

**SIMPOZIJUM
„DANI
MIKROBIOLOGA
SRBIJE 2016”**

**“DANI MIKROBIOLOGA
SRBIJE 2016”**

Beograd, 12-13. maj 2016.

ORGANIZATORI

UDRUŽENJE MIKROBIOLOGA SRBIJE, Beograd
UDRUŽENJE MEDICINSKIH MIKROBIOLGA SRBIJE, Beograd

Izdavač: UDRUŽENJE MIKROBIOLOGA SRBIJE, Nemanjina 6, Beograd

Za izdavača: Dragojlo Obradović, predsednik Udruženja

Urednici:

Dragojlo Obradović
Lazar Ranin

Štampa:

Megaphone d.o.o., Beograd

Tiraž:

200 primeraka

ISBN 978-86-914897-3-1

CIP - Каталогизacija u publikaciji -
Народна библиотека Србије, Београд
579(048)(0.034.2)

СИМПОЗИЈУМ Дани микробиолога Србије (2016 ; Београд)
Simpozijum Dani mikrobiologa Srbije 2016, Beograd, 12-13. maj
2016,
[Elektronski izvor] / [organizatori Udruženje mikrobiologa Srbije,
Beograd
[i] Udruženje medicinskih mikrobiolga Srbije, Beograd ; urednici
Dragojlo
Obradović, Lazar Ranin]. - Beograd : Udruženje mikrobiologa Srbije,
2016
(Beograd : Megaphone). - 1 elektronski optički disk (CD-ROM) ; 12 cm

Sistemski zahtevi: Nisu navedeni. - Nasl. sa naslovnog ekrana. - Tekst
na srp. i engl. jeziku. - Tiraž 200. - Bibliografija uz pojedine radove. -
Registar.

ISBN 978-86-914897-3-1

1. Удружење микробиолога Србије (Београд)
а) Микробиологија - Апстракт
COBISS.SR-ID 223294732

ULOGA NACIONALNOG INFLUENCA CENTRA SZO U NADZORU NAD GRIPOM

Prof. Dr Vesna Milosevic, Prof.dr Ivana Hrnjaković Cvjetković, Jelena Radovanov
Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu, Institut za javno zdravlje Vojvodine

Influenca virusi su etiološki agensi akutne bolesti respiratornog sistema , influence ili gripa, aktuelne i nepredvidive bolesti koja predstavlja veliki zdravstveni problem u svetu. Pripadaju familiji *Orthomyxoviridae* koja po najnovijoj klasifikaciji Internacionalnog komiteta za taksonomiju virusa obuhvata 6 genusa, *Influenzavirus A*, *B* i *C* i 3 manje značajna za medicinu, *Thogotovirus*, *Isavirus*, *Quarantivirus*. Trenutno u ljudskoj populaciji cirkulišu dva humana influenza A podtipa: A(H1N1)pdm09 i A(H3N2), a povremeno se beleže i pojedinačni slučajevi obolevanja od ptičijih influenza virusa podtipa A(H5N1), A(H7N9), A(H9N2), A(H10N8), kao i svinjskih influenza virusa podtipa A(H1N1)v i A(H3N2)v. Među influenza B virusima, razlikuju su dva genotipa: B/Yamagata i B/Victoria. Svake godine, humani influenza A i B virusi izazivaju epidemije gripa, a influenza A virusi i povremene pandemije. Influenca C virus izaziva blage respiratorne infekcije, nema epidemijski potencijal i od manjeg je medicinskog značaja. Procenjuje se da influenza virusima svake godine biva inficirano između 5-10% odraslih i 20-30% dece, a u pandemijskim godinama i do 50% svetske populacije. Iako većina infekcija prolazi u vidu blage ili umereno-teške akutne infekcije gornjih respiratornih organa, godišnje se beleži 3-5 miliona teških slučajeva gripa, praćenih različitim komplikacijama poput primarne virusne ili sekundarne bakterijske pneumonije, akutnog respiratornog distres sindroma i pogoršanja hroničnih obolenja. Između 250 i 500 hiljada smrtnih slučajeva godišnje, povezuje se sa influencom. Kontinuirane antigenske promene influenza virusa čini proizvodnju vakcine pravim izazovom i uslovljava potrebu da se njen sastav procenjuje 2 puta godišnje. Zbog ovih osobina influenza tj. grip ima posebno mesto u sistemu praćenja infektivnih bolesti. Eksperti SZO su 1952. godine osnovali globalnu mrežu za nadzor nad influencom sa ciljem ranog otkrivanja novog soja virusa influence sa pandemijskim potencijalom, ali i prevencije infekcije određivanjem sastava vakcine. Global Influenza Surveillance and Response System – GISRS ima za cilj da prati evoluciju influenza virusa, pruži preporuke u pogledu

laboratorijske dijagnostike, vakcina, antivirusne rezistencije i procene rizika i da je u svakom momentu globalni sistem za uzbunjivanje u slučaju pojave novog virusa sa pandemijskim potencijalom. GISRS obuhvata 6 kolaborativnih centara za referentnost i ispitivanje Influenca virusa, 4 referentne laboratorije za antigenske i genske analize i 142 Nacionalna influenza centra smeštenih u 112 zemalja članica SZO. Nacionalni influenza centar Novi Sad je uključen u GISRS od 1953 i jedan je od dva NIC centra u Srbiji. Na osnovu rezultata prikupljenih iz celog sveta, stručnjaci SZO pripremaju godišnje smernice za sastav vakcine protiv influence, jednom godišnje za svernu i nakon 6 meseci za zemlje južne hemisfere. U sklopu svojih obaveza prema SZO NIC Novi Sad se bavi dokazivanjem, i karakterizacijom tipova i podtipova influenza virusa koji cirkulišu na području AP Vovodine i o tome redovno izveštavaju štab SZO u Ženevi, reprezentativne uzorke šalje na dodatno genetičko i antigensko ispitivanje u Referentni centar SZO u London i prolazi kroz godišnje provere kvaliteta izvođenja molekularne detekcije influenza virusa koju sprovodi referentna laboratorija iz Hong Konga. SZO snabdeva NIC Novi Sad reagensima potrebnim za identifikaciju influenza virusa, izveštava o rezultatima analiza poslatih virusnih izolata i pruža informacije o regionalnoj i globalnoj aktivnosti influenza virusa. U NIC-u Novi Sad se sprovodi klasična dijagnostička metoda, izolacija influenza virusa iz uzorka na embrionisanim kokošijim jajima, određivanje tipa, podtipa i varijante virusa reakcijom inhibicije hemaglutinacije pomoću referentnih imunih seruma koje distribuira SZO preko CDC (Atlanta), a od 2011 primenjuje se molekularna metoda, real-time RT-PCR, kojom se vrši određivanje tipa i podtipa virusa pomoću specifičnih setova proba i prajmera koje distribuira SZO preko CDC (Atlanta). Dijagnostika influence se sprovodi po algoritmu preporučenom od CDC. U periodu od 2010/11-2014/15 u NIC centru analizirano je molekularnom metodom 1353 bolesnička uzorka. Pozitivnih je bilo 47,3%, Influenca A je dokazana u 75,2%, a influenza B u 24,8%. Podjednako su bila zastupljena oba podtipa Influenca A virusa, Influenca A (H1N1)pdm09 u 49%, Influenca A(H3N2) u 51%, a preovlađivao je B Yamagata (87,2%) u odnosu na soj B Victoria (19%). Sezonska varijacija u cirkulaciji podtipova virusa Influence je rezultat potipskog imuniteta vojvođanske populacije. Izolaciji influenza A virusa, iz sezona 2012/2013 i 2013/2014, na MDCK ćelijskim kulturama podvrgnuto je 175 virusa prethodno dokazanih real-time RT-PCR testom. Procenat uspešnih izolacija iznosio je 28%. Nije uočena signifikantna razlika u procentu

uspešnih izolacija između dva influenza A podtipa. Nizak procenat uspešnih izolacija može biti rezultat malog broja vijabilnih viriona prisutnih u delu ispitivanih uzorka, ili su problemi u postupku izolacije influenza virusa u živim sistemima vezani za promenu njihove receptor specifičnosti koja se javlja kao posledica kontinuiranog antigenskog drifta. Izmena receptor specifičnosti, odnosno izmena sposobnosti umnožavanja influenza virusa u živim sistemima, od najvećeg je značaja za mogućnost antigenske karakterizacije virusa i produkcije vakcina. Odabir sojeva influenza virusa koji će biti uključeni u vakcinu, ne zavisi samo od virusološko-epidemioloških podataka nego i od sposobnosti odgovarajućeg virusa da se adekvatno umnožava, prvenstveno u embrionisanim kokošijim jajima na kojima se proizvode najveće količine vakcine protiv gripa. Nakon izbijanja pandemije 2009. godine, proizvodnja vakcine protiv A(H1N1)pdm09 virusa bila je otežana zbog sporog umnožavanja novog virusa u jajima. Ispitivanjem sposobnosti dobijenih izolata da aglutiniraju eritrocite kokoške, zamorca i humane eritrocite nulte krvne grupe u reakciji hemaglutinacije, najbolji rezultati postignuti su sa eritrocitima zamorca, a najlošiji sa eritrocitima kokoške, nijedan izolat A(H3N2) podtipa ih nije aglutiniralo. Odabir najosetljivijih eritrocita za ispitivani virus, od ključnog je značaja za mogućnost izvođenja i tumačenja rezultata reakcije inhibicije hemaglutinacije (RIH), odnosno za postupak antigenske karakterizacije influenza virusa. Antigenskom karakterizacijom izolata influenza A(H1N1)pdm09 podtipa u sezoni 2012-2013 reakcijom inhibicije hemagutinacije, uočena je zadovoljavajuća antigenska sličnost sa vakcinalnim virusom A/California/7/2009, što je u skladu sa rezultatima antigenske analize najvećeg broja virusa A(H1N1)pdm09 podtipa širom sveta. Nije došlo do značajnijeg antigenskog drifta kod influenza virusa A(H1N1)pdm09 podtipa, te je prema preporukama SZO, A(H1N1)pdm09 komponenta vakcine nepromenjena još od sezone 2010/2011. Antigenska karakterizacija izolata influenza virusa A(H3N2) podtipa iz sezone 2012/2013, u RIH sa imunim serumom protiv vakcinalnog A/Victoria/361/2011 virusa, za sezonu 2012/2013 pokazala je antigensko neslaganje. Prema podacima KCR II u Londonu, iste antigenske karakteristike primećene su kod najvećeg broja A(H3N2) virusa. U julu je izvršena korekcija sastava vakcine i aktuelnom A(H3N2) virusu više je antigenski odgovarao soj A/Texas/50/2012. U toku sezone 2013/2014, došlo je do antigenskog drifta influenza A(H3N2) virusa. U septembru 2014. godine predloženo je da u sastav vakcine za sezonu 2015 u Južnoj

hemisferi i sezonu 2015/2016 u Severnoj hemisferi, uđe virus A/Switzerland/9715293/2013. Antigenska analiza izolata iz upravo završene sezone 2015/2016, ponovo je dovela do promene preporuke SZO u pogledu A(H3N2) komponente vakcine. Većina ispitanih virusa bila je antigenski sličnija virusu A/Hong Kong/4801/2014 i preporučeno da taj virus uđe u sastav vakcine za narednu sezonu 2016/2017. Ove sezone prvi put u NIC centru Novi Sad izvršeno je ispitivanje osetljivosti izolata influenza A virusa iz sezona 2012/13 i 2013/14, na antivirusni oseltamivir. Upotrebljen je hemiluminiscentni test inhibicije enzimske aktivnosti neuraminidaze "NA-HTD" (Applied Biosystems). On omogućuje određivanje IC₅₀ vrednosti koje predstavljaju koncentraciju antivirusa potrebnu za redukciju 50% aktivnosti neuraminidaze standardnog osetljivog soja virusa. Vrednost odnosa IC₅₀ vrednosti ispitivanog virusa i IC₅₀ vrednosti referentnog osetljivog virusa, omogućuje klasifikaciju virusa u tri kategorije: <10 - virus normalne inhibicije antivirusom; 10-100 - virus redukovane inhibicije antivirusom; >100 - virus visoko redukovane inhibicije antivirusom. Rezultati testiranja influenza A(H1N1)pdm09 virusa pokazali su da svi ispitani virusi spadaju u grupu virusa sa normalnom inhibicijom oseltamivirom. Isti rezultati dobijeni su i ispitivanjem izolata A(H3N2) podtipa. U sklopu obaveza koje NIC Novi Sad ima, izvestan broj reprezentativnih izolata influenza virusa svake godine se šalje u KCR II u London, na detaljnu antigensku i genetičku analizu i ispitivanje osetljivosti prema inhibitorima neuraminidaze. U periodu 2013-2015, u Londonu analizirani izolati A(H1N1)pdm09 podtipa na osetljivost prema inhibitorima neuraminidaze su pokazali normalnu inhibiciju oseltamivirom, dok izolati A(H3N2) podtipa svi sem jednog su pokazali normalnu inhibiciju oseltamivirom. Jedan virus, označen kao A/Srbia/NS-613/2014, izolovan u januaru 2014 godine iz pacijenta koji je lečen ambulantno i nije bio tretiran antivirusima, pokazao je 8 puta manju inhibiciju oseltamivirom u odnosu na referentni osetljivi soj. Sekvenciranje NA gena pokazalo je da je ovaj virus nosilac mutacije Q391H, povezane sa rezistencijom na inhibitore neuraminidaze. Rezultati ispitivanja rezistencije influenza A virusa na oseltamivir, predstavljaju prve podatke o ovoj važnoj karakteristici u našoj sredini.

Lisa A. Grohskopf, MD1, Sonja J. Olsen, PhD1, Leslie Z. Sokolow, MSc, MPH1, Joseph S. Bresee, MD1, Nancy J. Cox, PhD1, Karen R. Broder, MD2, Ruth A. Karron, MD3, Emmanuel B. Walter, M Prevention and

Control of Seasonal Influenza with Vaccines: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) — United States, 2014–15 Influenza Season.

http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6332a3.htm#Groups_Recommended_Vaccination_Timing_Vaccination

WHO. National influenza centres. On line:
http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/national_influenza_centres/en/ (jun, 2015.)

Rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije-projekti TR31084 i III43007