

PTIČJI GRIP (AVIAN INFLUENZA)

Ilić Milena

Medicinski fakultet, Univerzitet u Kragujevcu

Prvi slučajevi infekcije virusom ptičjeg gripa (H5N1) kod ljudi zabeleženi su 1997. godine u Guangdongu, Kina (1). Veći broj obolelih od influence, čiji je uzročnik virus H5N1, počeo se beležiti u Jugoistočnoj Aziji sredinom 2003. godine. Do sada, devet zemalja je prijavilo ukupno 205 laboratorijski potvrđenih slučajeva infekcije ljudi prouzrokovanih virusom ptičjeg gripa H5N1: Vijetnam, Tajland, Kambodža, Indonezija, Kina, Turska, Irak, Azerbejdžan i Egipat (1). Do aprila 2006. godine od ptičjeg gripa umrlo je ukupno 113 osoba (1).

Za sada, H5N1 virus avijarne influence uzrokuje predominantno bolest ptica. Prvo registrovano masovnije oboljevanje ljudi od gripa prouzrokovano virusom H5N1, u Guangdongu 1997. godine, kada je 18 osoba, obolelo a 6 umrlo, poklopilo se sa masovnim oboljevanjem živine usled infekcije visoko patogenim H5N1 virusom avijarne influence na živinskim farmama i pijacama (1, 2). Smatra se da je do oboljevanja ljudi došlo usled direktnog kontakta sa zaraženom živinom. Nije bilo jasnih dokaza za interhumano širenje virusa. Do prekida širenja infekcije došlo je zahvaljujući brzom uništenju (u toku samo tri dana) čitave živinske populacije u Hong Kongu - procenjeno je da je u tom postupku uništeno oko 1,5 milion ptica. Smatra se da se virus ptičjeg gripa proširio na zemlje u okruženju preko pernate živine, trgovinom živinskim proizvodima, putem borbe petlova, kao i zahvaljujući odsustvu biosigurnosnih mera na živinarskim farmama.

VIRUS PTIČJEG GRIPA

Virus ptičjeg gripa je RNK virus, iz porodice Orthomyxoviridae, tipa A. Postoje dva podtipa virusa ptičjeg gripa: slabo patogen (LPAI- *low pathogenic avian influenza*) i vrlo patogen (HPAI - *highly pathogenic avian influenza*) (3). Glavne antigenetske determinante virusa gripa su hemaglutin (H) i neuraminidaza (N), transmembranski glikoproteini. Na osnovu antigenosti ovih glikoproteina, virusi gripa su danas razvrstani na 16 H (od H1 do H16) i na 9 N (od N1 do N9) podtipova. Jedan od sojeva virusa ptičjeg gripa prethodnika sadašnjih epizootija H5N1 azijske linije, izolovan je iz guske u kineskoj provinciji Guangdong: označen je sa A/goose/Guangdong/1/96 (H5N1). Izolat koji potiče od prvog potvrđenog slučaja kod ljudi u azijskoj liniji zaražavanja sa H5N1 iz Hong Konga, označava se sa: A/HK/156/97 (H5N1).

Virusi influence su visoko specifični virusi, koji inficiraju određene vrste (čoveka, ptice, svinje, konje, foke), pri čemu ostaju postojani u datoj vrsti, i samo retko uzrokuju infekciju drugih vrsta.

Ukoliko su napadnute antigenske determinante za membranske glikoproteine H i N, ovaj postupni proces naziva se *antigenski drift* (mala antigenska promena) (4). *Antigenski shift* (velika antigenska promena) označava iznenadno i suštinsko menjanje antigenskih determinanti, tj. menjanje H i/ili N podtipa unutar jednog ciklusa replikacije, što se najčešće događa u ćeliji koja je istovremeno zaražena sa dva ili više podtipova virusa gripa. Raspodela repliciranih virusnih genomskih segmenata u buduće virusno potomstvo javlja se nazavisno od podtipa virusa svakog segmenta, tako da je potomstvo kompetentno za replikacije i nosi genetske informacije različitih roditeljskih virusa (5).

Od svih influenza virusa koji cirkulišu kod ptica, H5N1 virus predstavlja najveću opasnost za čoveka iz dva razloga: H5N1 virus je do sada uzrokovao daleko najveći broj slučajeva oboljevanja kod ljudi u obliku teške kliničke slike i sa velikom smrtnošću, i virus H5N1 ima potencijala da razvije karakteristike koje su potrebne za početak sledeće pandemije influence.

POREKLO VIRUSA PTIČJEG GRIPA

U prirodnim rezervoarima domaćini virusa ptičjeg gripa su divlje vodene ptice. Kod prirodnih domaćina virusi postoje u evolucionoj stazi, što ukazuje da je povezanost gripa sa pticama stara. Zaraza kod divljih ptica protiče bez ikakvih simptoma, sve dok biotipovi virusa gripa niske patogenosti koegzistiraju u skoro potpunog ravnoteži sa svojim domaćinima (3, 5). Kada se niskopatogeni sojevi virusa ptičjeg gripa - LPAIV prenesu iz svojih domaćina - rezervoara na jako osetljive vrste živine, kod njih prouzrokuju pojavu blagih simptoma. Posle prenošenja u novog domaćina, bilo kod ptica ili sisara, virusi gripa prolaze brzu evoluciju: kod ovih sojeva dolazi do pojave mutacionih promena koje rezultiraju nastajanjem adaptacije - prilagođavanja na nove domaćine. Virus gripa A, podtipovi H5 i H7, ne samo da prolaze kroz fazu adaptacije nego imaju i sposobnost skokovitog prelaza u visokopatogeni oblik - HPAIV, koji uzrokuju insercione mutacije. Kod živine infekciju virusom HPAI karakteriše iznenadni početak bolesti, težak tok i smrtnost koja je kod osetljivih vrsta blizu 100%.

Kada jednom kod domaće živine nastanu fenotipovi HPAIV, oni imaju sposobnost da se prenose horizontalno sa živine nazad na populaciju divljih ptica. Osetljivost divljih ptica na oboljevanje koje uzrokuje HPAIV je vrlo različita i varira od vrste do vrste, u zavisnosti od starosti i od soja virusa. Početkom 2005. godine to se iz osnova promenilo kada je došlo do pojave velike epizootije kod hiljada divjih ptica u prirodnom rezervatu na jezeru Quinhgai na severozapadu Kine, koja je povezana sa azijskim rodnom H5N1- HPAI (6). Visokopatogene oblike ptičjeg gripa su do sada prouzrokovali samo virusi gripa podtipova H5 i H7. Tokom poslednjih 50 godina bile su zabeležene samo 24 primarne epizootije, koje je prouzrokovao HPAI. Virus HPAI je neočekivano probio međuklasne barijere kada se sa ptica preneo na sisare (mačke, svinje, ljude) (2, 6).

PRENOŠENJE VIRUSA MEĐU PTICAMA

U sredinama gdje postoji veliki broj zaraženih ptica, virusi ptičjeg gripa se brzo prenose sa farme na farmu kretanjem živih ptica, ljudi, kontaminiranim vozilima, opremom, hranom. Virus ptičjeg gripa imaju iznenađujuću sposobnost da u spoljašnjoj sredini očuvaju zaraznost, posebno u površinskim vodama (2). Virus suspendovani u vodi su zaraznost sačuvali više od 100 dana na temperaturi od 17°C. Na temperaturi od -50°C je moguće virus čuvati beskonačno. Najnovija istraživanja pružaju dokaze da su virusi ptičjeg gripa u palearktičkim predelima zaštićeni u smrznutoj vodi jezera u toku zime bez prisustva njihovih prirodnih migracionih domaćina (7). Posle povratka zbog razmnožavanja, u narednoj sezoni, ptice ili njihovi naslednici, ponovo se zaraze virusima, koji se slučajno oslobađaju iz odmrznute vode. Pretpostavlja se da se virusi gripa u ledu očuvaju tokom dugih perioda, i da iz tih rezervoara stari virusi i genotipovi mogu da se recikliraju (7). Pored toga, u epizootiji u Holandiji (2003) i u Kanadi (2004) uzeto je u obzir i aerogeno prenošenje (7).

Većina epizootija bile su geografski ograničene; istovremena pojava epizootija kod domaće živine zabeležena je u više država jugoistočne Azije. Opisano je više različitih genotipova roda H5N1 (3). Takozvani genotip "Z" je dominirao u epizootijama od decembra 2003. godine (3, 8). Kada su prvi put prijavljene epizootije H5N1 u leto i u jesen 2005. u geografski susednoj Mongoliji, Kazahstanu i u južnom Sibiru, posumnjalo se na ptice selice. Naredne epizootije se krajem 2005. pojavljuju duž i između migratornih puteva iz unutrašnje Azije u smeru srednjeg Istoka i Afrike; zahvatile su Tursku, Rumuniju, Hrvatsku i poluostrvo Krim 2005. Stvarni status H5N1 u populacijama divljih vodenih ptica i njihova uloga u

širenju zaraze ostaje za sada tajna. Danas je moguće samo hipotetisati o tome da li su divlje vodene ptice sposobne da nose virus na velike razdaljine, tokom inkubacionog perioda i da li stvarno neke vrste ostaju mobilne, uprkos zaraženosti sa H5N1. U međuvremenu su ispitivanja u Kini pokazala prisutnost većeg broja genotipova azijskoga roda virusa H5N1 kod 3 vrapca (3, 4). Simptome zaraze nisu pokazivali vrapci iz kojih je virus izolovan. To ukazuje na još jedan korak pogoršanja situacije: vrapci su zbog svojih životnih navika idealni posrednici između divljih ptica i domaće živine i mogu u tim populacijama da prenose HPAI viruse.

PRENOŠENJE NA SISARE

Virusi ptičjeg gripa su u više prilika prouzrokovali infekciju različitih vrsta sisara. Svinje su posebno često bile uključene u ove "interklasne transverzije": H1N1 u Evropi (7), u SAD trostruko reasortirani (H3N2) (7). Prirodna infekcija sa H5N1 bila je opisana kod tigrova i drugih velikih mačaka u zooškom vrtu u Tajlandu, jer su ove životinje hranili leševima živine koja je bila zaražena virusom (7). Pored direktnog prenošenja, kod sisara je značajan i indirektni način prenošenja preko vode koja je kontaminirana virusima i preko predmeta.

PRENOŠENJE NA LJUDE

Imajući u vidu činjenicu da su u Jugoistočnoj Aziji virusu HPAIV H5N1 potencijalno eksponirani milioni ljudi, realni broj dokumentovano obolelih ljudi je mali, iako poslednjih godina raste. Rizik direktnog prenošenja virusa H5N1 sa ptica na čoveka izgleda da je najveći kod lica koja su u bliskom kontaktu sa živom zaraženom živinom ili sa predmetima koji su kontaminirani izlučevinama zaražene živine. Rizik od zaražavanja je najveći pri klanju, čišćenju perja, rezanju na komade i pri pripremanju živine za kuvanje (2). Prisutnost azijskog roda virusa HPAI H5N1 bila je utvrđena u telima uginulih ptica u svim tkivima, uključujući i meso. SZO kao opšte pravilo preporučuje temeljitu termičku obradu mesa tako da je meso u svim unutrašnjim delovima zagrejano na temperaturi od 70°C (2). U nekoliko slučajeva došlo je do infekcije dece koja su se igrala na području gdje su se kretale ptice i koje je bilo kontaminirano njihovim fecesom. Kupanje u vodi koja može biti kontaminirana leševima mrtvih zaraženih ptica, ili fecesom ptica, može predstavljati mogući način zaraze.

Povećanjem broja inficiranih ljudi povećava se i verovatnoća da će oni, ukoliko su u isto vreme inficirani i humanim i ptičjim sojevima, postati posrednik u stvaranju novog podtipa koji će omogućiti lakšu transmisiju sa čoveka na čoveka. Ovakav događaj označio bi početak pandemije.

Mogućnost višestruke izloženosti virusu pravi teškoću preciznijem definisanju inkubacionog perioda. Sadašnja preporuka Svetske zdravstvene organizacije je da se koristi inkubacioni period od 7 dana prilikom terenskog istraživanja i zdravstvenog nadzora osoba koje su imale kontakt sa obolelim. Sadašnji podaci govore da inkubacioni period za H5N1 može biti od 2 do 8 dana, a moguće i do 17 dana (2, 9). Grupisanje obolelih u populaciji prethodno zdrave dece i mladih odraslih osoba za sada ostaje bez jasnog objašnjenja (1).

RIZIK ZA NASTANAK PANDEMIJE

Za otpočinjanje nove pandemije gripa potrebno je da se ispune tri uslova:

- pojava nove generacije virusa gripa koji se do sada nije pojavljivao u populaciji ljudi;
- mogućnost transmisije na čoveka;
- laka interhumana transmisija.

Za sada virus ptičjeg gripa H5N1 ispunjava samo dva uslova: to je novi podtip za većinu humane populacije i zarazio je i prouzrokovao težak oblik oboljenja i visoki letalitet kod više od 200 lica. Kod većine ljudi ne postoji imunitet protiv virusa sličnih H5N1.

Najnovije studije ukazuju da se sve ove godine virulentnost H5N1 za sisare povećala i da se raširio lanac domaćina:

- H5N1 virusi izolovani iz prividno zdravih domaćih patki u Kini od 1999. do 2002., i u Vijetnamu od 2003. godine su progresivno postajali više patogeni za sisare (6);
- H5N1 je proširio lanac svojih domaćina, sada na prirodan način može da zarazi i da ubije pojedine sisare (mačka, tigar), za koje je pre važno da su otporni na zarazu virusima ptičjeg gripa (2).

In vitro je već dokazano da dve istovremene razmene amino kiselina na krajevima za receptore u H proteinu azijskog roda HPAIV H5N1 (Q226L i G228S) omogućavaju povezivanje za humane receptore tipa 2-6, kao što je to kod drugih virusa gripa A koji su adaptirani na čoveka (10). Gambaryan i sar. (11) su identifikovali 2 izolata kod ljudi (otac i sin zaraženi sa H5N1 u Hong Kongu 2003.god.) koji su, za razliku od svih ostalih izolata H5N1, koji su bili izolovani kod ljudi i kod ptica, pokazali veći afinitet za receptore 2-6 zbog jedinstvene mutacije S227N na HA1 receptorskom kraju.

Od prve izolacije kod čoveka 1997. godine virus ptičjeg gripa H5N1 nije napravio poslednji korak ka pandemičnosti za humane domaćine. Nadzor nad ptičjim gripom predstavlja osnovnu meru prevencije. U cilju nadzora Svetska zdravstvena organizacija

preporučuje sledeće kriterijume za definiciju slučaja ptičjeg gripa (2).

DEFINICIJA SUMNJE NA PTIČJI GRIP KOD LJUDI

Akutno obolela osoba kod koje su prisutni simptomi od strane donjih respiratornih puteva (kašalj, otežano disanje i dr.) sa povišenom telesnom temperaturom ($>38^{\circ}\text{C}$), praćene drugim kliničkim manifestacijama (konjunktivitis, dijarealne tegobe i sl.) koji su se javili u periodu od 7 dana od kada je zabeležen:

- Blizak kontakt (do 1m) sa osobom (npr. negom, govorom, dodirrom) koja je suspekt, verovatan ili potvrđen slučaj H5N1;
- Izloženost (npr. rukovanje, klanje, čerupanje, prerada) živini ili divljim pticama ili njihovim ostacima ili sredini kontaminiranoj njihovim fecesom u području gde postoji sumnja ili je potvrđena infekcija H5N1 virusom kod životinja, ili ljudi tokom prethodnog meseca;
- Konsumacija sirovih ili nedovoljno termički obrađenih živinskih proizvoda u području gde postoji sumnja, ili je potvrđena infekcija H5N1 virusom kod životinja, ili ljudi tokom prethodnog meseca;
- Blizak kontakt sa drugom životinjom kod koje je potvrđena H5N1 infekcija, osim sa živinom ili divljim pticama (npr. mačka ili svinja);
- Rukovanje uzorcima (animalnim ili humanim) suspektim na H5N1 virus u laboratoriji ili drugim mestima.

Verovatan H5N1 slučaj

Definicija 1:

Osoba ispunjava kriterijume za suspektan slučaj *i* jedan od sledećih dodatnih kriterijuma:

- infiltrati ili dokaz za akutnu pneumoniju radiografijom pluća plus dokaz respiratorne slabosti (hipoksemija, teška tahipneja) *ili*
- pozitivan laboratorijski test na infekciju influenza A virusom, ali nedovoljan laboratorijski dokaz za H5N1 infekciju.

Definicija 2:

Slučaj smrti usled neobjašnjene akutne respiratorne bolesti, epidemiološki povezan prema vremenu, mestu i izloženosti sa verovatnim ili potvrđenim H5N1 slučajem.

Potvrđeni H5N1 slučaj

Osoba ispunjava kriterijume za suspektan ili verovatan slučaj *i* jedan od sledećih pozitivnih testova sprovedenih u nacionalnoj, regionalnoj ili internacionalnoj laboratoriji za influenzu, a čiji je rezultat H5N1 testa prihvaćen od strane SZO kao potvrđen:

- Izolacija H5N1 virusa;
- Pozitivna polimeraza lančana reakcija (PCR) na H5 pomoću dva različita testa (influenza A i H5);
- Četvorostruki ili veći porast titra neutralizirajućih antitela na H5N1 u parnim uzorcima seruma (akutnom - uzetom do 7-og dana od početka bolesti, i rekonvalescentnom). U rekonvalescentnom serumu titar neutralizirajućih antitela mora iznositi 1:80 ili više;

d. U serumu uzetom 14 ili više dana posle ispoljavanja simptoma mikroneutralizacijom dobijen H5N1 titar iznosi 1.80 ili više, i pozitivan rezultat drugog serološkog testa (npr. titar 1:160 ili više za test inhibicije hemaglutinacije konjskih eritrocita ili pozitivan rezultat na H5-specifičan western-blot test).

LITERATURA:

1. Epidemiology of WHO-confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) infection. *Weekly epidemiological record* 2006, 81, 249-260.
2. WHO. Confirmed human cases of influenza A (H5N1). www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/case_definition2006_08_29/en/index.html accessed 29/08/06
3. Webster RG, Peiris M, Chen H, Guan Y. H5N1 Outbreaks and Enzootic Influenza. *Emerg Infect Dis* 2006, 12 (1);3-8.
4. Ferguson NM, Fraser C, Donnelly CA, Ghani AC, Anderson RM. Public health risk from the avian H5N1 influenza epidemic. *Science* 2004;304:968-9.
5. Webster RG. Wet markets-a continuing source of severe acute respiratory syndrome and influenza? *Lancet* 2004;363:234-6.
6. Chen H, Smith GJD, Zhang SY, Oin K, Wang J, Li KS, Webster RG, Peiris JSM, Guan Y. H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl: *Nature online*, 2005, <http://www.nature.com/nature/journal/vaop/ncurrent/full/nature03974.html>, accessed 07/06/05
7. Hardner TC, Werner O. Avian influenza. *Influenza report: www.influenzareport.com/ir/ai.htm*
8. Li KS, Guan Y, Wang J, Smith GJ, Xu KM, Duan L, Rahardjo AP, Puthavathana P, Buranathai C, Nguyen TD, Estoepongastie AT, Chaisingh A, Auewarakul P, Long HT, Hanh NT, Webby RJ, Poon LL, Chen H, Shortridge KF, Yuen KY, Webster RG, Peiris JS. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 2004;430:209-213.
9. The Writing Committee of the World Health Organization (WHO) Consultation on Human Influenza A/H5. Avian Influenza A (H5N1) Infection in Humans. *N Engl J Med* 2005, 353:1374-1385.
10. Harvey R, Martin AC, Zambon M, Barclay WS. Restrictions to the adaptation of influenza a virus h5 hemagglutinin to the human host. *J Virol* 2004; 78: 502-7.
11. Gambaryan A, Tuzikov A, Pazynina G, Bovin N, Balish A, Klimov A. Evolution of the receptor binding phenotype of influenza A (H5) viruses. *Virology* 2006;344:432-8.