
MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS AND IMPORTANCE OF INFECTIONS CAUSED BY INFLENZAE – A VIRUS

Zivadinka Cvetanovska

Institute of Public Health - Skopje, Republic of North Macedonia, zani134@yahoo.com

Vaso Taleski

University „Goce Delchev“ -Shtip, Faculty of Medical Sciences, Republic of North Macedonia

Abstract: Influenza is one of the commonest acute viral respiratory infections with a great potential for spreading as an epidemic or pandemic appearance.

Until 2009 relevant data about types and subtypes of influenza viruses circulated in Republic of Macedonia, did not exist.

Since pandemic in 2009, molecular method RT-PCR was introduced real time detection of types and subtypes of influenza viruses, which enabled continuously and accurate follow up.

Flu differ in types and subtypes presence in each new season, with great influence on number of patients and deaths caused by influenza viral infections.

In season 2009/2010 - type Influenza A dominated, subtype A (H1N1) pdm. Total number of 54.343 cases were registered and 30 deaths.

In season 2010/2011 – co-circulated types of Influenza A and Influenza B, with small domination of subtype A (H1N1) pdm. Total number of 27.635 cases were registered and 17 deaths.

In season 2011/2012 - dominant was type Influenza A, subtype A (H3N2). Total number of 9.732 cases were registered and only one case of death.

In season 2012/2013 - co-circulated types of Influenza A and Influenza B, with domination of subtype A (H1N1) pdm. Total number of 24.524 were registered, no deaths.

In season 2013/2014 - co-circulated types of Influenza A and Influenza B, with domination of subtype A (H3N2). Total number of 29.074 were registered and 12 deaths.

In season 2014/2015 - dominant was type Influenza B, and also Influenza A subtype A(H3N2) circulated. Total number of reported cases was 33.228, no deaths.

In season 2015/2016 - Influenza A, subtype A(H1N1) pdm was dominant. During same period, type Influenza B, subtype Victoria was detected as well. Total number of reported cases was 29.094 and 2 deaths.

In season 2016/2017 - type Influenza A, subtype A/H3, was dominant. Total number of reported cases was 35.079 and 2 deaths.

In season 2017/2018 година – simultaneously circulation of types Influenza A and Influenza B, with domination of lineage B/Yamagata. Total number of 23.954 cases were registered, no deaths.

In season 2018/2019 - highest number of cases were caused by type Influenza A subtype A(H1) pdm, in co-circulation with Influenza A(H3). Total number of reported cases was 21.404 and 29 deaths, that present the highest number of deaths in correlation with number of diseased.

Keywords: virus, influenza, Influenza A, Influenza B, subtype, type, RT-PCR.

МИКРОБИОЛОШКА ДИЈАГНОЗА И ЗНАЧЕЊЕ НА ИНФЕКЦИИТЕ ПРИЧИНЕТИ ОД ВИРУСОТ НА INFLENZAE – A

Живадинка Цветановска

УЈЗ Институт за Јавно Здравје – Скопје, Република Северна Македонија, zani134@yahoo.com

Васо Талески

Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип, Република Северна Македонија

Резиме: Инфлуенцата е едно од најчестите акутни вирусни респираторни болести со голем потенцијал за појава во епидемски и пандемски размери.

До 2009 година не постоеле релевантни податоци за типовите и субтиповите на инфлуенца вирусите кои циркулирале во Република Македонија. Од појавата на пандемијата во 2009 година е воведена е

молекуларната метода RT-PCR со која во реално време се детектираат типовите и суптиповите на инфлуенца вирусите, со што е овозможено континуирано и веродостојно следење.

Сезоните на грип се разликуваат по типот и субтипот на инфлуенца вирусите во секоја нова сезона, како и нивното влијание врз бројот на заболени и починатите од инфлуенца вирусот.

Во сезоната 2009/2010 година – доминирал типот на Influenza A, односно субтипот A (H1N1) pdm. Пријавени се вкупно 54.343 случаи на а починати вкупно се 30 заболени.

Во сезоната 2010/2011 година – во корелација се типовите на Influenza A и Influenza B, со лесна доминација субтипот A (H1N1) pdm. Пријавени се вкупно 27.635 случаи а починале 17 заболени.

Во сезоната 2011/2012 година – доминира типот на Influenza A, со субтипот A (H3N2). Пријавени се вкупно 9.732 случаи а починати само еден заболени

Во сезоната 2012/2013 година – коциркулираат типовите на Influenza A и Influenza B, со доминација на субтипот A (H1N1) pdm. Пријавени се вкупно 24.524, нема починати лица.

Во сезоната 2013/2014 година - коциркулираат типовите на Influenza A и Influenza B, со доминација на субтипот A (H3N2). Пријавени се вкупно 29.074 случаи, починале 12 заболени.

Во сезоната 2014/2015 година – доминира типот Influenza B, а од Influenza A циркулира субтипот Influenza A(H3N2). Вкупниот број на заболени бил 33.228 лица, нема починати.

Во сезоната 2015/2016 година – доминира Influenza A со субтипот Influenza A(H1N1) pdm, во овој приод е детектирана циркулација на типот Influenza B, со субтипот Influenza B/Victorija. Пријавени се вкупно 29.094 случаи со два смртни случаи.

Во сезоната 2016/2017 година – доминира Influenza A со субтипот Influenza A/H3. Пријавени се вкупно 35.079 случаи со два смртни случаи.

Во сезоната 2017/2018 година - заеднички циркулираат Influenza A и Influenza B, а линијата B/Yamagata доминира. Пријавени се вкупно 23.954 случаи со инфлуенца или заболувања слични на инфлуенца, нема смртни случаи.

Во сезоната 2018/2019 година - најголем број од докажаните инфлуенца вируси припаѓаат на поттипот Influenza A(H1) pdm, а ко-циркулира и Influenza A(H3). Вкупниот број на заболени изнесува 21.404 со 29 починати што претставува највисок број на смртни исходи во однос на бројот на заболени.

Клучни зборови: вирус, инфлуенца, Influenza A, Influenza B, суп тип, тип, RT-PCR.

ВОВЕД

Инфлуенца е едно од најнепредвидливите заболувања со потенцијал да предизвика огромни штетни последици, пред се за здравјето на луѓето, но и големи економски штети на секоја држава. Заболувањето спаѓа меѓу најчестите акутни вирусни респираторни болести со голем потенцијал за епидемско и пандемско ширење, што претставува еден од најголемите светски предизвици во однос на сите заразни болести.(1) Епидемиите на инфлуенца со различен интензитет се појавуваат секоја зима. За да може да се одговори и контролира инфлуенца вирусот, неопходно е негово ефикасно следење, подеднакво од епидемиолошки и од вирусолошки аспект. Примената на лабораториската, односно вирусолошката дијагностика во следењето на инфлуенца вирусите е особено значајно за епидемиолозите и клиничарите, за правилно следење и третман на пациентите. До 2009 година во Македонија нема релевантни податоци за типовите и субтиповите на инфлуенца вирусите кој циркулираат во нашата земја. Од појават на пандемијата во 2009 година е воведен методот на RT-PCR во реално време за детекција на инфлуенца вирусите, а со тоа и нивно континуирано, веродостојно следење. Сите пост пандемски сезони започнуваат подоцна од пандемската сезона. Сезоната на инфлуенца најчесто започнува при крајот на декември и трае до април следната година, во споредба со пандемијата во 2009 година која започнува во април 2009 година и завршува во средината на мај 2010 година. (3). Деветте пост пандемски сезони во Република Македонија варираат од сезона во сезона. Активноста на сезонската инфлуенца вообичаено започнувала во декември, а својот врв го достигнувала во јануари или февруари, освен во сезоната 2016/2017, кога врвот на инфлуенца е евидентиран во декември месец, во 51 и 52 недела. Сезоните на грип се разликуваат по типот и подтипот на инфлуенца вирусите во секоја нова сезона, како и нивното влијание врз бројот на заболени и починатите. Светската здравствена организација (СЗО) има водич за номенклатура на инфлуенца вирусите. (6)

ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Да се прикаже состојбата со инфлуенца во период од 2009 до 2019 година во Република Северна Македонија, бројот на регистрирани заболени и смртни случаи, како и присуството на типовите и

подтиповите на вирусите кои циркулирале во овој период, докажано со помош на молекуларна метода RT-PCR.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Анализирани се и прикажани резултатите добиени од годишни извештаи за следење на заразните болести (4) од Институтот за јавно здравје, во Република Северна Македонија, анализите од дијагностичките лаборатории и пријавените изолати во Институтот за јавно здравје во Република Северна Македонија.(4). За микробиолошка дијагностика на инфлуенца вирусите се користени следните методи: пнеумослајд, PCR, RT-PCR ELISA (2), имуно-хроматографски метод, IIF, и DIF(2).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

До сезоната на пандемија од **2009** година, има ограничени податоци за видовите и подтиповите на циркулирачките вируси на грип во Република Северна Македонија. Со воведувањето на RT-PCR откривање на вирусот на инфлуенца во реално време за прв пат во 2009 година, воспоставен е континуиран и сигурен лабораториски надзор на инфлуенца вирусите. Во 1556 примероци е потврдено присуство на инфлуенца АН1 N1. Најмногу заболени се лица од 5 до 14 и од 15 до 65 возрастна група, само 1,9% биле инфицирани со вирусот инфлуенца А /H1N1 од возрастната група над 65 години.

Во сезоната **2009/2010** пријавени се вкупно 23.954 случаи со инфлуенца/заболувања слични на инфлуенца, За време на пандемиската инфлуенца починати од инфлуенца вкупно се 30 случаи, од возрастната група 0-4 години еден смртен случај, во возрастната група од 15 – 64 се 21 смртен случај и во возрастната група над 65 години 8 починати.

Сезоната на грип **2010/2011** започна на крајот на декември, со вирус на Influenza B, како што се очекуваше, имајќи го предвид развојот на имунитетот против Influenza A / H1N1pdm како резултат на инциденцата на болеста, вакцинација за време на сезоната на пандемија и намален имунитет за Influenza B. Во лабораторијата за вирусологија и молекуларна дијагностика во Институт за Јавно Здравје, примени се вкупно 349 примероци за лабораториско тестирање. Број на позитивни примероци беа 124 (35,5%). Influenza A – 85 (65,5%), Influenza A/H1N1pdm – 71 (12,5%), Influenza A/H3N2 – 5 (5,9%) и Influenza B – 39 (31,5).

Во сезоната **2011/2012** циркулираше вирусот Influenza A/H3N2. Микробиолошките лаборатории на Јавните и Приватните здравствени установи, пријавија вкупно 397 изолати, докажани со пнеумослајд вкупно 323 од кој 270 (68,0%) Influenza A, 53 (13,4%) Influenza B. Имуно-хроматографски докажани позитивни примероци беа вкупно 30 - Influenza A или 7,6% од лабораториските примероци. Со PCR и RT-PCR позитивни примероци беа 44 (11,1%), Influenza A и Influenza A (H3N2), кој циркулираа во сезоната 2011/2012 година. Во Институт за Јавно Здравје, примени беа вкупно 160 примероци за лабораториско тестирање. Позитивни примероци беа 61 (38,1%). Најголем број на изолати имаше со Influenza A/H3N2 – 52 (85,4%). Пријавени беа вкупно 9.732 случаи на заболени од инфлуенца, со инциденца е 477,3/100.000 жители.

Во сезоната **2012/2013**, пријавени се вкупно 24.524 случаи на заболени од инфлуенца, кумулативната инциденца беше 1.185,2/100.000 жители. Сезоната на грип започна на почетокот на јануари со Influenza A/H3N2 проследен и со доминантниот Influenza A/H1N1pdm. Во најголем процент на позитивни примероци 70 (72,9%) изолиран е Influenza A/H1N1pdm. Пријавени се 1051 изолат, од применетите PCR методи најголем број се докажани A/H1N1pdm, 48 (4,6%).

Сезоната на грип **2013/2014** во Република Македонија и во регионот според СЗО започна подоцна од претходните сезони, со голема доминација на Influenza A, наспроти Influenza B. Influenza A/H3N2 доминира над Influenza A/H1N1pdm. Во ИЈЗ-лабораторијата за вирусологија и молекуларна дијагностика, примени се вкупно 206 примероци за лабораториско тестирање. Број на позитивни примероци е 108 (52,4%). Influenza A – 96 (12,5%), Influenza A/H1N1pdm – 12 (12,5%), Influenza A/H3N2 – 34 (35,4%) и Influenza B – 12 (11,1%). Од вкупно 519 пристигнати изолирани и докажани примероци во микробиолошките лаборатории, со пнеумослајд се докажани 428 примероци, од нив Influenza A се 161 (31%) и Influenza B 267(51,4%). PCR и RT-PCR вкупно се изолирани 85, од нив Influenza A 43 (8,3%), Influenza A (H1) 12 (2,3%), Influenza A (H1N1) – 5 (1,0%), Influenza A (H3) – 17 (3,3%) и Influenza B – 8 (1,5%). Со ELISA методат само 1 примерок е позитивен на Influenza A. Имуно-хроматографски метод има позитивни примероци 5 (1,0%) со Influenza A. Пријавени се вкупно 29.074 случаи со грип/заболувањаслични на грип, кумулативната инциденца е 1.415,4/100.000 жители.

Вкупниот број на заболени од инфлуенца во во сезоната **2014/2015** изнесува 33.228 лица (МБ 1.608,5/100.000). Во ИЈЗ вирусолошката лабораторија пристигнати се 112 примероци од рутинскиот надзор. Од нив, 16 материјали или 34,8% се Influenza A (6 – А/Н3N2, 3 - А/Н1N1, 7 - нетипизирани), а 30 материјали

се Influenza B (65,2%). Пријави за изолиран и докажан причинител на инфлуенца во оваа сезона се вкупно 284 пријави, докажани со пнеумослајд вкупно 249, Имуно-хроматографски -35 (14,1%) и PCR и RT-PCR позитивни примероци се 65 (26,2%) и пнеумослајд 139 (56%). (5)

Во текот на сезоната **2015/2016**, во Вирусолошката лабораторија на ИЈЗ анализирани се вкупно 112 хумани материјали. Од позитивните, 18 материјали се Influenza A (54,6%), а кај 15 е докажано присуство на Influenza B вирусот (45,4%). Од Influenza A позитивните, 10 материјали (55,6%) се Influenza A/H1N1pdm, еден материјал (5,6%) е конфирмиран како Influenza A/H3N2, а 7 (38,9%) се нетипизирани Influenza A вируси. Од 15 тестирани Influenza B вируси, кај 12 е детектиран субтипот Victoria. Од детектираните Influenza A вируси, најголем дел од отпаѓаат на поттипот A(H1N1)pdm09. Пријавени се вкупно 29.094 случаи со инфлуенца/заболувања слични на инфлуенца, кумулативната инциденца е 1.406,1/100.000 жители. Изолати во оваа сезона пријавени се 284 пријави, докажани со пнеумослајд вкупно 192, Имуно-хроматографски -76 (39,6%) и PCR и RT-PCR позитивни примероци се 40 (20,8%). (5)

Во сезоната **2016/2017**, пријавени се вкупно 35.079 случаи со инфлуенца/ заболувања слични на инфлуенца, со кумулативната инциденца 1.695,3/100.000 жители. Во Вирусолошката лабораторија на ИЈЗ анализирани се вкупно 172 хумани материјали, од кои 64 или 37,2% биле позитивни на инфлуенца-вирусот. Од вкупниот број на пристигнати материјали, 90 се од рутинскиот надзор. Од позитивните, 62 материјали се Influenza A (96,9%), а кај 2 е докажано присуство на Influenza B вирусот (3,1%). Од Influenza A позитивните, 60 материјали (96,8%) се Influenza A/H3, а 2 (3,2%) се нетипизирани Influenza A вируси. Од двата докажани Influenza тип B вируси, еден припаѓа на линијата Victoria. Изолати во оваа сезона пријавени се 147, докажани со пнеумослајд вкупно 44 (29,9%), Имуно-хроматографски - 2 (1,4%) и PCR и RT-PCR позитивни примероци се 101 (68,7%). (5)

Во сезоната **2017/2018**, пријавени се вкупно 23.954 случаи со инфлуенца/ заболувања слични на инфлуенца, а кумулативната инциденца е 1.157,7/100.000 жители. во Вирусолошката лабораторија на ИЈЗ анализирани се вкупно 482 хумани материјали, од кои 242 или 50,2% биле позитивни на инфлуенца-вирусот. Од Influenza A позитивните, 60 (80,0%) се Influenza A(H1N1) pdm09, а 15 (20,0%) се нетипизирани Influenza A вируси. Пријавени се 417 изолирани и докажани примероци, пнеумослајд 105 (25,5%) и RT-PCR изолати 312 (4,8%). (5)

Од почетокот на сезоната **2018/2019**, во лабораторијата за вирусологија и молекуларна дијагностика при ИЈЗ, пристигнати се вкупно 853 биолошки материјали. Од пристигнатите материјали, 433 (50,8%) се позитивни за присуство на вирусот на инфлуенца, сите типизирани како Influenza A. Според субтипот, 324 (74,8%) се Influenza A(H1)pdm, 57 (13,2%) се Influenza A(H3), а 52 (12,0%) се Influenza A не-суптипизирани. Изолати во оваа сезона пријавени се 643, докажани со пнеумослајд вкупно 164 (2,%) и PCR и RT-PCR позитивни примероци се 479 (74,5%). Пријавени се вкупно 21.404 случаи со инфлуенца / заболувања слични на инфлуенца, а кумулативната инциденца е 1.034,4/100.000 жители, починати се 29 лица. Бројот на починати лица во сезоната 2018/2019 е како во сезоната на пандемскиот грип 2009/2010 година, кога починаа 30 лица, при значително помал број на заболени. (5).

ЗАКЛУЧОК

Инфлуенцата претставува актуелен, глобален, јавно здравствен проблем. Појавата на нов сој на инфлуенца во хуманата популација може да биде за причина за епидемија или пандемија. Оттука произлегува важноста од навремена дијагностика на нов суб тип на инфлуенца вирус, што може да се направи со систем на лабораториско следење на типовите и суб типовите кои циркулираат во популацијата на одредено подрачје, како и следење на нивните мутации. Ова следење овозможува развој на нов тип на вакцина кој ќе се употреби за вакцинација на наслението во светски рамки за ревакцина на лица со висок ризик, со добро одреден суп тип на инфлуенца. Континуираното епидемиолошко и вирусолошко следење на инфлуенцата обезбедува корисни информации за интензитетот на активноста на инфекциите, како и имплементација на соодветни, брзи и навремени интервенции, превентивни мерки и контрола на епидемиолошката состојба во земјата, со цел на намалување на морбидитетот и морталитетот. Врз основа на оваа цел, епидемиолошкото и вирусолошкото следење на инфлуенца вирусите се неопходни активности, се спроведува секоја година и мора да се цел на континуирано следење и размена на информации на светско ниво. Врз основа на спроведените анализи за детекција на Influenza A и Influenza B вирусите, се користат молекуларните методи како што се PCR, RT-PCR и rVrt-PCR. Исто така и серолошките методи како што се пнеумослајд, ELISA, имуно-хроматографски метод, ИФи DIF се користат во дијагностика на инфлуенца вирусите. Која метода ќе се користи, зависи од потребата, можностите и барањето. Секоја метода има свој позитивни и негативни страни.

ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРАТА

Taubenberger J.K., Kash J.C. (2010) Influenza virus evolution, host adaptation and pandemic formation. *Cell Host Microbe* 7(6):440-451.

WHO: A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a WHO Memorandum**Bull. WHO* 1980; 58:585-591.

Талески В. (2016). Медицинска микробиологија и паразитологија (практикум), Универзитет “Гоце Делчев” Штип, Факултет за медицински науки.

Лабораториска дијагноза и следење на инфлуенца вирусите во Република Македонија-Проспективна студија за следење на три методи, Голубинка Бошевска (2017 Прага).

Закон за здравствената заштита („Службен весник на Република Македонија“број 145/12; 43/12, 10/15,61/15).

Кузмановска Г., Ставридис К., Кочински Д., Столевска Р., Цветановска Ж., Карацовски Ж. Институт за јавно здравје Скопје. Движењето на Influenza во Р.Македонија; (2015, 2016, 2017, 2018, 2019<http://www.Iph.mk>)