

OSOBITOSTI IZOLATA VIRUSA INFLUENCE IZDVOJENIH IZ LJUDI U HRVATSKOJ

CHARACTERISTICS OF INFLUENZA VIRUSES ISOLATED FROM HUMANS IN CROATIA

Vladimir Draženović*, Andreja Barištin

Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb

Summary

One of three major pandemics of the 20th century is the greatest epidemics of all times, the so called Spanish flu, caused by the virus of the type A/H1N1/, which in 1918 caused the death of around 50 million people. Because of this and similar past pandemics occurrences WHO has established a whole range of around 110 National influenza centers in different countries of the world. Within this framework the National influenza center for Croatia is also active. In this overview we will compare the basic characteristics and occurrence patterns of these epidemics as well as the characteristics of virus isolates extracted in Croatia in the period from 1999-2005.

Key words: Influenza; Laboratory methods; Flu pandemics

UVOD

Prvi se put bolest slična gripi spominje 500. godine prije Krista u Grčkoj. 1170. godine zabilježena je u Engleskoj, a 1358. i u Italiji kada dobiva ime influenza. Ime je dobila od talijanskog naziva za tu bolest "influenza di fredo" što bi značilo utjecaj hladnoće, jer se u pravilu javlja u najhladnijim mjesecima [1, 2].

Prema nekim podacima, i na brodu "Isabela 2" glasovitog moreplovca Kristofora Kolumba 1493. godine pojavila se influenza.

Kod nas se udomaćio naziv gripa jer smo riječ preuzeli od francuskog "gripper", što znači zgrabiti, ščepati, a upravo je to i najbolji opis kako započinje sama bolest – naglo [3, 4, 5].

* Adresa za dopisivanje: V. Draženović, dr. med., spec. virusolog, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Nacionalni centar za influencu, Rockefellerova 12, 10000 Zagreb, Hrvatska, Tel.: +385 1 48 63 264, Fax.: + 385 1 46 83 017, E-mail: vladimir.drazenovici@hzjz.hr

Prve se pandemije odnosno obolijevanja u cijelom svijetu bilježe 1580. godine u Aziji, a više od stoljeća poslije 1700. i u Europi. Jedna od tri velike pandemije 20. stoljeća, najveća epidemija svih vremena tzv. "španjolska gripa" uzrokovana virusom tipa A/H1N1/, 1918. godine usmrtila je oko 50 milijuna ljudi [6, 7, 8]. Slijedeće pandemije 1957. i 1968. izazvale su također veliki broj oboljelih i visoku smrtnost te je upravo iz tih razloga i u Hrvatskoj početkom pedesetih godina prošlog stoljeća osnovan Nacionalni centar za praćenje pobola od influence kao jedan od 110 kooperativnih centara Svjetske zdravstvene organizacije.

Nacionalni influenza centar (NIC) osnovan je 1949. godine u suradnji Zavoda za javno zdravstvo Republike Hrvatske i Medicinskog fakulteta u Zagrebu.

Virus influence prvi put je izdvojen u Hrvatskoj 1950. Do 1977. izdvojen je godišnje po jedan tip virusa, a od tada uvijek više tipova virusa influence po sezoni. Godine 1992. u dijagnostiku je uvedena stanična kultura MDCK, a od 1995. brze dijagnostičke metode s monoklonskim protutijelima.

Hrvatska je preko svog Nacionalnog centra za praćenje i dijagnostiku influence uključena u mrežu od 110 laboratorija Svjetske zdravstvene organizacija (SZO) pa kao dugogodišnji član prima najnovija dnevna izvješća i sve najvažnije činjenice prenosi u javnost. Praćenje virusa ptičje gripe A/H5N1/ u Nacionalnom centru za influencu provodi se od 1998. godine i dosada u našoj zemlji nije zabilježen niti jedan slučaj infekcije čovjeka tim tipom virusa.

U ovom pregledu prikazat ćemo viruse influence izdvojene u našem laboratoriju i njihove antigenske karakteristike u razdoblju od 1999. do 2005. godine.

Osobitosti virusa influence

Postoje tri tipa gripe – A, B i C. Od tipa A mogu se razboljeti ljudi, ali i mnoge životinjske vrste – ptice, svinje, konji. Virusima tipa B i C mogu se zaraziti samo ljudi, ali oni nemaju tako veliku važnost za čovjeka jer izazivaju blaže kliničke slike i ne uzrokuju pandemije [9, 10].

Virus je inače po svojoj strukturi kuglastog oblika i na površini ima karakteristične nastavke hemaglutinin i neuraminidazu koji čine čak 40% njegove mase.

Osnovu genetskog materijala virusa influence tipa A čini jednolančana ribonukleinska kiselina podijeljena u 8 dijelova, koja je između ostalog i zbog tog razloga vrlo sklona mutacijama prilikom replikacije genetskog materijala [11, 12, 13].

Osam segmenata RNK determinira i 10 najvažnijih proteina virusa influence, a to su: hemaglutinin (HA), neuraminidaza (NA), protein membrane (M1), protein ionskih kanala (M2), kompleks transkriptaza s nukleoproteinom (PB1, PB2, PA + NP) i ne-strukturni proteini (NS1 i NS2) [9, 10].

Radi prihvaćanja za epitel stanice respiratornog trakta čovjeka, moraju se pomoću receptora hemaglutinina uz enzim proteazu (nalazi se u epitelnim stanicama respirator-

nog sustava) podijeliti na H1 i H2 na mjestu cijepanja (engl. cleavage site). Da bi se virus prihvatio za stanicu potrebno je da posjeduje specifično mjesto vezanja (engl. binding site) a to mjesto karakteristično je za vrstu pa tako aminokiselina /226 leucin/ govori da se radi o humanom tipu influence, a aminokiselina /226 glutamin/ označava ptičji soj virusa influence.

U svrhu vezanja za epitelne stanice domaćina potrebno je da se oligosaharid, sija lična kiselina koji je specifičan za čovjeka ($\alpha 2, 6$ ili za ptice ($\alpha 2, 3$), veže za hemaglutinin virusa [14, 15].

Smatra se da neki virulentni tipovi virusa gripe mogu koristiti plazminogen kao enzim, a kako se on nalazi u mnogim tkivima i organima čovjeka, klinička je slika bolesti tada mnogo teža jer je moguće da virus dođe i do drugih organskih sustava, a ne samo do respiratornog trakta. U tijelu tada mogu nastati brojne upale od bubrega do srčanog mišića, miokarditisa odnosno perikarditisa [16, 17]. Neuraminidaza pak ima zadaću da razara proteine služi epitelnih stanica respiratornog trakta smanjujući im viskoznost te istodobno pospješujući vezivanje virusa gripe, a ujedno je i katalizator koji regulira brzinu otpuštanja virusa iz zaražene stanice kao jedna vrsta "receptor destroying enzime" i tako izravno utječe na virulentnost samog virusa [11, 15].

Zbog takve aktivnost neuraminidaze mnogi autori smatraju da joj bolje odgovara naziv sialidaza.

MATERIJALI I METODE

U ispitivanju je korišten materijal koji je stizao na ispitivanje u Nacionalni centar za influencu Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo.

Ispitivanja su vršena u odnosu na sljedeće respiratorne viruse: respiratorni sincicijski virus, adenoviruse, viruse parainfluence, a poglavito na viruse influence.

Godišnje je obrađeno oko tisuću uzoraka, a u ovom radu prikazali smo razdoblje od 1999. do 2005. godine.

Ispitanici su bili iz svih dijelova Hrvatske, a poglavito se radilo o uzorcima s područja grada Zagreba i Zagrebačke županije.

U kliničkoj slici uglavnom je dominirala respiratorna simptomatologija s febrilitetom, a kao vrsta uzorka najčešće je bio zastupljen nazalni ispirak, obrisak ždrijela i obrisak nazofarinksa.

Prilikom uzimanja uzoraka izuzetno je važno obratiti pažnju na tri stvari. Najvažnija činjenica koja ujedno i izravno utječe na osjetljivost same metode jest rano (prva tri dana od početka bolesti) uzimanje uzoraka. Materijal mora sadržavati što više epitelnih stanica pa ako se radi o obrisku mora biti uzet energično. Oduzeti materijal mora biti odaslan u transportnom mediju i što brže dostavljen u laboratorij. Nazalni ispirci i aspirati uvijek su kvalitetniji materijal od raznih vrsta obrisaka jer, sadržavaju više epitelnih stanica u kojima je virus prisutan.

Izravne metode korištene su za brzi dokaz virusa u svrhu evaluacije kliničke slike i to poglavito direktna (neposredna) imunofluorescentna metoda s monoklonskim protutijelima [18].

Tom se metodom mogu dokazati oba tipa influence (A i B) ili razlikovati podtipovi A i B. Postoje i novi dijagnostički testovi kojima se pokušava determinirati pojedine podtipove hemaglutinina, ali još uvijek su loše specifičnosti i brojnih križnih reakcija s nekim drugim respiratornim virusima.

Nakon obrade u centrifugi potencijalno inficirane stanice fiksiraju se za predmetno stakalce i nasloje se specifičnim protutijelima koja su obilježena konjugatom (fluorescein – izotiocijanat).

U ispitivanju su u svrhu "screeninga" korištene i indirektna (posredne) imunofluorescentne metode, jer je njihova komparativna prednost u odnosu na direktne mogućnost korištenja puliranih protuseruma u odnosu na više virusnih uzročnika [18, 19].

U obje metode reakcija se vizualizira pod fluorescentnim mikroskopom, a pozitivne stanice razlikuju se od negativnih u intenzitetu bojanja i morfologiji.

Glavna prednost ovakvih metoda je u izuzetnoj brzini izvođenja u cilju postavljanja diferencijalne dijagnoze, a nedostaci su im što zahtijevaju veliku količinu kvalitetnih respiratornih epitelnih stanica, ovisno o subjektivnoj procjeni i uvijek naknadno zahtijevaju verifikaciju izdvajanjem virusa.

Metode izolacije virusa na kulturi stanica ili oplodjenim kokošjim jajima moguće je koristiti ako je sistem osjetljiv na ispitivani virus. Te metode u osnovi znatno povećavaju broj infektivnih čestica pa su stoga osjetljivije. S obzirom da zahtijevaju živog uzročnika izuzetno je važan brzi transport uzorka do laboratorija [20, 21].

Te metode još uvijek se smatraju "zlatnim standardom" u dokazu virusa influence, a izolacija na kokošjim jajima obvezatna je za svaki Nacionalni centar za influencu jer pruža mogućnost u evidenciju novomutiranih sojeva virusa. Na taj je način usporedbom svih izdvojenih sojeva iz oko 110 laboratorija u svijetu moguć svake godine odabir sojeva za proizvodnju sezonskog cjepiva.

Izdvajanje virusa na embrioniranim kokošjim jajima

Uzorci su inokulirani u amnionsku šupljinu 10 do 11-dnevnih oplodjenih kokošjih jaja. Nakon inkubacije od tri dana amnionska tekućina pretražena je na prisutnost hemaglutinirajućih virusa, a u slučaju pozitivnog nalaza vrši se identifikacija podtipova metodom inhibicije hemaglutinacije [21, 22, 23].

Metoda inhibicije hemaglutinacije je kompleksna laboratorijska metoda koja zahtijeva dosta vremena i višestruke kontrole za standardizaciju. Reagencije za dijagnostiku su u našem centru na raspolaganju preko mreže SZO. Prije početka izvođenja testa obavezno je obraditi serume da bi se uklonili nespecifični hemaglutinini i inhibitori. U testu se za dokaz hemaglutinirajućih antigena koriste eritrociti zamorca, kokoši,

eritrociti čovjeka krvne grupe 0 ili pureći eritrociti rabljeni u našem laboratoriju zbog njihove visoke osjetljivosti. Vizualno se prati reakcija hemaglutinacije i inhibicije hemaglutinacije te najčešće određuju četiri hemaglutinacijske jedinice. Ova metoda smatra se vrlo specifičnom u diferencijaciji HA podtipova [22, 23].

Metoda pruža mogućnost stvaranja velikih količina virusa te se stoga smatra vrlo osjetljivom i esencijalnom za epidemiološko praćenje virusa.

Stanična kultura koja se također često koristi za izdvajanje virusa influence je Madin-Darby canine kidney (MDCK stanice). Prilikom inokulacije virusa u stanice najčešće se koristi tripsin [18]. Virus je moguće dokazati u roku od 10-tak dana, a odlikuje se visokom osjetljivošću. Citopatski efekti koji se prate su mnogoznačni pa se stoga najčešće za dokaz hemaglutinirajućeg virusa upotrebljava hemadsorpcija s eritrocitima zamorca ili direktna imunofluorescentna metoda. Imunofluorescenca ima pritom veću osjetljivost u dokazu pozitivne virusne kulture nego hemadsorpcija [21].

REZULTATI

U razdoblju od 1999. do 2005. godine u našem su laboratoriju dokazani različiti podtipovi virusa influence, koji su kasnije i potvrđeni od strane Referalnog centra za humanu influencu u Londonu.

U Hrvatskoj je 1999. godine zabilježena jedna od zadnjih većih epidemija virusom influence tzv. "australska gripa" s više od 200 000 prijavljenih oboljelih. U svijetu su te godine bili u cirkulaciji virusi tipa: A/H3N2/Sydney/5/97, A/H1N1/Bayern/7/95 i B/Beijing/184/93, a u Hrvatskoj je kao dominantni tip ustanovljen A/H3N2/Sydney/5/97. Krajem sezone pojavio se još jedan tip virusa B/Beijing/184/93.

Suprotno katastrofičnim najavama novog milenija, 2000. godina donijela je olakšanje i znatno slabiju epidemiju s 50 000 prijavljenih oboljelih. U svijetu su te godine dokazani: A/H3N2/Moscow/10/99, A/H1N1/New Caledonia/20/99 i B/Beijing/184/93 dok je u Hrvatskoj među populacijom izdvojen sličan dominantan virus podtipova: A/H3N2/Sydney/5/97, A/H3N2/Moscow/10/99 i A/H3N2/Ireland/10586/99 koji se razlikovao samo u serološkim reakcijama.

Godina 2001. donijela je nešto opsežniju epidemiju s više od 80 000 oboljelih zbog promjene dominantnog podtipa determiniranog u nas kao: A/H1N1/Madagascar/57794/00, A/H1N1/New Caledonia/20/99. U svijetu je dokazan također kao A/H1N1/Madagascar/57794/00 uz sporadično pojavljivanje tipova A/H3N2/Moscow/10/99 i B/Sichuan/379/99.

U godini 2002. nastavila se cirkulacija sojeva iz prošle godine i to podtipova: A/H1N1/New Caledonia/20/99 te sporadično s A/H3N2/Panama/2007/99 i B/Sichuan/379/99, a oboljelo je oko 70 000 ljudi. Slična situacija mogla se primijetiti i u ostalim zemlja-

ma. Dokazani su sojevi sljedećeg podtipa: A/H1N1/New Caledonia/20/99, A/H3N2/Panama/2007/99, B/Hong Kong/330/01 i B/Sichuan/379/99.

Godine 2003. u našoj zemlji još uvijek kao dominantni soj cirkulira A/H1N1/New Caledonia/20/99 i B/Sichuan/379/99, a broj prijavljenih oboljenja je sličan; oko 90 000. U svijetu se te godine pojavljuje nešto izmijenjen tip virusa koji izaziva opsežnije epidemije A/H3N2/Fujian/411/02, a još su dokazani: A/H1N1/New Caledonia/20/99, A/H1N2/Egypt/96/02, B/Hong Kong/330/01 i B/Sichuan/379/99.

Dok se u svijetu 2004. godine nastavlja dominacija virusa A/H3N2/Fujian/411/02 uz još neke druge serotipove: A/H1N1/New Caledonia/20/99, A/H1N2/Egypt/96/02, B/Hong Kong/330/01 i B/Shanghai/361/02 u Hrvatskoj su te godine izdvojeni virusi: A/H3N2/Thessaloniki/1/95, A/H3N2/Johannesburg/33/94, A/H3N2/Shangdong/9/93 i A/H3N2/Poland/15/91, A/H3N2/Washington/15/91, A/H3N2/Switzerland/8378/94. S obzirom na broj prijavljenih oboljenja od približno 80 000 ne bi mogli reći da je bila riječ o pojavi nekog novog soja virusa.

Godine 2005. u svijetu nastavlja kao dominantni tip virusa cirkulirati A/H3N2/Fujian/411/02 uz A/H1N1/New Caledonia/20/99, A/H1N2/Egypt/96/02, B/Hong Kong/330/01 i B/Shanghai/361/02 kao i godine prije dok je u našoj zemlji bio dokazan A/H1N1/New Caledonia/20/99 i sporadično B/Shangdong/7/97 koji su se pojavljivali i prijašnjih godina. Stoga i broj oboljelih ne varira značajno u odnosu na prijašnje godine i iznosi oko 80 000.

Svi prikazani tipovi virusa u Hrvatskoj izdvojeni su naknadno na jajima te poslani u Referalni centar u Londonu i na taj način uključeni u "sezonsko" cjepivo za zemlje koje geografski pripadaju sjevernoj hemisferi našeg globusa.

Bolest se najčešće javljala u zimskim mjesecima i to najčešće od siječnja do ožujka, a pojedini slučajevi zabilježeni su i u travnju.

RASPRAVA

U razdoblju od 1999. godine do 2005. zabilježeno je u Hrvatskoj sezonsko pojavljivanje oboljenja uzrokovanog virusima influence.

Broj prijavljenih oboljenja Epidemiološkoj službi Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo bio je neposredno ovisan o pojavi novih sojeva virusa pa je 1999. godine zabilježen najveći broj oboljelih od 200 000. Nakon te godine broj prijavljenih oboljenja se stabilizirao i niti jedne godine nije prelazio brojku od 90 000 oboljelih.

Intenzivna epidemija 1999. godine bila je uzrokovana novim sojem virusa A/H3N2/Sydney/5/97 i poznatija je u svijetu kao "australska gripa". Virusi podtipa A/H3N2/ i inače su poznati kao najvirulentniji od svih cirkulirajućih tipova "sezonske" influence, a isti podtip virusa pojavio se i u 2000. godini. S obzirom na slični genotip virusu iz 1999. godine zabilježen je znatno manji broj oboljelih (50 000).

Godina 2001. donijela je pojavu novog podtipa virusa influence A/H1N1/. U populaciji su te godine dokazani A/H1N1/New Caledonia/20/99 i A/H1N1/Madagascar/57794/00 te je shodno tome i porastao broj oboljelih u odnosu na prošlu godinu i iznosio je 80 000.

U slijedećim godinama 2001., 2002., 2003. i 2005. nastavila se cirkulacija dominantnog soja u nas A/H1N1/New Caledonia/20/99 i broj oboljelih se ustalio na brojevi od 80 000 prijavljenih slučajeva u sezoni. Dok je u svijetu od 2003. godine dominantan bio podtip virusa A/H3N2/Fujian/411/02 u Hrvatskoj to nije bio slučaj.

Iznimno smo 2004. dokazali neuobičajene sojeve potvrđene u Referalnom centru za humanu influencu u Londonu. Dokazani podtipovi virusa A/H3N2/ razlikovali su se od svih izdvojenih virusa influence u svijetu i determinirani su kao A/H3N2/Thessaloniki/1/95, A/H3N2/Johannesburg/33/94, A/H3N2/Shangdong/9/93 i A/H3N2/Poland/15/91, A/H3N2/Washington/15/91, A/H3N2/Switzerland/8378/94.

Podtipovi virusa influence koji su dokazani u Referalnom centru pripadali su filogenetski grupi virusa koji su u cirkulaciji bili prije desetak godina i nije postojalo logično objašnjenje za njihovo pojavljivanje u Hrvatskoj. S obzirom da je te godine broj prijavljenih slučajeva oboljenja bio na uobičajenoj razini od oko 80 000, smatramo da se nije radilo o recirkulaciji ili pojavi novog soja virusa influence. Dokazani sojevi virusa influence iz godine 2004. potječu s pedijatrijskih odjela, dvije različite ustanove za stacionarno liječenje i podrijetlom su od različitih pacijenata. Od izuzetne je važnosti napomenuti da u radu Nacionalnog centra za influencu Hrvatske u posljednjih desetak godina nisu korišteni stari sojevi virusa nego su svake godine isključivo u radu bili prisutni podtipovi koji su te godine bili u cirkulaciji. Pojavnost ovakvih starih vrsta izolata u različitim pacijenata neobičan je događaj i dosada još nije opisan u medicinskoj literaturi.

Objašnjenje za ovakve pojavnosti teško je dati, a prema jednoj pretpostavci moglo bi se raditi o nekarakterističnoj križnoj reakciji sa specifičnim serumima u radu laboratorija, Referalnog centra za dijagnostiku humane influence u Londonu.

Literatura

- [1] *Beveridge WIB.* The cronical of influenza epidemics. *Hist Phil Life Sci* 1991;13:223-35.
- [2] *Ghang WK.* National influenza experience in Hong kong, 1968. *Bull WHO* 1969; 41: 349-51.
- [3] *Chu CM, Shao C, Hou CC.* Studies of strains of influenza virus isolated during the epidemic in 1957 in Changchung. *Vaptosy Virusologii* 1957;2:278-81.
- [4] *Crosby AW.* The Columbian Exchange: Biological and Cultural Consequences of 1492. Greenwood Press, Westford, C. T. 1972.

- [5] *Dunn FL*. Pandemic Influenza in 1957. *J Am Med Assoc* 1958;166:1140-8.
- [6] *Stevens J, Wilson IA*. Resurrecting the Dead – Structural Analysis of Hemagglutinin from the 1918 Influenza Pandemic Strain. *Proc Natl Acad Sci CA*. 2004 August.
- [7] *Fislova T, Kostolansky F*. The factors of virulence of influenza A virus. *Acta virologica* 2005;49:147-57.
- [8] *Jeffery K, Taubenberger Ann H, Reid Rain M, Lourens, Ruixue Wang, Guozhong Jin, Thomas G. Fanning*. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature* 2005;437:889-93.
- [9] *Hoffmann E, Webster RG*. Unidirectional RNA polymerase I-polymerase II transcription system for the generation of influenza A virus from eight plasmids. *J Gen Virol* 2000;81:2843-7.
- [10] *Hoffmann E, Neumann G, Kawaoka Y, Hobom G, Webster RG*. A DNA transfection system for generation of influenza A virus from eight plasmids. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:6108-13.
- [11] *Mitnaul LJ, Matrosovich MN, Castrucci MR, Tuzikov AB, Bovin NV, Kobasa D et al*. Balanced hemagglutinin and neuraminidase activities are critical for efficient replication of influenza A virus. *J Virol* 2000;74:6015-20.
- [12] *Garry R. Whittaker*. Intracellular trafficking of influenza virus: clinical implications for medicine. *Molecular Medicine* 2001; February:11.
- [13] *Ann HR, Thomas AJ, Raina ML, Alex JE, Rod SD, Colin LB, John SO, Jeffery KT*. 1918 Influenza Pandemic Caused by Highly Conserved Viruses with Two Receptor-Binding Variants. *CDC*. 2003 Oct; 09 (10).
- [14] *Stephenson I, Wood JM, Nicholson KG, Zambon MC*. Sialic acid receptor specificity on erythrocytes affects detection of antibody to avian influenza haemagglutinin. *J Med Virol* 2003;70:391-8.
- [15] *Baigent SJ, McCauley JW*. Glycosylation of haemagglutinin and stalk-length of neuraminidase combine to regulate the growth of avian influenza viruses in tissue culture. *Virus Res*. 2001;79:177-85.
- [16] *Wilson IA, Cox NJ*. Structural basis of immune recognition of influenza virus hemagglutinin. *Annu Rev Immunol*. 1990;8:737-71.
- [17] *Fodor E, Devenish L, Engelhardt OG, Palese P, Brownlee GG, Garcia-Sastre A*. Rescue of influenza A virus from recombinant DNA. *J Virol* 1999;73:9679-82.
- [18] WHO recommendations on the use of rapid testing for influenza diagnosis. Geneva: World Health Organisation, 2005. (Accessed November 25, 2005).
- [19] *Stevens TD, Watkins HM*. Rapid identification of viruses by indirect immunofluorescence: standardization and use of antiserum pool to nine respiratory viruses. *Appl Microbiol* 1969;17:384-93.
- [20] *Allwinn R, Preiser W, Rabenau H, Buxbaum S, Sturmer M, Doerr HW*. Laboratory diagnosis of influenza – virology or serology? *Med Microbiol Immunol (Berl)* 2002; 191:157-60. Epub 2002 Aug 30.

- [21] *Weinberg A, Mettenbrink CJ, Ye D, Yang CF.* Sensitivity of diagnostic tests for influenza varies with the circulating strains. *J Clin Virol* 2005;33:172-5.
- [22] *Julkunen I, Pyhala R, Hovi T.* Enzyme immunoassay, complement fixation and hemagglutination inhibition tests in the diagnosis of influenza A and B virus infections. Purified hemagglutinin in subtype-specific diagnosis. *J Virol Methods* 1985; 10: 75-84.
- [23] *Prince HE, Leber AL.* Comparison of complement fixation and hemagglutination inhibition assays for detecting antibody responses following influenza virus vaccination. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:481-2.

Sažetak

Jedna od tri velike pandemije 20. stoljeća, zapravo najveća epidemija svih vremena tzv. "španjolska gripa" bila je uzrokovana virusom tipa A/H1N1/, a 1918. godine usmrtila je oko 50 milijuna ljudi. Zbog tog i sličnih događaja te pojava pandemija u prošlosti, Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) ustrojila je niz od oko 110 Nacionalnih centara za influencu u različitim zemljama svijeta. U tim okvirima djeluje i Nacionalni centar za influencu Hrvatske. U ovom pregledu prikazane su osnovne karakteristike i obrasci pojavljivanja epidemija te karakteristike izolata virusa izdvojenih u Hrvatskoj u razdoblju od 1999. do 2005. godine.

Ključne riječi: Gripa; Laboratorijske metode; Pandemije gripe

