attesa per la stagione invernale 2009-2010 desta numerose preoccupazioni da parte delle Autorità sanitarie, sia che essa si manifesti con la massima intensità sia che essa, come auspicato, possa essere contenuta dalle misure di prevenzione già in atto e che presenti bassa letalità. Le esperienze precedenti hanno però insegnato che la letalità non è necessariamente correlata solo alle caratteristiche virali e che nella maggior parte dei casi se è il virus che *guida il contagio* sono le complicanze batteriche che *eseguono la sentenza*.

La vaccinazione, con i limiti ricordati in caso di reale pan-

demia, rimane la strada maestra per la prevenzione su larga scala. Le campagne informative sono un punto certamente cruciale per ridurre il contagio. Infine, l'utilizzo di misure supplementari volte a migliorare la reattività immunitaria, soprattutto se senza oneri aggiuntivi per il sistema sanitario date le dimensioni del fenomeno, costituisce un'ulteriore opportunità prima dell'impiego dei farmaci antivirali. L'uso di supplementi nutrizionali a base di *sostanze antiossidanti ed immunopotenzianti* si è dimostrato proficuo in questo contesto, indipendentemente dal virus in questione, soprattutto nelle popolazioni a maggior rischio. **TiM**

Bibliografia

1. WHO. Epidemic and Pandemic Alert and Response (EPR). Update #1: influenza-like illness in the United States and Mexico. Accessed 09/07/2009 at http://www.who.int/csr/don/2009_04_24/en/index.html
2. Fraser C, Donnelly CA, Cauchemez S, et al. Pandemic potential of a strain of influenza A (H1N1): early findings. *Science* 2009; 324: 1557-1561.
3. WHO. Epidemic and Pandemic Alert and Response (EPR). Update #47. Accessed on 09/07/2009 at http://www.who.int/csr/don/2009_06_11/en/index.html.
4. Belshe RB. Implications of the emergence of a novel H1 influenza virus. *N Engl J Med* 2009; 360:2667-2668.
5. Hosterholm M. Preparing for the next pandemic. *N Engl J Med* 2005; 352:839-842.
6. Ministero della Salute. Piano Nazionale di preparazione e risposta ad una pandemia influenzale. Accessibile on line al sito: <http://www.who.int/csr/disease/influenza/>
7. Chandra RK. Nutritional deficiency and susceptibility to infection. *Bull World Health Organ* 1979; 57:167-177.
8. Santos JI. Nutrition, infection, and immunocompetence. *Infect Dis Clin North Am* 1994; 8:243-267.
9. Levander OA. Nutrition and newly emerging viral diseases: an overview. *J Nutr* 1997; 127(5 Suppl):948S-950S.
10. Beck MA. Antioxidants and viral infections: host immune response and viral pathogenicity. *J Am Coll Nutr* 2001; 20 (5 Suppl):384S-388S.
11. Fülöp T Jr, Wagner JR, Khalil A, et al. Relationship between the response to influenza vaccination and the nutritional status in institutionalized elderly subjects. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1999; 54:M59-M64.
12. Waldman M. Race is on for flu vaccine. *Nature* 2005; 438:23.
13. Goodwin K, Viboud C, Simonsen L. Antibody response to influenza vaccination in the elderly: a quantitative review. *Vaccine* 2006; 24:1159-1169.
14. Iorio AM, Camilloni B, Basileo M, et al. Effects of repeated annual influenza vaccination on antibody responses against unchanged vaccine antigens in elderly frail institutionalized volunteers. *Gerontology* 2007; 53:411-418.
15. Bhaskaram P. Micronutrient malnutrition, infection, and immunity: an overview. *Nutr Rev* 2002; 60(5 Pt 2):S40-S45.
16. Friel H, Lederman H. A nutritional supplement formula for influenza A (H5N1) infection in humans. *Med Hypotheses*. 2006;67(3):578-87.
17. Falchetti R, Fuggetta MP, Lanzilli G, et al. Effects of resveratrol on human immune cell function. *Life Sci*. 2001;70:81-96.
18. Palamara AT, Nencioni L, Aquilano K, et al. Inhibition of influenza A virus replication by resveratrol. *J Infect Dis* 2005; 191:1719-1729.
19. Drago L, Nicola L, Ossola F, et al. In vitro antiviral activity of resveratrol against respiratory

- viruses. *J Chemother* 2008; 20:393-394.
20. **Docherty JJ, Fu MM, Stiffler BS, et al.** Resveratrol inhibition of herpes simplex virus replication. *Antiviral Res* 1999; 43:145-155.
 21. **Heredia A, Davis C, Redfield R.** Synergistic inhibition of HIV-1 in activated and resting peripheral blood mononuclear cells, monocyte-derived macrophages, and selected drug-resistant isolates with nucleoside analogues combined with a natural product, resveratrol. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000; 25:246-255.
 22. **Evers DL, Wang X, Huang SM, et al.** 3,4',5-Trihydroxy-trans-stilbene (resveratrol) inhibits human cytomegalovirus replication and virus-induced cellular signaling. *Antiviral Res* 2004; 63:85-95.
 23. **Feng YH, Zhou WL, Wu QL, et al.** Low dose of resveratrol enhanced immune response of mice. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23:893-897.
 24. **Gao X, Xu YX, Janakiraman N, et al.** Immunomodulatory activity of resveratrol: suppression of lymphocyte proliferation, development of cell-mediated cytotoxicity, and cytokine production. *Biochem Pharmacol* 2001; 62:1299-1308.
 25. **Gao X, Beeb B Media J et al.** Immunomodulatory activity of resveratrol: discrepant in vitro and in vivo immunological effects. *Biochem Pharmacol* 2003; 66:2427-2435.
 26. **Bao B, Prasad AS, Beck FW, et al.** Zinc supplementation decreases oxidative stress, incidence of infection, and generation of inflammatory cytokines in sickle cell disease patients. *Transl Res* 2008; 152:67-80.
 27. **Beck MA, Handy J, Levander OA.** The role of oxidative stress in viral infections. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 917:906-12.
 28. **Ciriolo MR, Palamara AT, Incercpi S, et al.** Loss of GSH, oxidative stress, and decrease of intracellular pH as sequential steps in viral infection. *J Biol Chem* 1997; 272:2700-2708.
 29. **Semba RD.** Vitamin A and immunity to viral, bacterial and protozoan infections. *Proc Nutr Soc* 1999; 58:719-727.
 30. **Allard JP, Aghdassi E, Chau J, et al.** Effects of vitamin E and C supplementation on oxidative stress and viral load in HIV-infected subjects. *AIDS* 1998; 12:1653-1659.
 31. **Beck MA.** Selenium and vitamin E status: impact on viral pathogenicity. *J Nutr* 2007; 137:338-340.
 32. **Ferencik M, Ebringer L.** Modulatory effects of selenium and zinc on the immune system. *Folia Microbiol* 2003; 48:417-426.
 33. **Hoffmann PR, Berry MJ.** The influence of selenium on immune responses. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52:1273-1280.
 34. **Prasad AS.** Zinc in human health: effect of zinc on immune cells. *Mol Med* 2008; 14(5-6):353-357.
 35. **Haase H, Rink L.** The immune system and the impact of zinc during aging. *Immun Ageing* 2009 12;6:9.
 36. **Wouters-Wesseling W, Rozen-daal M, Snijder M, et al.** Effect of a complete nutritional supplement on antibody response to influenza vaccine in elderly people. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2002; 57:M563-M566.
 37. **Langkamp-Henken B, Bender BS, Gardner EM, et al.** Nutritional formula enhanced immune function and reduced days of symptoms of upper respiratory tract infection in seniors. *J Am Geriatr Soc* 2004; 52:3-12.
 38. **Ripoli RC, D'Intino MV, Pedicino MO, et al.** Adjuvant activity of a resveratrol based food supplement in flu subjects. *Trends Med* 2006; 6:285-291.
 39. **Levander OA.** Clinical consequences of low selenium intake and its relationship to vitamin E. *Ann N Y Acad Sci* 1982; 393:70-82.
 40. **Hampl JS, Taylor CA, Johnston CS.** Vitamin C deficiency and depletion in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988 to 1994. *Am J Public Health* 2004; 94:870-875.
 41. **Fischer Walker CL, Ezzati M, Black RE.** Global and regional child mortality and burden of disease attributable to zinc deficiency. *Eur J Clin Nutr* 2009; 63:591-597.

