

## Gripa – uvijek aktualna bolest

### *Influenza - Always an Illness of Interest*

Ivan Puljiz, Ilija Kuzman

Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević"

10000 Zagreb, Mirogojska c. 8

**Sažetak** Influenza je akutna bolest dišnog sustava uzrokovana virusima influence. Virusi influence su podijeljeni u tri različita tipa na osnovi glavnih antigena. S obzirom na aktivnost hemaglutinina (HA) i neuraminidaze (NA), virusi influence A dijele se na podtipove. Influenza se pojavljuje u epidemijama i pandemijama. Epidemije su uobičajeno povezane s povećanjem morbiditeta i mortaliteta, poglavito u starijih i visokorizičnih osoba. Tijekom prošlog stoljeća zabilježene su tri pandemije – 1918., 1957. i 1968. godine. Najveća zabilježena pandemija u povijesti dogodila se 1918. godine kada je u svijetu registrirano više od 20 milijuna smrtnih slučajeva. Virusi influence mijenjaju antigenu strukturu dvaju vanjskih gluko proteina, HA i NA, što se označava kao antigeni "drift" i antigeni "shift". Antigeni drift označava relativno manje promjene koje se često pojavljuju na virusnom HA i/ili NA. Veće antigene promjene (shift) koje najavljuju pandemiju influence pojavljuju se samo kod virusa influence A. Infekcija izaziva proizvodnju i sistemskih i lokalnih protutijela, kao i T-stanični odgovor. U početku bolesti dominiraju opći simptomi, dok se respiratorni simptomi pojavljuju kasnije. Influenza je povezana s plućnim komplikacijama, poglavito u starijih bolesnika i osoba s kroničnim bolestima. Dijagnoza bolesti može se postaviti na osnovi kliničke slike, epidemioloških podataka, a potvrditi različitim virološkim tehnikama (izolacija virusa, otkrivanje antigena virusa, otkrivanje virusne nukleinske kiseline i serološki). Liječenje influence je simptomatsko, a uključuje mirovanje, nadoknadu tekućine, antipiretike i antitusike. Antivirusni lijekovi preporučuju se za starije i kronične bolesnike, a potrebno ih je dati na početku bolesti. Inhibitori M2-ionskih kanala, amantadin i rimantadin djeluju na virus influence A. Inhibitori neuraminidaze, zanamivir i oseltamivir učinkoviti su protiv svih sojeva virusa influence A, kao i virusa influence B. Antivirusni lijekovi su djelotvorni i u profilaksi influence. Antibiotici se daju bolesnicima s bakterijskim komplikacijama. Najučinkovitija i najjednostavnija mjera za kontrolu influence je cijepljenje. Cijepljenje se preporučuje za sve osobe koje imaju povećan rizik od nastanka komplikacija te u onih koje mogu bolest prenijeti na visokorizične osobe.

**Ključne riječi:** influenza, hemaglutinin, neuraminidaza, pandemija

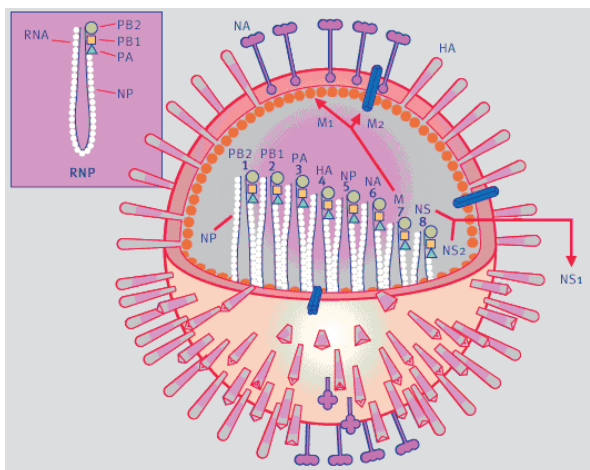
**Summary** Influenza is an acute respiratory disease caused by influenza viruses. Influenza viruses are classified into three distinct types on the basis of major antigens. Influenza A viruses are further divided into subtypes according to their hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA) activity. Influenza occurs in epidemics and pandemics. Influenza epidemics are regularly associated with increased morbidity and mortality especially in elderly and persons with certain high-risk medical conditions. There have been three pandemics during the past century – in 1918, 1957, and 1968. The greatest pandemic in recorded history occurred in 1918 when more than 20 million deaths were reported worldwide. Influenza virus changes antigen structure of two external glycoproteins, HA and NA, and is referred to as antigenic drift or antigenic shift. Antigenic drift refers to relatively minor antigenic changes that occur frequently within the HA and/or NA of the virus. The major antigenic shifts that herald pandemic influenza occur only with influenza A viruses. Infection induces production of both systemic and local antibodies, as well as T-cell responses. Initially, systemic symptoms predominate, while respiratory symptoms appear later. Influenza is associated with pulmonary complications, particularly among elderly and persons with chronic disorders. The diagnosis can be made on the basis of clinical features, epidemiological history, and confirmed with a variety of virology techniques (virus isolation, detection of viral antigen, detection of viral nucleic acid, and serology). The treatment of influenza is symptomatic, and includes resting, fluid replacement, antipyretics, and antitussives. Antiviral drugs are recommended for older patients and persons with chronic conditions, but require early initiation of therapy. The M2 ion channel inhibitors, i.e. amantadine and rimantadine, are active against influenza A virus. The neuraminidase inhibitors, zanamivir and oseltamivir, are active against all strains of influenza A viruses, and influenza B viruses. Antiviral agents are effective in influenza prophylaxis. In patients with bacterial complications, antibiotics should be administered. The most effective and simplest measure available for the control of influenza is vaccination. Influenza vaccination is recommended for persons at increased risk for complications, and persons who can transmit influenza to those at high risk.

**Key words:** influenza, hemagglutinin, neuraminidase, pandemic

Influenca ili gripa akutna je bolest dišnog sustava koju uzrokuju virusi influence. Bolest se najčešće klinički manifestira općim simptomima, kao što su vrućica, malaksalost, glavobolja, boli u mišićima, a nakon dan-dva pojavljuje se kašalj. Ime influenza dobila je početkom 15. stoljeća u Italiji, kada se mislilo da je bolest pod "utjecajem" (influenca - utjecaj) zvijezda. Riječ gripa potječe od francuske riječi "la grippe" (gripper), što znači ščepati. Pojavljuje se u epidemijama te povremeno pandemijski. Prva pandemija gripe opisana je 1580. godine, a od tada je zabilježena 31 pandemija. U 20. stoljeću zabilježene su tri velike pandemije, "španjolka" (1918.), "azijska" (1957.) i posljednja "hongkonška" (1968.). Najteža pandemija u povijesti dogodila se 1918. godine kada je od influence umrlo više od 20 milijuna ljudi. Tada se prvi put zaključilo da uzročnici influence nisu bakterije nego virusi. To je bilo i potvrđeno otkrićem virusa influence A (1933.), zatim influence B (1939.) i influence C (1949.). Zbog potrebe što boljeg praćenja i sprječavanja bolesti, Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) 1947. godine osniva Svjetski centar za praćenje influence u Londonu te niz manjih područnih centara. Iako su uzročnici i bolest dobro proučeni, influenza do današnjih dana osim zdravstvenih, stvara velike ekonomske gubitke. Osim visoke stope pobola influenza ima velik udio u smrtnosti pučanstva u svim državama, pa je vrlo važan i čest razlog za hospitalizaciju bolesnika. Zbog influence su vrlo česti izostanci s posla i iz škola i u razvijenim i u siromašnim dijelovima svijeta. S druge strane, od posljednje pandemije prošlo je 36 godina, i to je najduže zabilježeno razdoblje između dviju pandemija. Stoga se pod okriljem SZO čine veliki napori da se budući uzročnik podtip virusa pandemije što prije otkrije i proizvede učinkovito cjepivo. Strah je to veći što se kao najvjerojatniji uzročnici moguće pandemije nude tzv. virusi "ptičje" gripe, poglavito H5N1 koji je izrazito patogen za čovjeka.

## Etiologija

Virusi influence pripadaju porodici *Orthomyxoviridae*. Tri različita tipa virusa influence A, B i C, razlikuju se na osnovi glavnih antigenih razlika između njihova nukleoproteina (NP) i proteina matriksa (M). Uz to, postoje značajne razlike u genskoj organizaciji, strukturi, domaćinu, epidemiologiji i kliničkim osobitostima između tri tipa virusa gripe. S druge strane, sva tri tipa virusa posjeduju neke značajke koje su temeljne za njihovo biološko funkcioniranje, kao što su prisutnost glukoproteinskog omotača koji je nuždan za ulazak i izlazak virusa iz stanice, segmentiranoga genoma i jednolančane RNK. Aktualna klasifikacija virusa influence uvedena je 1980. godine i uključuje tip virusa influence, mjesto inicijalne izolacije, oznaku (redni broj) soja i godinu izolacije. Tako npr. virus influence B izoliran u bolesnika u Šangaju 2002. godine dobio je oznaku B/Shanghai/361/2002. Osim toga, virusi influence A dijele se na podtipove na osnovi aktivnosti



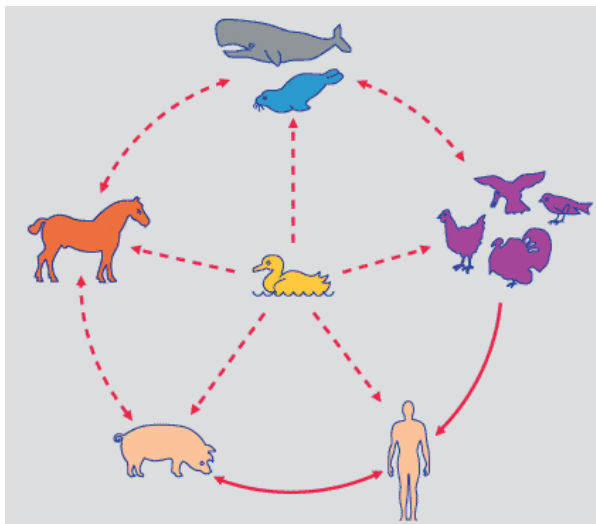
Slika 1. Shematski prikaz virusa influenza A

njihovih površinskih antigena – hemaglutinina (H) i neuraminidaze (N).

Morfološke karakteristike svih tipova virusa influence su slične. Posjeduju kuglast ili filamentozan oblik, promjera oko 100 milimikrona (slika 1).

Na površini lipidne ovojnice posjeduju dvije različite vrste izdanaka koje su po kemijskoj strukturi glukoproteini, hemaglutinin (HA) i neuraminidazu (NA). Hemaglutinin ima oblik palice, a sastavljen je u obliku trimera, odnosno tri HA-polipeptida (1). Neuraminidaza posjeduje oblik gljive i sastavljena je od tetramera NA-polipeptida. Do sada je poznato najmanje 16 antigeno različitih HA (H1 do H16), kao i najmanje devet različitih NA (N1 do N9) virusa influence A. U čovjeka bolest, u pravilu, uzrokuju samo prva tri HA (H1, H2, H3) i prve dvije NA (N1, N2), a ostali HA i NA su životinjskog podrijetla. Treći sastavni membranski protein virusa influence A, M2-protein, također je prisutan u manjoj količini na virusnom omotaču. Stabilnost viriona omogućuje M1 ili matriksni protein koji tvori lanac smješten ispod omotača. Unutar omotača je ribonukleoproteinski (RNP) kompleks. RNP-kompleks posjeduje ribonukleinsku kiselinu (RNK) koja je povezana nukleoproteinom (NP) te tri polimeraze PB1, PB2 i PA koje su odgovorne za replikaciju i transkripciju RNK. Dva nestrukturna proteina (NS) također su povezana s virusom: NS2 je nađen u virionu, a NS1 je pronađen jedino u inficiranoj stanici. Genom virusa influence A posjeduje osam segmenata jednolančane RNK koji kodiraju virusne proteine. Virus influence B i C razlikuju se od virusa A po sadržaju strukturnih proteina i nukleoproteinu.

Virusi influence B i C gotovo su isključivo izolirani u ljudi, iako se virus C može izolirati u svinja te u novije vrijeme u morskih pasa. Za razliku od toga, virus influence A inficira brojne sisavce i ptičje vrste, kao što su ljudi, svinje, konji, perad i divlje vodene ptice. Smatra se da su divlje vodene ptice primarni rezervoari svih podtipova virusa influence A (2). Poznato je da je prijenos virusa A moguć između čovjeka i svinja i obratno zbog sličnosti receptorskog mjesta na HA u te



Slika 2. Rezervoar virusa influence A

dvije vrste (slika 2). No, u novije vrijeme potvrđen je prijenos virusa influence A s peradi na čovjeka, što je rezultiralo pojavom ptičje gripe (3).

Replikacijski ciklus virusa influence počinje cijepanjem HA u HA1 i HA2 djelovanjem enzima koji je prisutan u dišnome sustavu. Enzim proizvodi domaćin, ali također može potjecati od bakterija koje tako mogu olakšati infekciju. Nakon cijepanja HA, receptorsko mjesto HA1 može se pričvrstiti na terminalni dio sijalične kiseline na površnom receptoru stanice koji posreduje endocitozu virusa. NA djeluje kao enzim koji uništava receptore tako što cijepa terminalni dio sijalične kiseline od receptora. Na taj način NA omogućuje oslobađanje mladih viriona iz stanice domaćina i olakšava širenje virusa. Oslobodeni virioni mogu inficirati druge stanice ili se mogu prenositi na druge osobe.

## Epidemiologija

Veće ili manje epidemije influence pojavljuju se u određenim populacijama gotovo svake godine. Epidemije prouzročene virusom influence A pojavljuju se svake dvije do tri godine, a one prouzročene virusom influence B svakih pet do šest godina i manjih su razmjera. Virus influence C uzrokuje sporadično blaži oblik bolesti. Pandemije influence pojavljuju se u nepravilnim vremenskim razmacima, uobičajeno svakih nekoliko desetljeća. Zadnja pandemija zabilježena je 1968. godine, a uzrokovana je virusom influence A podtipom H3N2.

Epidemije influence povezane su s većim brojem hospitalizacija i većom incidencijom pneumonija, odnosno "viškom" morbiditeta i mortaliteta. U jednom istraživanju dokazano je da je stopa smrtnosti u vrijeme epidemije influence najviša kada u populaciji cirkulira virus influence A, podtip H3N2 (4). Prema drugom istraživanju godišnje u SAD-u umire više od 50 tisuća osoba od influence ili njezinih komplikacija (5).

Incidencija influence uobičajeno je najviša u mlađim dobnim skupinama, dok je mortalitet najviši u starijoj populaciji (6). Isto tako visok pobol i smrtnost bilježe se u bolesnika s kroničnim bolestima dišnog i srčanožilnog sustava, metaboličkim bolestima, u onih s bubrežnom disfunkcijom, hemoglobinopatijama te u imunodeficientnih osoba. Teži oblik bolesti imaju HIV-pozitivne osobe, bolesnici na imunosupresivnoj terapiji te trudnice u drugom i trećem trimestru trudnoće. Influenca postaje sve veći zdravstveni problem u djece mlađe od dvije godine. Naime, sve je veći broj djece te dobne skupine koja se hospitaliziraju zbog influence (7). Uz to, sekundarne bakterijske komplikacije, poglavito upala uha i pneumonije nerijetko se pojavljuju u djece s influencom.

Kao kapljična infekcija influenza se brzo prenosi i širi među ljudima. Tomu pogoduje neotpornost čovjeka prema virusima influence, kratka inkubacija, otpornost virusa i suvremeni način života čovjeka. Epidemija gripe obično počinje naglo, za dva do tri tjedna doseže vrhunac i traje pet do šest tjedana. Veća učestalost febrilne respiratorne bolesti u djece nerijetko je prvi pokazatelj početka sezone gripe. Epidemija influence u djece slijedi obično brzo nakon pojave "influenza-like" bolesti u odraslih. Nakon toga slijedi veći broj hospitalizacija bolesnika zbog pneumonije, egzacerbacije KOPB-a, krupa i kongestivnog srčanog zatajenja. Također se povećava broj izostanaka iz škole i s posla, no ti događaji obično su kasni pokazatelji influence u zajednici. Nisu poznati čimbenici koji dovode do prestanka epidemije gripe u pojedinoj sredini jer bolest nestaje iz populacije prije nego zahvati svu osjetljivu populaciju.

U područjima s umjerenom klimom epidemije se pojavljuju isključivo u hladnijim mjesecima godine, odnosno od listopada do travnja na sjevernoj te od svibnja do rujna na južnoj hemisferi. U tropskim područjima influenza može biti prisutna tijekom cijele godine. Razlog za takve sezonske oscilacije nije posve jasan, iako se objašnjava povoljnim uvjetima okoliša za preživljavanje virusa, kao i lakšom mogućnosti prijenosa virusa.

Uobičajeno jedan soj virusa influence će za vrijeme epidemije prevalirati, dok će u isto vrijeme učestalost drugih respiratornih infekcija biti u padu. Međutim, povremeno mogu istodobno cirkulirati u pojedinoj sredini dva različita soja istog tipa i podtipa virusa (npr. A/Victoria/3/75/H3N2 i A/Texas/1/77/H3N2) ili dva različita podtipa virusa influence A (H1N1 i H3N2). Isto tako, potvrđena je istodobna epidemija uzrokovana virusom influence A i B, odnosno virusom influence A i respiratornim sincicijskim virusom (8). Kraj epidemije influence je ponekad karakteriziran kratkotrajnim porastom broja oboljelih uzrokovanim novim sojem virusa, koji je često prediktor soja što će dominirati u sljedećoj sezoni (9).

Iz tablice 1. vidi se da se u Hrvatskoj godišnje registrira od nekoliko tisuća pa do više od 400 tisuća oboljelih od influence u pandemijskim godinama. No, točan

Tablica 1. Broj oboljelih bolesnika s influencom u Hrvatskoj od 1957. do 2004. godine\*

Godina	Broj bolesnika	Uzročni virusi
1957/58.	455.124	A/Singapore/H2N2
1964.	371.293	?
1967/68.	123.247	A/Hong Kong/H3N2
1969.	19.193	A/Hong Kong/H3N2
1969/70.	445.809	A/Hong Kong/H3N2
1971.	?	B (serološki)
1972/73.	162.406	A/England/H3N2 + B
1974.	?	B (serološki)
1975.	139.755	A/Port Chalmers/H3N2
1976.	120.024	A/Victoria/H3N2 + B
1977.	13.721	A/Victoria/H3N2 + B
1978.	123.247	A/Texas/H3N2 + A/SSSR/H1N1
1979.	43.412	A/SSSR/H1N1
1980/81.	98.945	A/Bangkok/H3N2 + A/Brazil/H1N1 + B
1982.	18.472	B/Singapore
1983.	105.013	A/Bangkok/H3N2 + A/Philippines/H3N2
1984.	75.588	B/Singapore + B/SSSR + H1N1 (serološki)
1985.	122.861	A/Chile/H1N1 + A/Philippines/H3N2 + B
1986.	54.240	A/Inverness/H3N2+A/Hong Kong/H1N1+B/Victoria
1987.	14.687	A/Singapore/H1N1
1988/89.	?	?
1990.	52.012	A/Shanghai/H3N2
1991.	18.793	A/Taiwan/H1N1 + B/Victoria
1992.	100.000	A/Taiwan/H1N1 + A/Beijing/H3N2 + B/Panama
1993.	180.000	A/Beijing/H3N2 + B/Panama
1994.	73.179	A/Hong Kong/H3N2 + A/Shangdong/H3N2
1995.	4.600	A (serološki)
1995/96.	42.946	A/Thailand/H1N1 + A/Singapore/H1N1
1997.	73.464	B/Beijing + B/Hardin
1998.	67.613	A/H3N2 (serološki)
1999.	169.228	A/H1N1 + A/H3N2 (serološki)
2000.	34.614	A/Sydney/H3N2
2001.	74.877	A/H1N1
2002.	68.434	A/New Caledonia/H1N1 + A/H3N2 + Sichuan B
2003.	87.954	A/H1N1+ A/H3N2+ B
2004.	65.475	A/H3N2

\* Broj prijavljenih bolesnika prema izvješćima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo

Tablica 2. Hospitalizirani bolesnici zbog influence u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu od 1985. do 2004. godine

Godina	Broj bolesnika
1985.	88
1986.	61
1987.	3
1988.	49
1989.	164
1990.	58
1991.	76
1992.	151
1993.	166
1994.	156
1995.	107
1996.	53
1997.	131
1998.	159
1999.	282
2000.	171
2001.	78
2002.	202
2003.	216
2004.	177

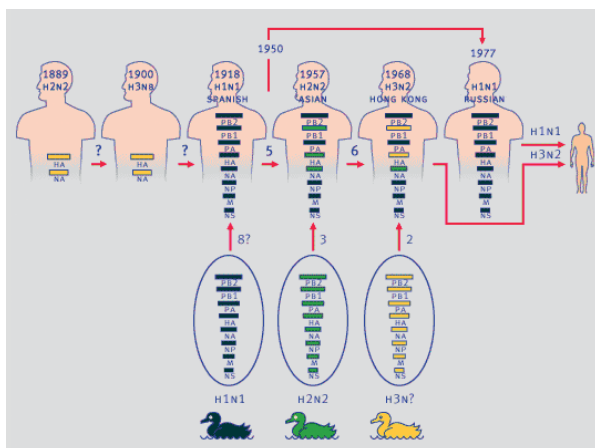
broj je vjerojatno znatno veći jer se podaci odnose samo na bolesnike prijavljene epidemiološkoj službi. Pojedine epidemije uzrokuje jedan tip virusa, a druge dva tipa i/ili tri podtipa virusa influence. U Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu broj bolesnika koji se hospitalizira zbog influence kreće se godišnje od nekoliko pa do gotovo tri stotine bolesnika (tablica 2). Hospitaliziraju se stariji bolesnici, oni s težom kliničkom slikom bolesti ili s popratnim komplikacijama bolesti.

Jedno od najvažnijih obilježja virusa influence su česte antigene promjene, odnosno antigene varijacije. Mijenjajući antigenu strukturu, infekciju uzrokuje soj virusa za koji u populaciji postoji malena ili nikakva otpornost, a posljedica je često obolijevanje od influence. Fenomen antigene varijacije objašnjava kozmopolitsku narav influence. Antigene promjene zahvaćaju poglavito dva vanjska glukoproteina virusa, HA i NA, a nazivaju se antigeni "drift" ili "shift", ovisno o tome da li se radi o većim ili manjim promjenama.

Antigeni "drift" označava manje antigene promjene koje se pojavljuju često (svake godine ili svakih nekoliko godina) unutar HA i/ili NA virusa. Mehanizam antigenog "drifta", koji je temeljito proučavan na HA, objašnjava se postupnim promjenama aminokiselina na jednom ili više od pet glavnih antigenih mjesta na

molekuli HA (10). Protutijela koja su se stvorila na prethodni soj ne djeluju učinkovito na novi soj virusa te se na taj način imunom selekcijom iz populacije istiskuje stari, a u epidemiji dominira novi virusni soj.

Veća antigena promjena ili antigeni "shift" nastaje isključivo na virusu influence A i omogućuje nastanak novog virusa na koji je populacija neimuna. Postoji veoma malena ili nikakva serološka povezanost (preklapanje) između HA (ili NA) antigena "starog" i "novog" virusa, stoga u nomenklaturi svaki ima drugačiju oznaku (npr. H2N2 i H3N2). Kada takav novi virus uđe u populaciju, rezultirat će pojavom pandemije. Nakon 10 do 30 godina, većina populacije stvorit će protutijela na taj podtip virusa, čime se stvaraju uvjeti za pojavu i širenje novog virusa i novu pandemiju. Smatra se da iznenadna pojava novog tipa virusa influence A ili antigeni "shift" u ljudi nastaje na jedan od ova tri načina: direktnim prijenosom cijelog virusa od neke životinjske vrste (na taj se način pojavila španjolska pandemija kada je H1N1 virus sa svinja koje se pojavljuju kao intermedijarni prijenosnik prešao na ljude); genskim miješanjem ptičjeg i humanog virusa koji inficira istog domaćina (H3N2 hongkonški virus iz 1968. godine dobio je HA i PB1 segment genoma od ptičjeg virusa influence H3N2, a šest ostalih segmenata genoma od azijskog virusa H2N2); ponovnom pojavom virusa koji je ranije nestao iz ljudske populacije (ponovna pojava H2N2 virusa, uzročnika azijske pandemije 1957. koji je bio nestao iz populacije početkom 20. stoljeća) (11) (slika 3).



Slika 3. Nastanak pandemijskih tipova virusa influence

Istraživanja koja se temelje na izolaciji virusa i serološkim pretragama osoba koje su živjele u ranijim pandemijama omogućuju identifikaciju podtipova virusa influence A. Tako je pandemija 1889. godine bila uzrokovana podtipom virusa influence A H2N2, pandemija 1900. virusom H3N8, španjolska 1918. virusom H1N1, azijska 1957. virusom H2N2, te hongkonška 1968. virusom H3N2. Ranije se smatralo da novi podtip virusa obično istisne prethodni. No, 1977. godine pojavio se ponovno H1N1 podtip virusa

influence A i nije istisnuo podtip H3N2. Tako u ljudskoj populaciji cirkuliraju i uzrokuju epidemije dva podtipa virusa influence A (H3N2 i H1N1) te virus influence B. Da bi se moglo točno pratiti kretanje influence i poduzeti odgovarajuće protuepidemijske mjere, Svjetska zdravstvena organizacija je 1947. godine osnovala Centar za influencu u Londonu. Danas postoje četiri Centra za praćenje i nadzor influence, u Londonu, Atlanti, Melbourneu i Tokiju, te niz područnih nacionalnih centara. Međusobnim obavješćivanjem o kretanju influence upoznate su biološke osobine virusa influence, podrijetlo i značajke pojedinih epidemija i pandemija. Brza izolacija nekog novog epidemijskog ili pandemijskog virusa omogućuje njegovo uvrštenje u cjepivo i time provedbu specifične zaštite ugrožene populacije.

## Patogeneza

Najvažniji izvor zaraze je čovjek. Virus se prenosi respiratornim sekretima od inficirane na osjetljivu osobu kapljicnim aerosolom (12). Pri tome je najvažnija uloga manjih čestica aerosola čija je veličina  $<10 \mu\text{m}$ , a koje nastaju prilikom kihanja, kašljanja i govora. Kada dospije na epitel dišnog sustava, virus se može pričvrstiti za epitelne stanice, penetrirati u stanice i uzrokovati njihovu smrt putem dvaju mehanizama. Jedan od njih je gubitak esencijalnih staničnih proteina, a drugi apoptoza (13, 14). Nakon toga virusi se oslobađaju i inficiraju susjedne epitelne stanice. Inkubacijsko razdoblje varira između 18 i 72 sata.

Eksperimentalna infekcija u dobrovoljaca dokazala je da je težina bolesti u korelaciji s količinom izlučivanog virusa, što sugerira da je glavni mehanizam težine bolesti smrt stanice kao rezultat replikacije virusa. Iako u kliničkoj prezentaciji bolesti dominiraju opći simptomi, replikacija virusa je ograničena na respiratorni sustav. Opći simptomi su vjerojatno rezultat djelovanja potentnih citokina, kao što su interferon tip 1, faktor nekroze tumora i interleukini, koje oslobađaju inficirane stanice i limfociti (15).

Bronhoskopskim pregledom u osoba s nekomplikiranom influencom otkriva se difuzna inflamacija larinksa, traheje i bronha s injekcijom mukozne edemom (16). Biopsija pokazuje vakuolizaciju i gubitak epitelnih stanica, znatnu deskvamaciju epitelnih cilija sve do stanica bazalne membrane (17). Abnormalnosti plućnih funkcija i u prethodno zdravih osoba često se otkrivaju za vrijeme influence i mogu trajati nekoliko tjedana nakon kliničkog izlječenja.

Španjolska se pandemija razlikuje od ostalih po vrlo visokoj smrtnosti, poglavito mladih ljudi. Do danas nisu poznati čimbenici koji su za to odgovorni. Do današnjeg dana nije se našla bitna razlika u sojevima virusa s obzirom na patogeni potencijal u ljudi. Težinu epidemije stoga najvjerojatnije određuje imuni status populacije na virus influence.

Epidemiološka istraživanja potvrđuju dugogodišnju otpornost na reinfekciju homolognim virusom influence. Osim toga, bio je opažen različit stupanj križne zaštite unutar podtipa virusa, no ipak infekcija ne izaziva bitnu zaštitu unutar podtipova ili između tipa A i B. Infekcija virusom influence inducira i sistemsku i lokalnu proizvodnju protutijela, kao i odgovor citotoksičnih T-stanica. Kao rezultat infekcije organizam proizvodi protutijela protiv glukoproteina HA i NA, kao i strukturnih proteina M i NP te u nekih osoba i protiv proteina M2 (18). Protutijela protiv HA štite i protiv infekcije i bolesti od homolognog soja, te u nekom stupnju i protiv soja koji je razvio antigeni "drift" (19). Za razliku od toga, protutijela protiv NA ne neutraliziraju infektivnost virusa, nego smanjuju učinkovito oslobađanje virusa iz inficirane stanice (20). Na taj način inficirana osoba izlučuje manju količinu virusa. Protutijela na proteine M i NP križno reagiraju između tipova virusa A, ali nemaju neutralizirajući učinak i nemaju ulogu u zaštiti od infekcije. Nakon infekcije virusom influence dokazana su IgA i IgG-protutijela u nazalnom sekretu. Nazalna IgG-protutijela sistemskog su podrijetla, a u sluznicu nosa dolaze pasivnom difuzijom iz sistemske cirkulacije, dok IgA-protutijela nastaju lokalnom sintezom (21). Značajno je da i mukozna i sistemska protutijela pojedinačno mogu biti zaštitna ako su prisutna u dovoljno visokoj koncentraciji, a optimalna zaštita pojavljuje se ako su prisutna i serumska i lokalna protutijela. Osim humoralne imunosti u obrani od infekcije virusom influence važna je i celularna imunost, tako da osobe s oštećenom staničnom imunosti u pravilu imaju težu infekciju (22). Za proizvodnju antihemaglutininskih protutijela potrebne su T-stanice. Limfociti CD4+ omogućuju B-stanicama proizvodnju protutijela protiv HA i NA (23). Postoje izvješća koja pokazuju da je Th1-stanični odgovor povezan sa zaštitom od infekcije virusom influence (24). Isto tako, citotoksični limfociti imaju važnu ulogu u obrani od infekcije putem uništavanja inficiranih stanica domaćina (25).

## *Klinička slika*

Nakon inkubacijskog razdoblja od 1 do 2 dana, početak bolesti je nagao. Mnogi bolesnici mogu navesti točan sat početka bolesti. U početku dominiraju opći simptomi, uključujući vrućicu, zimicu ili tresavicu, glavobolju, mialgije, slabost i gubitak apetita. Prostracija se registrira u težim slučajevima. Mialgije i glavobolja najizraženiji su simptomi, a težina bolesti je u vezi s visinom vrućice. Osobito je izražena bol u mišićima ekstremiteta i u križima, a u djece bol u listovima. Javljaju se bol u mišićima očiju te suženje i pečenje očiju. Opći simptomi u nekomplikiranim slučajevima obično traju tri dana, koliko i vrućica. Respiratorni simptomi, poglavito suhi kašalj, jaka bol u ždrijelu te začepjenost ili curenje iz nosa obično su prisutni na početku bolesti, no oni su u sjeni općih simptoma. Dominacija općih simptoma u početku

bolesti je glavni znak koji razlikuje influencu od drugih virusnih infekcija gornjih dišnih putova. Suhoća i bol u grlu mogu biti prisutni, ali u pravilu se pojavljuju kada nestaju opći simptomi i traju 3-4 dana nakon prestanka vrućice. Kašalj je najčešći simptom i može biti praćen osjećajem nelagode i pečenjem iza prsne kosti. Postoji širok raspon kliničkih pojavnosti bolesti u zdravih odraslih osoba, od klasične gripe do blage bolesti ili asimptomatske infekcije.

Vrućica je najvažniji simptom bolesti. Obično brzo raste i doseže vrijednost i višu od 40 °C unutar 12 sati od početka bolesti, istodobno s razvojem drugih općih simptoma. Vrućica je obično tipa kontinue, ali može biti intermitentna, poglavito ako bolesnik uzima antipiretike. Drugi i treći dan bolesti obično su nešto niže vrijednosti temperature u odnosu na prvi dan te se u isto vrijeme smiruju opći simptomi bolesti. Temperatura je obično povišena 3-5 dana, no može potrajati do 8 dana.

Na početku bolesti izražena je toksemija, lice je zažareno, a koža topla i vlažna. Izražen je konjunktivitis te bistra sekrecija iz nosa. Sluznica nosa i ždrijela je hiperemična, ali obično bez eksudata. Često su povećani cervikalni limfni čvorovi. Auskultacijom pluća registriraju se generalizirani ili lokalizirani hropčići u manje od petine bolesnika. Razdoblje rekonvalescencije do potpunog ozdravljenja traje nekoliko tjedana, a za to vrijeme dominiraju kašalj, umor i malaksalost.

Klinički oblici bolesti izazvani virusom influence A i B obično se bitno ne razlikuju, iako postoje mišljenja da je influenza B blaža bolest nego influenza A (26). Za razliku od toga, virus influence C uzrokuje običnu prehladu, odnosno samo izuzetno sindrom influence te se nikada ne javlja epidemijski. Postoji razlika u kliničkoj prezentaciji bolesti s obzirom na dob bolesnika. Incidencija bolesti je veća u djece nego u odraslih (27). U djece je viša temperatura, a cervikalna adenopatija je češće prisutna nego u odraslih (28). Krup kao komplikacija bolesti često se pojavljuje u djece. Plućne komplikacije su mnogo češće u starijih bolesnika nego u drugim dobnim skupinama.

## *Komplikacije*

Prognoza bolesti je dobra, jer najčešće dolazi do potpunog ozdravljenja. Komplikacije i smrtnost česte su u starijih i kroničnih bolesnika, zbog znatnijih fizioloških poremećaja u vitalnim organima te sekundarnih bakterijskih infekcija. Najvažnije komplikacije influence su upale pluća: primarna virusna ili sekundarna bakterijska pneumonija. Osim toga, za vrijeme epidemije influence opisuju se lokalizirana virusna pneumonija te miješana virusna i bakterijska pneumonija.

Sindrom primarne virusne pneumonije prvi je put dobro opisan za vrijeme azijske pandemije 1957.-1958. godine. Smatra se glavnim uzrokom smrtnosti u prethodno

zdravih mladih osoba tijekom španjolske pandemije. Bolest počinje tipičnim simptomima influence, nakon čega slijedi brza progresija vrućice, kašlja, dispneje i cijanoze. Fizikalnim pregledom i rendgenskom snimkom pluća otkrivaju se obostrani upalni infiltrati. U krvi je prisutna hipoksemija, mikroskopski pregled iskašljaja po Gramu pokazuje normalnu bakterijsku floru, a iz iskašljaja se može izolirati virus influence. Takvi bolesnici ne reagiraju na antimikrobnu terapiju i smrtnost im je visoka. U sadašnje vrijeme, u kasnom interpandemijskom razdoblju, teška primarna virusna pneumonija je vrlo rijetka pojava.

Sekundarna bakterijska pneumonija obično se pojavljuje na kraju bolesti ili u rekonvalescenciji, poglavito u starijih bolesnika ili onih s kroničnim plućnim, srčanim ili metaboličkim bolestima. Rekrudescencija vrućice povezana je sa simptomima i znakovima pneumonije kao što su produktivni kašalj te bronhopneumonički infiltrat otkriven rendgenogramom pluća. Bojenje po Gramu i kultura iskašljaja otkrivaju uzročnika bolesti, najčešće *Streptococcus pneumoniae* ili *Haemophilus influenzae* te sve češće i *Staphylococcus aureus*.

U toku epidemije influence bolesnici mogu imati istodobno virusnu i bakterijsku ("miješanu") pneumoniju (29). Na taj način već u ranoj fazi influence dolazi do pojave bakterijske pneumonije. Opći simptomi bolesti su izrazito teški, a od početka bolesti izraženi su i respiratorni simptomi. Brza progresija bolesti pobudi sumnju na influencu s komplikacijama. U većine tih bolesnika antibiotici imaju dobar učinak.

Osim primarne virusne pneumonije, koja je teška bolest, opisuje se i blaža forma pneumonije uzrokovane virusom influence koja najviše sliči pneumoniji što je uzrokuje mikoplazma pneumonije.

U djece se pneumonija rijetko pojavljuje, a relativno često se otkrivaju bronhitis, traheobronhitis, otitis, sinusitis te ponekad krup. U bolesnika s kroničnim bronhitisom i astmom u toku influence nerijetko se javlja egzacerbacija.

U toku epidemije influence registriju se i komplikacije izvan dišnog sustava. Tako se opisuju miozitis i mioglobinurija, s bolnošću mišića nogu i povišenom vrijednosti kreatinfosfokinaze, poglavito u djece nakon A ili B virusne infekcije. U srčanih bolesnika influenza je povezana sa značajno većim rizikom od smrtnosti. Tako su zabilježeni miokarditis i perikarditis u bolesnika s influencom. No, na obdukciji bolesnika koji su umrli od primarne virusne pneumonije rijetko se nađu miokarditis i perikarditis (30). U novijim epidemijama virusa influence A i B opisuje se toksični šok-like sindrom. Postoje izvještaji o Guillain-Barréovu sindromu, transverzalnom mijelitisu te encefalitisu u tijeku influence. Jedna od značajnih komplikacija influence jest i Reyeov sindrom. Karakteriziran je encefalopatijom koja varira od letargije do delirija, konvulzija i respiratornog aresta. Nalaz lumbalne punkcije citološki i biokemijski je uredan. Najvažniji laboratorijski nalaz je povišena vrijednost amonijaka

u serumu, koji se pojavljuje gotovo u svih bolesnika. Reyeov sindrom se viđa isključivo u djece koja su uzimala preparate acetilsalicilne kiseline u liječenju febrilne respiratorne bolesti uzrokovane virusom influence ili nekim drugim respiratornim virusom.

## Dijagnoza

Dijagnoza influence temelji se na kliničkoj slici bolesti, epidemiološkim podacima te nalazima viroloških pretraga. Tipična klinička slika uz epidemiološki podatak o postojanju epidemije influence olakšava kliničaru dijagnostički problem. Nekoliko istraživanja je pokazalo da se u 80 do 90% mladih odraslih u vrijeme epidemije dijagnoza influence može postaviti na osnovi kliničke slike (31). Kašalj i vrućica od svih simptoma imaju najbolju prediktivnu vrijednost za točnu dijagnozu influence (32). S druge strane, u male djece, kao i u starijih bolesnika klinička slika je često atipična i dijagnoza se može postaviti samo s pomoću viroloških pretraga.

Izolacija virusa iz respiratornog sekreta moguća je prvih dana bolesti. Virus se može izolirati iz obriska nazofarinksa, obriska ždrijela, ispirka nazofarinksa ili kombinacijom spomenutih uzoraka. Uzorak se stavlja u virusni transportni medij i transportira u laboratorij te inokulira u odgovarajuću kulturu stanica ili pileći embrij. U više od 90% slučajeva unutar prva tri dana nakon inokulacije virus se može otkriti (33). Izolacija i tipizacija virusa vrlo je važna za javno zdravstvo i praćenje epidemiološke situacije. Zato je važno na početku epidemije izolirati uzročni virus, a kasnije se u svakodnevnom radu izolacija virusa ne prakticira zbog kompliciranosti i skupoće pretrage. Osim izolacije virusa, iz respiratornog sekreta može se otkriti antigen virusa influence. U upotrebi je više komercijalnih testova, zajednička im je osobina da otkrivaju i virus influence A i B, relativno su jednostavni za upotrebu, a omogućuju nalaz unutar 30 minuta. Njihova osjetljivost u usporedbi sa staničnom kulturom varira između 40% i 80% (34). U novije vrijeme rabe se testovi direktnog otkrivanja nukleinske kiseline virusa influence, kao što su hibridizacija nukleinskih kiselina i lančana reakcija polimerazom (PCR). PCR ima veću osjetljivost od kultivacije, no zahtijeva posebno educirano osoblje i specijaliziranu laboratorijsku opremu. Od svih uzoraka iz dišnog sustava najveću osjetljivost imaju obrisak i aspirat nazofarinksa (34). Uz spomenute virološke testove influenza se može dokazati nalazom specifičnih protutijela u serumu bolesnika. Potrebno je dokazati porast titra protutijela u toku bolesti pa se ispituju parni uzorci seruma; jedan uzet na početku bolesti, a drugi nakon dva tjedna u rekonvalescenciji. Od seroloških testova u upotrebi su reakcija vezanja komplementa (RVK), inhibicija hemaglutinacije (IHA) te u novije vrijeme enzimski imunotest (ELISA).

U diferencijalnoj dijagnozi influence dolaze u obzir sve bolesti s kratkim febrilnim tokom, poglavito one

s respiratornim simptomima. Vrlo je važno influencu razlikovati od drugih akutnih virusnih respiratornih infekcija. One su u pravilu blažeg i kraćeg tijeka, rjeđe su sklone komplikacijama i obično su od početka praćene kataralnim simptomima.

## Liječenje

Osnovno liječenje influence je simptomatsko. Bolesnici moraju mirovati, uzimati dovoljno tekućine i lakše probavljivu hranu. Često je potrebno tekućinu i elektrolite dati u obliku infuzije. Od lijekova daju se antipiretici, analgetici, dijaforetici te antitusici. Kardiopatima je obično potrebna primjena kardijaka, a kroničnim plućnim bolesnicima i bronhodilatatori. Svi teži oblici bolesti liječe se u bolnici.

Osobe u kojih postoji visok rizik od razvoja komplikacija u epidemijeske razdoblju influence potrebno je liječiti antivirusnim lijekovima. To su necijepljeni bolesnici stariji od 65 godina te bolesnici s KOPB-om, astmom, kardiopati, dijabetičari, osobe s kroničnim bolestima bubrega i jetre, zloćudnim tumorima i s kroničnim bolestima vezivnog tkiva (35). Specifični antivirusni lijekovi mogu ublažiti simptome i skratiti trajanje bolesti za 1 do 2 dana. Učinkoviti su ako se primijene unutar 24 do 48 sati od početka bolesti. Postoje dvije glavne skupine antivirusnih lijekova protiv influence, blokatori M2-ionskih kanala i inhibitori virusne neuraminidaze. Amantadin i rimantadin su blokatori M2-ionskih kanala koji na taj način zaustavljaju replikaciju virusa unutar stanice domaćina (36). Učinkoviti su samo protiv influence A, budući da virus influence B ne posjeduje M2-protein. Rabe se u liječenju i prevenciji influence A više od 30 godina. Dnevna doza je 2x100 mg peroralno u odraslih, odnosno 5 mg/kg u dvije dnevne doze u dječjoj dobi. Najčešće su nuspojave sa strane središnjega živčanog sustava i gastrointestinalnog sustava. U gotovo trećine bolesnika pojavljuje se rezistencija virusa zbog mutacije M2-proteina. Iako su poznati gotovo 40 godina, u našoj se sredini vrlo rijetko propisuju. Zanamivir i oseltamivir su inhibitori virusne neuraminidaze, a otkriveni su prije desetak godina. Njihovim djelovanjem virus influence ne može se osloboditi iz inficirane stanice te ostaje "zarobljen" na površini stanice domaćina (37, 38). Daju se u liječenju influence A i B. Učinkoviti su i u liječenju ptičje gripe (H5N1). Oseltamivir se osim toga rabi i u sprječavanju influence A i B. Rijetko izaziva nuspojave, osim blagih gastrointestinalnih tegoba. Dnevna doza mu je 2x75 mg peroralno. Zanamivir se rabi u obliku inhalacija u dnevnoj dozi 2x10 mg. Ponekad može uzrokovati bronhospazam. Glavni nedostatak inhibitora neuraminidaze je njihova relativno visoka cijena.

Liječenje antibioticima pomaže samo u sekundarnim bakterijskim infekcijama.

## Sprječavanje

Budući da je influenza teška bolest, a za starije i kronične bolesnike i pogibeljna, te da se pojavljuje epidemijski, vrlo su važne javnozdravstvene mjere za sprječavanje i suzbijanje ove infekcije. Opće mjere, kao što su preporuke za što manje okupljanje ljudi, odgađanje kulturnih i sportskih priredaba, zatvaranje škola i vrtića, zabrana posjeta bolnicama nisu postigle očekivani rezultat te su danas napuštene.

Cijepljenje protiv influence je najjednostavnija i najučinkovitija mjera u sprječavanju bolesti. U našoj sredini provodi se svake godine u jesen, prije pojave sezone gripe. Cjepivo stvara kratkotrajan imunitet, oko pola godine, pa se gotovo svake godine mijenja sastav cjepiva. Zbog toga se potrebno cijepiti svake godine. Djeca mlađa od devet godina koja nisu prije cijepljena protiv influence dobivaju dvije doze cjepiva u razmaku od mjesec dana. Cjepivo sadržava dva podtipa virusa influence A (H1N1 i H3N2) te virus influence B. Sastav cjepiva se određuje na osnovi epidemiološke i antigene analize aktualnih cirkulirajućih sojeva virusa influence. Od 1970. godine cjepivo je standardizirano i kao antigen sadržava po 15 µg HA i NA (39). Postoji živo atenuirano i mrtvo inaktivirano cjepivo. Kod nas

Tablica 3. Preporuke za cijepljenje protiv influence

<p><b>1. Osobe koje imaju visok rizik od nastanka komplikacija</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• svi stariji od 65 godina</li> <li>• osobe smještene u umirovljeničkim domovima ili gerijatrijskim ustanovama</li> <li>• odrasli i djeca s kroničnim plućnim i srčanim bolestima</li> <li>• odrasli i djeca s kroničnim metaboličkim bolestima (uključujući dijabetes), bolestima bubrega, hemoglobinopatijama i imunokompromitirani (uključujući HIV-pozitivne)</li> <li>• djeca i adolescenti koji su na dugotrajnoj terapiji salicilatima</li> <li>• žene koje će biti u drugom ili trećem trimestru trudnoće u vrijeme epidemije influence</li> <li>• djeca u dobi od 6 do 23 mjeseca</li> <li>• osobe s bolestima koje ugrožavaju funkciju disanja (bolesti ili oštećenja središnjeg i perifernoga živčanog sustava i kronične mišićne bolesti)</li> </ul>
<p><b>2. Osobe u dobi od 50 do 64 godine*</b></p>
<p><b>3. Osobe koje mogu prenijeti influencu na visokorizične bolesnike</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• liječnici, medicinske sestre i drugo medicinsko osoblje</li> <li>• radnici u umirovljeničkim domovima i drugim ustanovama za kroničnu njegu bolesnika</li> <li>• osobe koje kod kuće njeguju visokorizične bolesnike</li> <li>• kućni kontakti (uključujući djecu) visokorizičnih osoba</li> <li>• kućni kontakti djece u dobi do dvije godine</li> </ul>

\* Preporuka centara za kontrolu i prevenciju bolesti, Atlanta, SAD



se rabi tzv. "subunit" cjepivo koje sadržava pročišćene antigene HA i NA. U Hrvatskoj se posljednjih godina cijepi više od 400 000 ljudi, što je dobar cjepni obuhvat. Cjepivo se općenito dobro tolerira. Kao nuspojave najčešće se spominju blage lokalne reakcije na mjestu aplikacije. Sistemske reakcije, kao što su vrućica, nelagodnost i mialgije vrlo su rijetke, a pojavljuju se 6-12 sati nakon cijepjenja i traju 1-2 dana. Cijepjenje je kontraindicirano u osoba koje su alergične na jaja te privremeno u osoba s akutnim febrilnim bolestima. Preporučuje se za posebno ugrožene populacijske skupine ljudi u kojih influenza može biti teška bolest, za osobe koje mogu bolest prenijeti na spomenutu populaciju te zdravstvene radnike jer su pod povećanim profesionalnim rizikom (tablica 3). Imunitet nakon

cijepjenja nastupa za otprilike 2-3 tjedna. Učinkovitost cjepiva kreće se od 70% do 90% u mlađih odraslih, a u starijih i kroničnih bolesnika je oko 50% (40).

Za profilaksu influence mogu se rabiti i antivirusni lijekovi, amantadin, rimantadin te oseltamivir. Potrebno ih je davati cijelo vrijeme dok traje epidemija influence, obično 4 do 6 tjedana. Indicirani su u necijepjenih osoba koje imaju visok rizik od teškog oblika bolesti i razvoja komplikacija. Mogu se dati visokorizičnim osobama koje su cijepjene za vrijeme epidemije influence, u fazi dok cjepivo još nije proizvelo imunitet. Osim toga, Svjetska zdravstvena organizacija preporučuje oseltamivir za osobe koje putuje u zemlje jugoistočne Azije gdje je registrirana ptičja gripa.

## Literatura

1. WILSON IA, SKEHEL JJ, WILEY DG. Structure of the hemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus at 3A resolution. *Nature* 1981;289:366-73.
2. ROHM C, ZHOU N, SUSS J, MACKENZIE J, WEBSTER RG. Characterization of a novel influenza hemagglutinin, H15: Criteria for determination of influenza A subtypes. *Virology* 1996;217:508-15.
3. SUAREZ DL, PERDUE ML, COX N, ROWET T, BENDER C, HUANG J i sur. Comparisons of highly virulent H5N1 influenza A viruses isolated from humans and chickens from Hong Kong. *J Virol* 1998;72:6678-88.
4. SIMONSEN L, CLARKE MJ, WILLIAMSON DW, STROUP DF, ARDEN NH, SCHONBERGER LB. The impact of influenza epidemics on mortality: Introducing a severity index. *Am J Public Health* 1997;87:1944-50.
5. THOMPSON WW, SHAY DK, WEINTRAUB E, BRAMMER L, COX N, ANDERSON LJ i sur. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA* 2003;289:179-86.
6. GLEZEN WP, KEITEL WA, TABER LH, PIEDRA PA, CLOVER RD, COUCH RB. Age distribution of patients with medically attended illnesses caused by sequential variants of influenza A/H1N1: Comparison to age-specific infection rates, 1978-1989. *Am J Epidemiol* 1991;133:296-304.
7. NEUZIL KM, MELLEEN BG, WRIGHT PF, MITCHEL EF, GRIFFIN MR. The effect of influenza on hospitalizations, outpatient visits, and courses of antibiotics in children. *N Engl J Med* 2000;342: 225-31.
8. FALSEY AR, CUNNINGHAM CK, BARKER WH, KOUIDESSEN RW, YUEN JB, MENEGUS M i sur. Respiratory syncytial virus and influenza A infection in the hospitalized elderly. *J Infect Dis* 1995;172:389-94.
9. GLEZEN WP, COUCH RB, SIX HR. The influenza herald wave. *Am J Epidemiol* 1982;116:589-98.
10. WILSON IA, COX NJ. Structural basis of immune recognition of influenza virus hemagglutinin. *Ann Rev Immunol* 1990;8:737-71.
11. HAY AJ, GREGORY V, DOUGLAS AR, LIN YP. The evolution of human influenza viruses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001;356:1861-9.
12. DOUGLAS RG Jr. Influenza in man. U: Kilbourne ED, urednik. *The Influenza Viruses and Influenza*. New York: Academic Press, 1975:395-47.
13. SANZ-ESQUERRO JJ, DE LA LUNA S, ORTIN J, NIETO A. Individual expression of the influenza virus PA protein induces degradation of coexpressed proteins. *J Virol* 1995;69:2420-6.
14. HINSHAW VS, OLSEN CW, DYBDAHL-SISSOKO N, EVANS D. Apoptosis: A mechanism of cell killing by influenza A and B viruses. *J Virol* 1994;68:3667-73.
15. HAYDEN FG, FRITZ R, LOBO MC, ALVORD W, STROBER W, STRAUS SE. Local and systemic cytokine responses during experimental human influenza A virus infection: Relation to symptom formation and host defense. *J Clin Invest* 1998;101:643-9.

16. MARTIN CM, KUNIN CM, GOTTLIEB LS, FINLAND M. Asian influenza A in Boston, 1957-1958. *Arch Intern Med* 1959;103:516-31.
17. WALSH JJ, DIETLEIN LF, LOW FN, BURCH GE, MOGABGAB WJ. Bronchotracheal response in human influenza. *Arch Intern Med* 1961;108:376-88.
18. BLACK RA, ROTA PA, GORODKOVA N, CRAMER A, KLENK HD, KENDAL AP. Antibody response to the M2 protein of influenza A virus expressed in insect cells. *J Gen Virol* 1993;74:143-6.
19. MURPHY BR, CLEMENTS ML. The systemic and mucosal immune response of humans to influenza A virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 1989;146:107-16.
20. WEBSTER RG, REAY PA, LAVER WG. Protection against lethal influenza with neuraminidase. *Virology* 1988;164:230-7.
21. WAGNER DK, CLEMENTS ML, REIMER CB, SNYDER M, NELSON DL, MURPHY BR. Analysis of immunoglobulin G antibody responses after administration of live and inactivated influenza A vaccine indicates that nasal wash immunoglobulin G is a transudate from serum. *J Clin Microbiol* 1987;25:559-62.
22. WHIMBEY E, ELING LS, COUCH RB, LO W, WILLIAMS L, CHAMPLIN RE i sur. Influenza A virus infection among hospitalized adult bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 1994;13:437-40.
23. LAMB JR, WOODY JN, HARTZMAN RD, ECKELS DD. *In vitro* influenza virus-specific antibody production in man: Antigen-specific and HLA-restricted induction of helper activity mediated by cloned human T lymphocytes. *J Immunol* 1982;129:1465-70.
24. BAUMGARTH N, BROWN L, JACKSON D, KELSO A. Novel features of the respiratory tract T-cell response to influenza virus infection: Lung T-cells increase expression of gamma interferon mRNA in vivo and maintain high levels of mRNA expression for interleukin-5 (IL-5) and IL-10. *J Virol* 1994;68:7575-81.
25. BIDDISON WE, SHARROW SO, SHEARER GM. T-cell subpopulations required for the human cytotoxic T lymphocyte response to influenza virus: Evidence for T-cell help. *J Immunol* 1981;127:487-91.
26. NIGG C, ECKLUND CM, WILSON DE. Study of epidemics of influenza B. *Am J Hyg* 1942;35:265-75.
27. McINTOSH K, HALONON P, RUUSKANEN O. Report of a workshop on respiratory viral infection: Epidemiology, diagnosis, treatment and prevention. *Clin Infect Dis* 1993;16:151-64.
28. JORDAN WS, DENNY FW, BADGER GF. A study of illness in a group of Cleveland families: XVII. The occurrence of Asian influenza. *Am J Hyg* 1958;68:190-212.
29. KAYE D, ROSENBLUTH M, HOOK EW. Endemic influenza: II. The nature of the disease in the post-pandemic period. *Am Rev Respir Dis.* 1962;85:9-21.
30. LOURIA DB, BLUMENFELD HL, ELLIS JT, KILBOURNE ED, ROGERS DE. Studies on influenza in the pandemic of 1957-1958: II. pulmonary complications of influenza. *J Clin Invest* 1959;38:213-65.
31. BOVIN G, HARDY I, TELLIER G, MAZIADE J. Predicting influenza infections during epidemics with use of a clinical case definition. *Clin Infect Dis* 2000;31:1166-9.
32. MONTO AS, GRAVENSTEIN S, ELLIOTT M, COLOPY M, SCHWEINLE J. Clinical signs and symptoms predicting influenza infection. *Arch Intern Med* 2000;160:3243-7.
33. NEWTON DW, MELLEN CF, BAXTER BD, ATMAR RL, MENEGUS MA. Practical and sensitive screening strategy for detection of influenza virus. *J Clin Microbiol* 2002;40:4353-6.
34. COVALCIUC KA, WEBB KH, CARLSON CA. Comparison of four clinical specimen types for detection of influenza A and B viruses by optical immunoassay (FLU OIA test) and cell culture methods. *J Clin Microbiol* 1999;37:3971-4.
35. HEINS JR, PLAMP J. Treatment and prophylaxis options for influenza. *SDJ Med* 2004;57:529-31.
36. BETTS RF. Amantadine and rimantadine for the prevention of influenza A. *Semin Respir Infect* 1989;4:304-10.
37. NICHOLSON KG, AOKI FY, OSTERHAUS AD, TROTTIER S, CAREWICZO O, MERCIER CH i sur. Efficacy and safety of oseltamivir in treatment of acute influenza: A randomized controlled trial. *Lancet* 2000;355:1845-50.
38. HAYDEN FG, OSTERHAUS AD, TREANOR JJ i sur. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenzavirus infections. *N Engl J Med* 1997;337:874-80.
39. WOOD JM. Standardization of inactivated influenza vaccine. U: Nicholson KG, Webster RG, Hay AJ, (ur.) *Textbook of Influenza*. London: Blackwell Science, 1998:333-45.
40. GOVAERT TM, THUIS CT, MASUREL N, SPRENGER MJ, DINANT GJ, KNOTTNERUS JA. The efficacy of influenza vaccination in elderly individuals: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *JAMA* 1994;272:1956-61.