

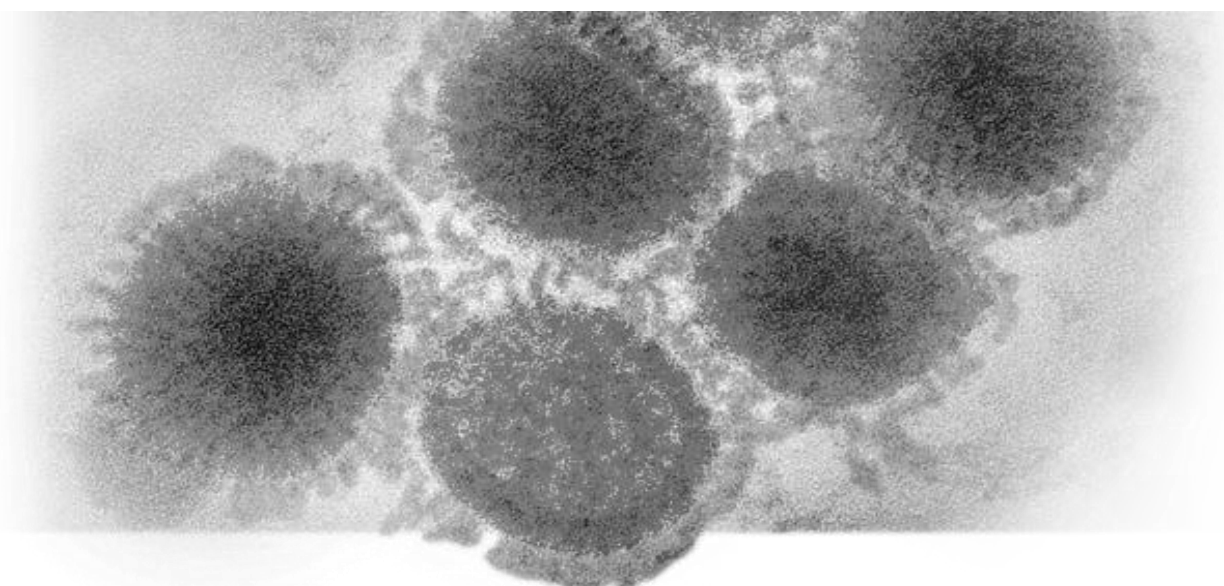


HZJZ

Referentni centar Ministarstva
zdravstva za virološku dijagnostiku
infekcija dišnog i probavnog sustava



Simpozij:
Virusne infekcije dišnog sustava u kontekstu
"Jednog zdravlja"



PROGRAM I ZBORNIK SAŽETAKA

**Hrvatski zavod za javno zdravstvo
Zagreb, 3. prosinca 2018. godine**

Simpozij:

***Virusne infekcije dišnog sustava u kontekstu
"Jednog zdravlja"***

Hrvatski zavod za javno zdravstvo

Zagreb, 3. prosinca 2018. godine

Organizatori:

*Hrvatski zavod za javno zdravstvo - Referentni centar
Ministarstva zdravstva za virološku dijagnostiku infekcija
dišnog i probavnog sustava*

Hrvatski veterinarski institut

Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Voditelji:

Irena Tabain, Vladimir Savić

Urednici zbornika:

Irena Tabain, Vladimir Savić, Ljubo Barbić

Izdavač:

*Hrvatski zavod za javno zdravstvo
Rockefellerova 7
10000 Zagreb*

PROGRAM SIMPOZIJA

10.00 - 10.30 Registracija sudionika

10.30 - 10.50 Otvaranje simpozija

INFLUENCA U KONTEKSTU "JEDNOG ZDRAVLJA"

Moderator: Vladimir Savić

10.50 - 11.10 **Aktualni sojevi influence ptica i njihov zoonotski potencijal**
Vladimir Savić, Hrvatski veterinarski institut

11.10 - 11.30 **Influenca kućnih ljubimaca - egzotika ili javnozdravstveni izazov?**
Ljubo Barbić, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

11.30 - 11.50 **Influenca u svinja**
Andreja Jungić, Hrvatski veterinarski institut

11.50 - 12.10 **Unaprijeđenje epidemiološkog sustava praćenja gripe**
Goranka Petrović, Hrvatski zavod za javno zdravstvo

12.10 - 12.30 Rasprava

12.30 - 13.00 *Pauza - kava*

VIRUSNE INFEKCIJE DIŠNOG SUSTAVA

Moderator: Irena Tabain

13.00 - 13.20 **Gripa "Bolest velikih brojeva"**
Vladimir Draženović, Hrvatski zavod za javno zdravstvo

13.20 - 13.40 **Kliničko značenje virusnih infekcija dišnog sustava**
Rok Čivljak, Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević"

13.40 - 14.00 **RSV infekcije dišnog sustava**
Srđan Roglić, Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević"

14.00 - 14.20 **Epidemiološke promjene u pojavnosti RSV infekcija**
Irena Tabain, Hrvatski zavod za javno zdravstvo

14.20 - 14.40 **Molekularna epidemiologija virusa iz porodice Pneumoviridae**
Anamarija Slović, Centar za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji Sveučilišta u Zagrebu

14.40 - 15.00 **Rasprava**

15.00 - 16.00 **Zaključci i zatvaranje simpozija**

AKTUALNI SOJEVI INFLUENCE PTICA I NJIHOV ZONOTSKI POTENCIJAL

Vladimir Savić

Hrvatski veterinarski institut, Centar za peradarstvo, Zagreb, Hrvatska

e-mail: v_savic@veinst.hr

Influncu ptica uzrokuju virusi influence tipa A. Divlje ptice vodarice, poglavito one iz reda patkarica (*Anseriformes*) i močvarica (*Charadriiformes*), su prirodni rezervoari ovih virusa. Prijenos ovih virusa s divljih ptica vodarica izravno na ljude gotovo da i nije zabilježen, osim u izdvojenom slučaju u Azerbajdžanu u 2006. kada je infekcija nastupila tijekom čerupanja uginulog labuda koji je bio zaražen virusom podtipa H5N1 podrijetlom iz peradi. Nasuprot tome, ishodišni virusi influence A iz vodarica nakon prilagodbe u drugim domaćinima poput svinje, ali i domaće peradi (npr. kokoš ili puran) mogu zaraziti čovjeka. Do unatrag dva desetljeća svega je u nekoliko navrata zabilježena infekcija ljudi virusima influence ptica i to u pravilu podtipom H7N7. Situacija se dramatično promijenila nakon 1997. kada se u Hong Kongu više osoba koje su bile u dodiru s peradi zarazilo zoonotičnim virusom podtipa H5N1. Ovaj H5N1 virus pripada genskoj lozi A/goose/Guangdong/96-like (GD/96) i tipični je virus domaće peradi, ali je zbog prelijevanja u ekosustav prenesen i na divlje ptice. Virus se 2003. u kratkom razdoblju proširio u peradi u više zemalja Dalekog istoka da bi tijekom 2005.-2006. bio prenesen migracijama divljih ptica u veliki broj zemalja Azije, Europe i Afrike. U određenim područjima Azije i Afrike je postao enzootičan i još uvijek je prisutan u tamošnje peradi uz povremene infekcije ljudi u tim područjima. Od 2003. do 2017. svake godine se bilježe humani slučajevi infekcije virusom podtipa H5N1 kojih je u tom razdoblju bilo 860 od kojih 454 (53%) sa smrtnim ishodom. U 2018. nisu zabilježeni humani slučajevi infekcije virusom H5N1, iako je potvrđen u peradi u Bangladešu, Butanu, Kambodži, Kini, Indiji, Laosu, Maleziji, Nepal, Nigeriji, Obali Bjelokosti i Togu.

Patogenost virusa influence za perad prije svega ovisi o hemaglutininu. Primjerice, od 16 različitih tipova hemaglutinina (H1 do H16) virusa influence ptica, svi visokopatogeni virusi za perad su isključivo tipa H5 ili H7. Evolucijom hemaglutinina virusa A/goose/Guangdong/1/96 (H5N1) uslijed brzog širenja u brojne peradi do sada razlikujemo 10 osnovnih filogenetskih grana/kladona (0 do 9) s brojnim „podgranama“. Hemaglutinin potomaka virusa A/goose/Guangdong/1/96 (H5N1) se također tijekom dva desetljeća presložio s nekoliko tipova neuraminidaza od kojih H5N2, H5N5, H5N6 i H5N8 uspješno cirkuliraju u domaće peradi. Ovo preslagivanje je u virusa loze GD/96 vrlo intenzivno. Tako je primjerice od presloženice GD/96 podtipa H5N8, koja je divljim pticama 2014. proširena iz Azije u Sjevernu Ameriku, tamo nastala lokalna presloženica H5N1 od hemaglutinina koji je genske loze GD/96 i sjevernoameričke neuraminidaze tipa N1. Preslagivanje gena hemaglutinina GD/96 i s drugim segmentima genoma je također vrlo intenzivno. Budući da svojstvo infekcije ljudi virusom influence ptica ne ovisi isključivo o hemaglutininu već i o svim ostalim bjelančevinama ovog virusa, sjevernoamerički virus loze GD/96 podtipa H5N1 nije pokazao svojstvo infekcije ljudi iako je bio visokopatogen za perad. Slično je i s virusom GD/96 podtipa H5N8 filogenetske podgrane 2.3.4.4.b koji

je prouzročio najveću ikad zabilježenu epizootiju tijekom 2016.-2017., a koja je započela s Dalekog Istoka. Ovaj virus, kao i njegova potpopulacija podtipa H5N5, su dokazani i u Hrvatskoj, ali ne pokazuju svojstva infekcije ljudi za razliku od kineskih virusa filogenetske podgrane 2.3.4.4 iz 2008. do 2010. koji su pokazivali svojstvo vezanja za humane receptore i uspješno su se prenosili među zamorčicima. Za razliku od spomenutih kineskih virusa iz 2008. do 2010., recentna azijska presložnica genske loze GD/96 podtipa H5N6 je tijekom 2014.-2016. inficirala više osoba u Kini. Ovaj virus treba razlikovati od europske presložnice iste loze i istog podtipa koja je nastala preslagivanjem hemaglutinina spomenutog virusa podtipa H5N8 filogenetske podgrane 2.3.4.4.b s europskom neuraminidazom podtipa N6. Potonja presložnica je detektirana u više europskih zemalja u protekle dvije godine, mahom u divljih ptica te sporadično u peradi, ali za sada ne pokazuje svojstva inficiranja ljudi.

Tijekom proteklih 5 godina u Kini je inficirano više osoba virusom influence ptica podtipa H7N9. Ovaj zoonotski soj za sada cirkulira isključivo na Dalekom istoku, prije svega u peradi u Kini, iako su virusi podtipa H7N9 rasprostranjeni i u ostalim dijelovima svijeta. Primjerice u Sjevernoj Americi su tijekom 2017. virusi podtipa H7N9 učestalo izdvajani iz divljih ptica i domaće peradi te u jednom slučaju i u Nizozemskoj iz peradi u 2016. Iako kineski, sjevernoamerički i nizozemski virusi dijele isti antigenski podtip, radi se o biološki potpuno različitim virusima s tim da europski i sjevernoamerički virusi za sada nemaju zoonotski potencijal.

Virusi influence ptica podtipa H7N4, srodni zoonotskim virusima podtipa H7N9, također cirkuliraju u peradi i divljim pticama u Kini, Tajlandu i Koreji, a moguće i ostalim zemljama u regiji. Početkom ove godine po prvi put je zabilježen i slučaj humane infekcije ovim podtipom. Slično kao i u slučaju virusa podtipa H7N9, virusi podtipa H7N4 izdvojeni iz divljih ptica u Sjevernoj Americi tijekom 2016. biološki su potpuno različiti od azijskog zoonotskog soja.

Virusi influence A podtipa H9 se vrlo često detektiraju u divljim pticama i peradi, poglavito podtip H9N2 koji predstavlja i značajan zdravstveni problem u peradarstvu mnogih zemalja. Također su dokazane i humane infekcije ovim podtipom virusa. Od prvog slučaja u 1998. do sada je potvrđeno nekoliko desetaka humanih infekcija većinom u južnoj Kini i zemljama jugoistočne Azije. I u slučaju virusa podtipa H9N2 radi se o specifičnom soju koji ima zoonotski potencijal. Zbog velikih gospodarskih gubitaka u peradarstvu uslijed infekcije virusom H9N2, u mnogim zemljama se prakticira cijepljenje peradi protiv ovog podtipa. Nedavnim istraživanjem je otkriveno da virus podtipa H9N2 izdvojen iz cijepljene peradi u Pakistanu posjeduje mutaciju na hemaglutininu koja mu omogućuje izbjegavanje cjepne imunosti. Ista mutacija mu omogućuje i lakše vezanje na humane receptore, ali također i umanjuje svojstvo umnožavanja u stanicama što mu s druge strane umanjuje zoonotski potencijal.

Kao što je spomenuto, humane infekcije virusima influence ptica u pravilu nastupaju nakon dodira sa zaraženom peradi. U Hrvatskoj je virus influence u peradi dokazan u četiri slučaja krajem 2016. i početkom 2017., no radilo se o virusima koji ne pokazuju zoonotski potencijal. S obzirom na nepredvidljivost pojave influence ptica i njeno brzo širenje, potreban je kontinuirani nadzor ovih virusa u divljih ptica i peradi, ali isto tako i testiranje na viruse influence ptica putnika iz zemalja u kojima je influenza prisutna u peradi, a pokazuju simptome bolesti.

INFLUENCA KUĆNIH LJUBIMACA - EGZOTIKA ILI JAVNOZDRAVSTENI IZAZOV?

Ljubo Barbić¹, Vladimir Savić², Vladimir Stevanović¹, Luka Radmanić¹, Tatjana Vilibić-Čavlek^{3,4}, Josip Madić¹

¹Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

²Hrvatski veterinarski institut, Centar za peradarstvo, Zagreb, Hrvatska

³Medicinski fakultet u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

⁴Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

e-mail: ljbarbic@vef.hr

Influenca je stoljećima jedna od najpoznatijih zoonoza. Izvorište svih podtipova virusa influence su vodene ptice, a pojedini podtipovi su se evolucijski prilagodili različitim vrstama domaćina.

Moderno doba donosi mnoge promjene i nove trendove. Jedno od područja sa zabilježenim značajnim razlikama današnje civilizacije u odnosu na prošlo vrijeme je i odnos prema životinjama, posebice kućnim ljubimcima. Danas kućne ljubimce, od kojih su najzastupljeniji psi i mačke, mnogi vlasnici smatraju članom obitelji, te od nekada dvorišno držanih životinja, s određenom namjenom, oni danas borave u kućama i stanovima, odlaze s vlasnicima na putovanja i općenito su u stalnom bliskom kontaktu s ljudima. Ovdje treba istaknuti i promjenu odnosa prema konjima koji su od nekadašnjih radnih životinja danas postali ljubimci. Također sve izraženiji je i trend držanja drugih životinjskih vrsta kao kućnih ljubimaca poput različitih vrsta glodavaca, pitomih vretica ili sve češće gmazova. Upravo ovaj moderni i rastući trend otvara pitanje uloge kućnih ljubimaca u epidemiologiji influence.

Što se tiče općenito domaćih životinja, godinama su znanstvenici smatrali svinje najznačajnijim, a poneki i jedinim, domaćinom u kojima je moguć nastanak novih pandemijskih sojeva virusa influence. Navedeno se temeljilo na prisustvu različitih vrsta staničnih receptora u epitelu svinja, što omogućuje istovremenu infekciju različitim sojevima virusa influenza, vrsno specifičnim za različite domaćine. Rezultat ovakve istovremene infekcije svinja različitim virusima influence, primjerice ptičjim i ljudskim, može biti njihovo gensko preslagivanje tijekom umnažanja te nastanak potpuno novog virusnog soja. Ovako nastali virus je potpuno nov i nepoznatih svojstava te, ukoliko ima sposobnost infekcije ljudi i interhumanog prijenosa, može predstavljati novi pandemijski soj. Iako ova mogućnost i opasnost nedvojbeno postoji i danas, nove spoznaje potvrđuju da ovakvo preslagivanje virusa influence nije moguće samo u svinja nego i nekim drugim životinjskim vrstama.

U konja se influenza opisuje stoljećima, a kroz povijest je često bilježena i povezivana s istovremenim epidemijama u ljudi. Bez obzira na navedeno, od dokaza uzročnika influence konja, podtipova H7N7 i H3N8, nisu pouzdano ustanovljene značajnije infekcije ljudi ovim virusima. Međutim, u nekoliko istraživanja pokusne infekcije ljudi virusima influence konja rezultirale su oboljenjima, a zbog bliskog suživota ljudi i konja, koji su danas u pravilu kućni ljubimci, te općih svojstava uzročnika, zoonotski

potencijal influence konja zasigurno postoji. Ova opasnost je još naglašenija potvrdom međuvrsnog prijenosa virusa influence konja na svinje, magarce, deve, ali i mačke te prije svega pse.

U drugoj polovici prošlog stoljeća u više istraživanja serološki je potvrđena infekcija pasa i mačaka virusom influence. Međutim, zbog znanstvenih istraživanja kojima je dokazana uloga i značaj specifičnosti staničnih receptora za prijemljivost na viruse influence, ova istraživanja su gotovo tri desetljeća potpuno zanemarena. Ponovni znanstveni interes za međuvrtni prijenos influence potaknut je 1997. godine prelaskom virusa H5N1 s ptica na ljude. Nekoliko godina kasnije, dokazuje se da ovaj virus može inficirati pse i mačke te izazvati bolest sa smrtnim ishodom. Navedeno potiče daljnja istraživanja influence u domaćih mesojeda te je 2004. godine potvrđena epizootija bolesti u pasa uzrokovana virusom influence konja podtip H3N8. Ovaj uzročnik se brzo prilagodio na pse te se proširio u populaciji. Tri godine kasnije dokazuje se prelazak ptičjeg virusa influence podtip H3N2 na pse, koji se također prilagođava i nastavlja cirkulirati među psima. Do današnjeg dana dokazane su infekcije pasa s još najmanje pet podtipova virusa influence uključujući i humane sojeve poput pandemijskog H1N1 ili H3N2. Dodatnu zabrinutost izaziva potvrda mogućnosti preslagivanja različitih virusa influence tijekom istovremene infekcije pasa. Slična situacija je i s mačkama u kojih je od prvog dokaza infekcija ptičjim virusom H5N1 do danas dokazana infekcija s još najmanje pet podtipova virusa influence od kojih i virusima influence čovjeka. Uz navedene „klasične“ kućne ljubimce, značajno je istaknuti da je sve češći kućni ljubimac u svijetu pa i Hrvatskoj pitoma vretica. Ova sve zastupljenija vrsta u domaćinstvima je istovremeno desetljećima korištena kao laboratorijski model za istraživanje patogeneze virusa influence s obzirom na izrazitu primljivost.

Potaknuti navedenim novim spoznajama i trendovima, u Hrvatskoj smo načinili serološka istraživanja infekcija pasa, mačaka i pitomih vretica virusom influence. U sva tri istraživanja pretraživani su kućni ljubimci koji borave isključivo u domaćinstvu, a uzorkovanje je provedeno nakon sezone influence u ljudi. Istraživanja su provedena imunoenzimnim testom za dokazivanje specifičnih protutijela za influenza A viruse. Rezultati pretraživanja potvrdili su infekcije u sve tri vrste kućnih ljubimaca. Seroprevalencija u pasa je iznosila 0,9%, mačaka 1,4%, a pitomih vretica čak 17,9%. Dodatna tipizacija načinjena je za serološki pozitivne pse kojom je potvrđeno da su psi zasigurno bili inficirani virusom influence ljudi podtip H3N2 koji je cirkulirao na području Hrvatske u sezoni gripe neposredno prije pretraživanja kućnih ljubimaca.

Početni rezultati istraživanja nedvojbeno potvrđuju infekcije kućnih ljubimaca virusom influence na području Hrvatske i to infekcije humanim sojevima. Osim rizika za njihovo zdravlje, infekcije kućnih ljubimaca zasigurno imaju značaj i u epidemiologiji influence ljudi, a njihova točna uloga i sveukupni rizici moraju biti predmet budućih opsežnijih istraživanja. Samo novim znanstvenim spoznajama, istraživanjima u skladu s inicijativom „Jednog zdravlja“ koje podrazumijeva nadzor infekcija virusima influence različitih životinjskih vrsta, možemo steći nova znanja o epidemiologiji influence u modernom dobu. Navedeno je jedini način smanjenja javnozdravstvenog rizika i opasnost od pojave zoonotskih pandemijskih sojeva influence u budućnosti.

INFLUENCA U SVINJA

Andreja Jungić¹, Vladimir Savić¹, Ljubo Barbić², Josip Madić², Dinko Novosel³, Jelena Prpić¹, Besi Roić¹, Lorena Jemeršić¹, Tatjana Vilibić-Čavlek^{4,5}, Vladimir Draženović⁴

¹ Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

² Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zagreb, Hrvatska

³ Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, Hrvatska

⁴ Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

⁵ Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

e-mail: jungic@veinst.hr

Virusi influence (VI) pripadaju porodici *Orthomyxoviridae* sa segmentiranim RNA genomom. Prema grupno-specifičnom antigenu podijeljeni su na rodove *Influenzavirus* A, B, C i D.

Influenca svinja (IS) je akutna, izrazito kontagiozna virusna zarazna bolest koja se očituje dišnim poremećajima, a uzročnik joj je virus influence tipa A. Bolest nastupa naglo, uz izražen kašalj, dispneju i vrućicu nakon koje uglavnom dolazi do brzog ozdravljenja. U samostalnim infekcijama VIA rijetko nastupa uginuće. U svinja najčešće kruže podtipovi H1N1, H1N2 i H3N2. Podtipovi H1N1 i H3N2 su različita podrijetla, odnosno različite genske i antigenske strukture, a sojevi podtipa H1N2 su genske presloženice spomenutih podtipova.

Svinja posjeduje receptore za ptičje i ljudske viruse influence, a pri istodobnoj infekciji može doći do preslagivanja gena VI i do promjene njihove receptorske specifičnosti. Nije neuobičajeno da više podtipova virusa istodobno kruži u populaciji svinja što rezultira većom mogućnošću preslagivanja gena i tvorbom novih sojeva VI. Povremeno, takvi virusi mogu još jednom prijeći barijeru vrste i prenijeti se na drugog domaćina.

U razdoblju od 2011. do 2016. godine provedeno je istraživanje prisutnosti virusa influence svinja u populaciji svinja u velikim komercijalnim uzgojima i obiteljskim gospodarstvima u Republici Hrvatskoj. Utvrđena seroprevalencija VIS u životinja obuhvaćenih istraživanjem u RH bila je 30,3%, te je vrlo nalik seroprevalenciji na razini europskih zemalja iako se na razini Europe razlikuje po regijama, te čak i po pojedinim uzgojima unutar europskih zemalja. Dokazana su protutijela za podtipove H1N1 nalik ptičjem VI, H1N2 nalik ljudskom VI te podtip H3N2.

Filogenetskom analizom umnoženih odsječaka gena HA i NA izolata VIS iz plućnog tkiva i nazofaringealnih obrisaka dokazana je velika genska sličnost euroazijskim svinjskim linijama VI.

Sposobnost virusa influence da se prilagodi novom domaćinu, uključujući i čovjeka, ukazuje da ima zoonotski potencijal. Stoga ova bolest sve više postaje od naročita značenja za javno zdravstvo što iziskuje potrebu za boljim razumijevanjem njezine epidemiologije.

UNAPRIJEĐENJE EPIDEMIOLOŠKOG SUSTAVA PRAĆENJA GRIPE

Goranka Petrović

Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

e-mail: goranka.petrovic@hzjz.hr

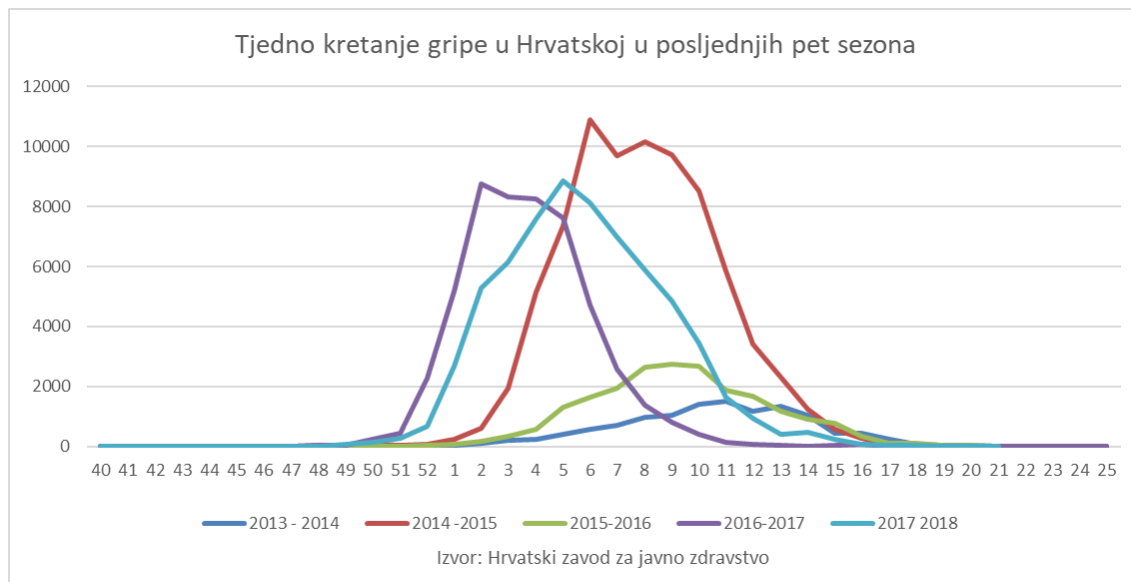
Praćenje gripe predstavlja veliki javnozdravstveni izazov s obzirom na prirodu i nepredvidivost virusa influenze, neprekidne mutacije virusa, vrstu i dominaciju cirkulirajućih virusa influenze tijekom pojedine sezone i različiti udio osjetljive populacije, različiti stupanj učinkovitosti cjepiva protiv gripe s obzirom na dob i druge čimbenike cjepljenog stanovništva (komorbiditeti, prethodni cjepni status i dr), ali i s obzirom na podudaranje sojeva cjepnih virusa sa virusima gripe u cirkulaciji tijekom pojedine sezone, te različitu osjetljivost virusa na antivirusne lijekove.

Upravo zbog toga, sustav praćenja gripe je vrlo kompleksan, zahtijeva praćenje više pokazatelja te u većini slučajeva obuhvaća 4 razine:

1. praćenje broja oboljelih od gripe u primarnoj zdravstvenoj zaštiti (npr. tjedna prijava oboljenja sličnih gripi, ukupni tjedni broj posjeta liječniku, broj izostanaka s radnog mjesta ili iz škole i dr.),
2. praćenje teških i/ili kompliciranih slučajeva gripe (slučajevi laboratorijski potvrđene gripe u bolnicama, SARI slučajevi, JIL prijemi ili sl),
3. praćenje mortaliteta (npr. EuroMOMO) i
4. laboratorijsko praćenje gripe (tjedno praćenje udjela pozitivnih nalaza na virus influenze i vrste cirkulirajućih virusa influenze).

Postojeći epidemiološki sustav praćenja gripe u Hrvatskoj podrazumijeva praćenje kliničke gripe u primarnoj zdravstvenoj zaštiti. Sastoji se od prikupljanja agregiranih tjednih izvještaja o broju oboljelih osoba s kliničkom slikom gripe (tzv. ILI – Influenza Like Illness) prema epidemiološkim područjima.

S obzirom da nema sustavnog sentinel testiranja na gripu unutar primarne zdravstvene zaštite, takvim praćenjem ne može se procijeniti udio gripe u ukupnom broju ILI prijavljenih stanja. Naime, tijekom sezone gripe povećana je učestalost i drugih respiratornih virusa (virus parainfluence, adenovirusi, rinovirusi, koronavirusi, hMPV, RSV) koji izazivaju sličnu kliničku sliku koja zadovoljava definiciju ILI-ja, pa jedan dio tako prijavljenih „gripa“ sasvim sigurno predstavljaju i infekcije drugim respiratornim virusima. Ipak, neovisno o tome, ovakav višedesetljetni metodološki isti način praćenja gripe je vrlo važan i omogućava procjenu dinamike i intenziteta tekuće sezone gripe u odnosu na prethodne sezone (slika 1).



Slika 1. Dinamika kretanja gripe prema epidemiološkim tjednima u posljednjih pet sezona gripe

U svrhu unapređenja postojećeg praćenja gripe testirali smo u suradnji sa stručnjacima ECDC-a aplikaciju MEM (Moving Epidemic Method) sa ciljem procjene epidemijskog praga i kretanja epidemije gripe tijekom sezone. Analizom tjednih ILI podataka za posljednjih pet sezona u Hrvatskoj uz pomoć MEM-a, dobiveni su podaci o epidemijskom pragu (19,68/100 000), prosječnom tjednu početka epidemije (4. epidemiološki tjedan), prosječnom trajanju epidemije (10 tjedana) i udjelu ukupnih ILI prijava obuhvaćenih epidemijom (92,32%). Nadalje, temeljem izračunatih pragova za različiti intenzitet epidemije - srednji (80,12/100 000), visoki (283,67/100 000) i jako visoki (496,04/100 000) – među posljednjih pet sezona samo dvije (2014/2015, 2017/2018) su bile srednjeg, a preostale tri (2013/2014, 2015/2016 i 2016/2017) niskog intenziteta.

U svrhu praćenja teških i kompliciranih slučajeva gripe, koji su nerijetko praćeni smrtnim ishodom, potrebno je uspostaviti bolničko praćenje gripe koje može biti manje ili više složeno: broj bolničkih pacijenata s laboratorijski potvrđenom gripom, broj hospitaliziranih u JIL-u, agregirani ili pojedinačni („case-based“) izvještaji o SARI (eng. Severe Acute Respiratory Infections) slučajevima itd. Stoga će se u Hrvatskoj tijekom sezone 2018/2019 pilotirati SARI praćenje u tri sentinel bolnice (Split, Rijeka i Osijek) tijekom kojeg će se iz svakog sentinela na tjednoj osnovi prikupljati ukupan broj SARI slučajeva, broj SARI slučajeva testiranih na gripu, broj SARI slučajeva pozitivnih na gripu i ukupan broj hospitalizacija u tom tjednu u sentinelu.

GRIPA „BOLEST VELIKIH BROJEVA“

Vladimir Draženović

Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

e-mail: vladimir.drazenovic@hzjz.hr

Četiri milijarde ljudi koje žive u gradovima, više od dvije milijarde ljudi koji godišnje putuju zrakoplovima, bolest koja se prenosi uobičajenim socijalnim kontaktom, aerogeno i visoko kontagiozan virus sklon čestim mutacijama čine gripu bolešću velikih brojeva koja svake godine u cijelom svijetu izaziva epidemije, a jedna je od rijetkih bolesti koja ima i vrlo visoki pandemijski potencijal.

Na širenje gripe, koja je prvenstveno bolest koja se širi kapljičnim putem utječe također brzina transportnih sredstava, tako da je pandemiji iz 1918 trebalo 17 mjeseci da «okruži» svijet, onaj iz 1957-12 mjeseci, iz 1968 - 6 mjeseci a 2009 - za manje od mjesec dana proširila se na sve kontinente. U današnje vrijeme uz brze mogućnosti transporta taj razmak postaje sve kraći i mogućnosti su širenja gotovo trenutne.

Gripa nije obična prehlada, već je to ozbiljna bolest čiji osnovni simptomi – nagli početak, visoka temperatura, groznica, glavobolja, mijalgija-prevladavaju nad onim respiratornim. Gripa je teška akutna infektivna bolest koja ide s temperaturom višom od 38°C, koja kod zdravih ljudi prolazi samoizlječenjem dok kod osoba s imunološkim disbalansom vrlo često dovodi do komplikacija.

Gripa uzrokuje svake godine epidemije u cijelom svijetu, a djeca najčešće obolijevaju. U Hrvatskoj traje od Božića do Uskrsa dakle barem četiri mjeseca odnosno trećinu kalendarske godine.

Inkubacija je manje od 24 sata što izaziva „eksplozivne epidemije“, a jedan oboljeli može zaraziti čak dvanaestero ljudi u urbanim sredinama i zatvorenim prostorima prijevoznih sredstava. Posebice je opasna za starije osobe i djecu što potvrđuje porast broja komplikacija i čak pet puta veći broj hospitalizacija takvih pacijenata

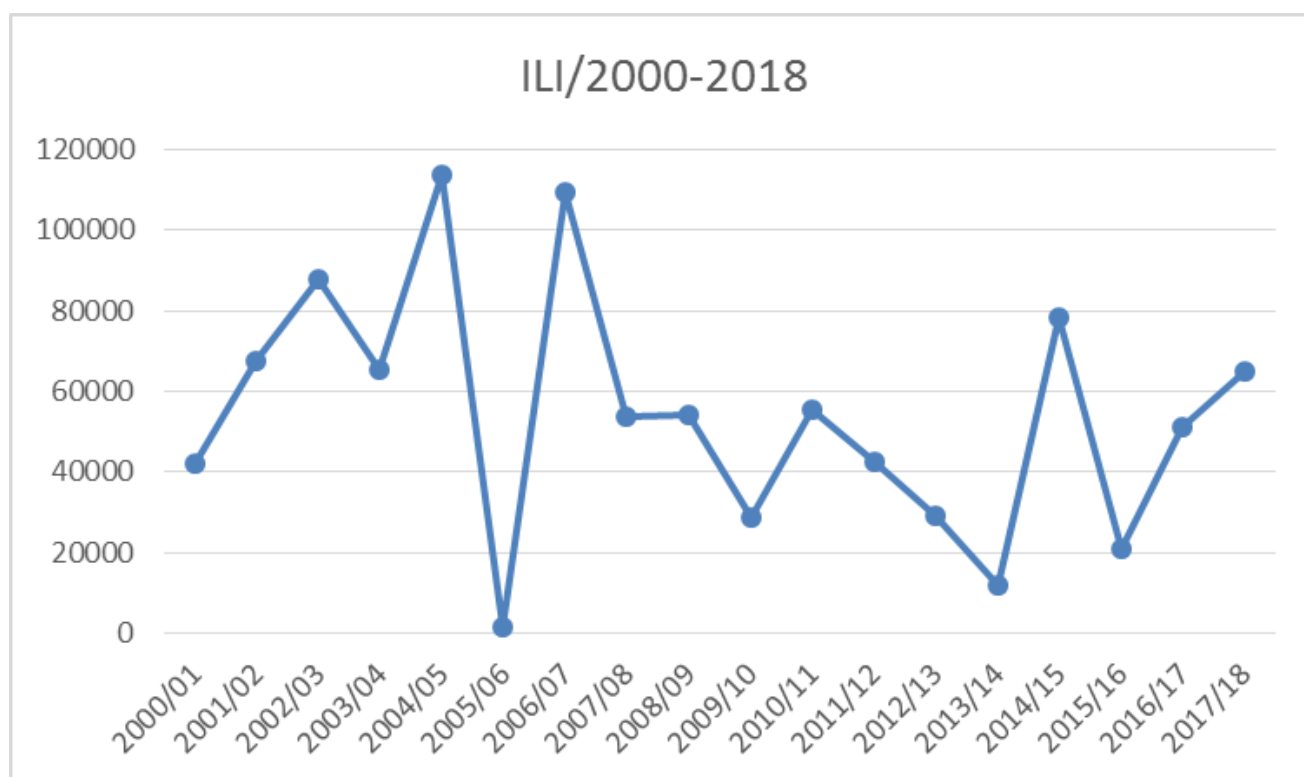
Gripa je bolest praćena velikim brojkama. Svake godine u svijetu od gripe oboli oko 600 milijuna ljudi, a samo u Hrvatskoj prosječno oboli 100.000 ljudi. Ponavljajuće sezonske epidemije omogućuje virus gripe koji se lako širi uobičajenim socijalnim kontaktom. Virus gripe može se širiti i prije prvih znakova bolesti, a ima veliku sposobnost stalnih genetskih izmjena koje mu omogućuju da se svake sezone pojavi u drugom obliku. Upravo zbog toga zaštita stvorena pri prethodnom kontaktu s virusom gripe ima ograničenu ili vrlo malu učinkovitost u obrani protiv novih sojeva virusa koji se javljaju svake sezone.

Cijepljenje u Hrvatskoj započinje s obzirom na dostupnost cjepiva oko praznika Svih svetih što je dovoljno da se stvori titar zaštitnih protutijela do sezone gripe. Cjepivo protiv gripe u sebi ne sadrži žive viruse, nego tri različita virusna antigena. Cijepiti se mogu gotovo svi uz konzultaciju s liječnikom.

Hrvatska je počela pratiti slučajeve gripe 1958., nakon što je izbila velika Azijska gripa, u Hrvatskoj je zabilježeno 460 tisuća oboljelih. Sljedeća epidemija dogodila se 1964., a tada je u Hrvatskoj oboljelo

370 tisuća građana. Četiri godine kasnije, 1968., virus je mutirao u A(H3N2), onaj koji i danas cirkulira kao najčešći. Ta je pandemija u svijetu odnijela oko milijun ljudskih života, a kod nas je došla sa zakašnjenjem, 1970. sa 450 tisuća registriranih oboljelih. To je ujedno bila zadnja godina u Hrvatskoj s tolikim brojem oboljelih: sve kasnije epidemije kretale su se do najviše 200 tisuća oboljelih, što se dogodilo 1999. godine. Najmanje epidemije bile su 1994./1995. sa 10 tisuća oboljelih te 2005./2006. sa manje od 2 tisuće oboljelih. Razlog je slabija virulencija virusa te 2006., ali zasigurno i veliki broj cijepljenih kojih je tada u Hrvatskoj bilo 700.000.

KLJUČNI TRENUTAK U SPREČAVANJU ŠIRENJA VIRUSA gripe u Hrvatskoj dogodio se početkom 60-ih godina kada je počela proizvodnja cjepiva u Hrvatskoj. U sezoni 1989./1990. cijepilo se približno 100 tisuća ljudi i nakon toga je broj samo rastao. Već 2000. godine cijepilo se 200 tisuća ljudi, zatim 2002. približno 400 tisuća. Rekordni broj 600 tisuća cijepljenih dogodio se 2008. nakon sezone 2006./2007. kada je bilo približno 110 tisuća oboljelih.



Slika 1. Broj oboljelih od gripe u razdoblju od 2000.2018.

Hrvatska je preko svog Nacionalnog centra za praćenje i dijagnostiku influence uključena u mrežu od 140 centara Svjetske zdravstvene organizacija (SZO), pa kao dugogodišnji član prima najnovija dnevna izvješća i sve najvažnije činjenice vezane uz influencu prezentira u javnost. Svake godine i Hrvatska svojim izdvojenim virusima influence participira u izboru najoptimalnijih sojeva virusa za sezonsko cjepivo i time na vrlo značajan način potpomaže napore SZO u reduciranju pobola i smrtnosti od gripe u svijetu.

Ogromna mreža Svjetske zdravstvene organizacije, čiji smo i mi dio, stalno prati promjene virusa gripe i svake godine mijenja aktivnu komponentu u cjepivu. To je cjepivo na kojem radi najviše ljudi na svijetu otkad postoje zarazne bolesti. Naime, influenza je za SZO desetljećima model za sve infektivne bolesti, kad je riječ o praćenju i načinu borbe protiv njih, jer gripa ima najuhodanije mehanizme i protupandemijske planove.

Prema najnovijim preporukama Svjetske zdravstvene organizacije i Preventivnog zdravstvenog stožera potrebno je pojačanim naporima intenzivirati organizaciju NIC-a i to na način da se povećaju dijagnostički kapaciteti i stvore optimalni uvjeti za rad zbog moguće pandemije gripe u budućnosti.

KLINIČKO ZNAČENJE VIRUSNIH INFEKCIJA DIŠNOG SUSTAVA

Rok Čivljak, Eva Huljev

Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Zagreb, Hrvatska

e-mail: rok.civljak@bfm.hr

Virusne infekcije dišnog sustava spadaju u najčešće infektivne bolesti u populaciji, a osobito teški oblici značajno pridonose i ukupnom mortalitetu od infektivnih bolesti. Odrasle osobe obole 2 – 4 puta godišnje od neke akutne respiratorne virusne bolesti dok je to u djece još i češće. Akutne respiratorne bolesti su i najčešći razlog posjeta liječnicima primarne zdravstvene zaštite kao i najčešći razlog potrošnje antimikrobnih lijekova. Stoga je prevencija virusnih infekcija dišnog sustava važna ne samo u kontekstu smanjenja pobola i smrtnosti populacije već i u smanjivanju troškova ukupne zdravstvene skrbi pa i smanjenja neracionalne potrošnje antimikrobnih lijekova i smanjenja stope rezistencije bakterija na antibiotike.

Najčešći su oblici virusnih infektivnih bolesti dišnog sustava obična prehlada, febrilni respiratorni katar, akutni tonzilofaringitis, laringitis, krup, otitis media, bronhitis, bronhiolitis i pneumonija. Najčešći su uzročnici virusnih respiratornih infekcija rinovirusi, koronavirusi, virusi influence i parainfluence, respiratorni sincicijski virus, humani metapneumovirus i adenovirusi. Svi ovi uzročnici najčešće uzrokuju blaže kliničke oblike bolesti, no u rjeđim slučajevima razvijaju se i teži oblici popraćeni komplikacijama, koji zahtijevaju hospitalizaciju, a mogu rezultirati i smrtnim ishodom. To se osobito odnosi na virus influence koji se svake godine pojavljuje epidemijski tijekom zimskih mjeseci. Ovisno o epidemijskom potencijalu cirkulirajućih virusa, koji je svake godine različit, godišnje u Hrvatskoj od gripe oboli otprilike od 30.000 do 150.000 osoba, a pretpostavlja se da od njenih komplikacija, što izravno a što neizravno godišnje umre oko 500 osoba.

Čimbenici rizika za nastanak komplikacija i težih oblika bolesti su: dob (djeca < 5 godina, odrasli ≥ 65 godina), kronične bolesti i stanja (astma, KOPB, cistična fibroza, kardiovaskularne bolesti, kronične bubrežne, jetrene, neurološke bolesti, hematološke, endokrine i metaboličke bolesti, imunosupresija, trudnoća, pušenje, alkoholizam i dr. Osobe s nekim od čimbenika rizika mogu se zaštititi od komplikacija i težih oblika bolesti ukoliko se cijepe.

Posljednjih godina u Hrvatskoj se bilježi kontinuirani pad cijepnih obuhvata u djece zbog kojega je ozbiljno ugrožena razina kolektivnog imuniteta, prvenstveno kod djece predškolske dobi. Uz to niska je stopa procijepljenosti rizičnih skupina protiv cijepljenjem preventabilnih bolesti, kao što su gripa i pneumokokna bolest. Stoga je potrebno uložiti dodatne javnozdravstvene napore i intervencije u cilju povećanja cijepnih obuhvata i djece i odraslih od preventabilnih infekcija dišnog sustava.

INFEKCIJE RESPIRATORNIM SINCICIJSKIM VIRUSOM

Srđan Roglić

Klinika za infektivne bolesti „Dr Fran Mihaljević“ Zagreb, Hrvatska

e-mail: sroglic@bfm.hr

Respiratorni sincicijski virus važan je uzrok morbiditeta djece, ali i odraslih, a posebno teške infekcije izaziva u male dojenčadi i imunokompromitiranih odraslih osoba. Virus spada u porodicu Pneumoviridae, rod Orthopneumovirus. Posjeduje lipidnu ovojnicu i jednonlančanu ribonukleinsku kiselinu s 10 gena koji kodiraju 11 proteina. Usprkos brojnim istraživanjima uloga imunološkog odgovora u patogenezi infekcije nije razjašnjena kao ni povezanost infekcije i pojačane reaktivnosti dišnih putova. Respiratorni sincicijski virus uzrokuje respiratorne infekcije u osoba svih dobni skupina. Primoinfekciju većina djece preboli do druge godine života i često se manifestira kao upala donjih dišnih putova – bronhiolitis ili pneumonija. Reinfekcije su česte tijekom života i gotovo uvijek ograničene na gornje dišne putove. Klinička slika varira od blagih infekcija gornjih dišnih putova do bronhiolitisa u dojenčadi i teške pneumonije nakon transplantacije pluća ili hematopoetskih matičnih stanica. Bolest je teža ukoliko se radi o primoinfekciji te ukoliko obolijevaju dojenčad i imunokompromitirani odrasli. Respiratorni sincicijski virus može uzrokovati pneumoniju i u starijih odraslih osoba. Dijagnoza bolesti postavlja se klinički, ali je teško razlikovati je li uzročnik respiratorni sincicijski virus ili drugi virus. Etiološka dijagnoza može se postaviti koristeći testove temeljene na metodama imunofluorescencije i imunoadsorpcije ili molekularnim metodama dokazivanja virusne nukleinske kiseline. Dostupni su brojni komercijalni brzi testovi koji se mogu koristiti uz krevet bolesnika. Inhalacijski ribavirin je trenutno jedini dostupan antivirusni lijek, no njegova upotreba je ograničena nuspojavama, cijenom i opasnošću od izlaganja osoblja. Osim toga, kliničke studije nisu dokazale njegovu učinkovitost. Ipak, sve je više studija u odraslih koje pokazuju dobar učinak peroralnoga ribavirina. S obzirom da značajan broj kandidata za lijek pokazuje obećavajuće rezultate u kliničkim studijama, uskoro bi mogli imati učinkovitije lijekove za respiratorni sincicijski virus. Liječenje je do tada ograničeno na simptomatske mjere – antipireza, adekvatna hidracija, toaleta dišnih putova, oksigenoterapija. Prevencija trenutno uključuje opće mjere i primjenu palivizumaba, monoklonskoga protutijela na F-protein respiratornoga sincicijskog virusa, u djece s rizičnim čimbenicima za težu bolest. Ispituju se nova monoklonska protutijela, kao i cjepiva namijenjena dojenčadi i trudnicama.

EPIDEMIOLOŠKE PROMJENE U POJAVNOSTI RSV INFEKCIJA

Irena Tabain¹, Gordana Mlinarić-Galinović², Nataša Bauk¹, Srđan Roglić³, Ivica Knezović³, Leo Markovinović³, Goran Tešović³, Tatjana Vilibić-Čavlek^{1,2}

¹Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

³Klinika za infektivne bolesti dr. Fran Mihaljević, Zagreb

e-mail: irena.tabain@hzjz.hr

Respiratorni sincicijski virus (RSV) pripada u porodicu *Pneumoviridae* i vodeći je uzročnik akutnih infekcija dišnog sustava (IDS) u dojenčadi i male djece. Većina djece se zarazi RSV-om tijekom prve godine života, a više od polovice oboli. RSV uzrokuje infekcije gornjih i donjih dijelova dišnog sustava. Osobito su značajne teške infekcije donjih dijelova dišnog sustava u dojenčadi i male djece koje se najčešće očituju kao bronhiolitis i/ili pneumonija. Težina bolesti ovisi o prisutnosti pratećih rizičnih čimbenika te često zahtijeva hospitalizaciju, posebno u djece mlađe od 5 godina.

Epidemije infekcija uzrokovanih RSV-om pojavljuju se sezonski. U područjima s umjerenom klimom, RSV epidemije pojavljuju se tijekom zime i u rano proljeće i u prosjeku traju od četiri do šest mjeseci. Na sjevernoj polutki vrhunac epidemije bude u razdoblju od prosinca do travnja. U nekim europskim zemljama (Njemačka, Finska, Švicarska, Švedska) opisan je dvogodišnji obrazac pojavljivanja RSV epidemija, s malom, kasnom (proljetnom) epidemijom te velikom, ranom (zimskom) epidemijom. No, u Velikoj Britaniji RSV epidemije imaju monofazni godišnji epidemijski ciklus.

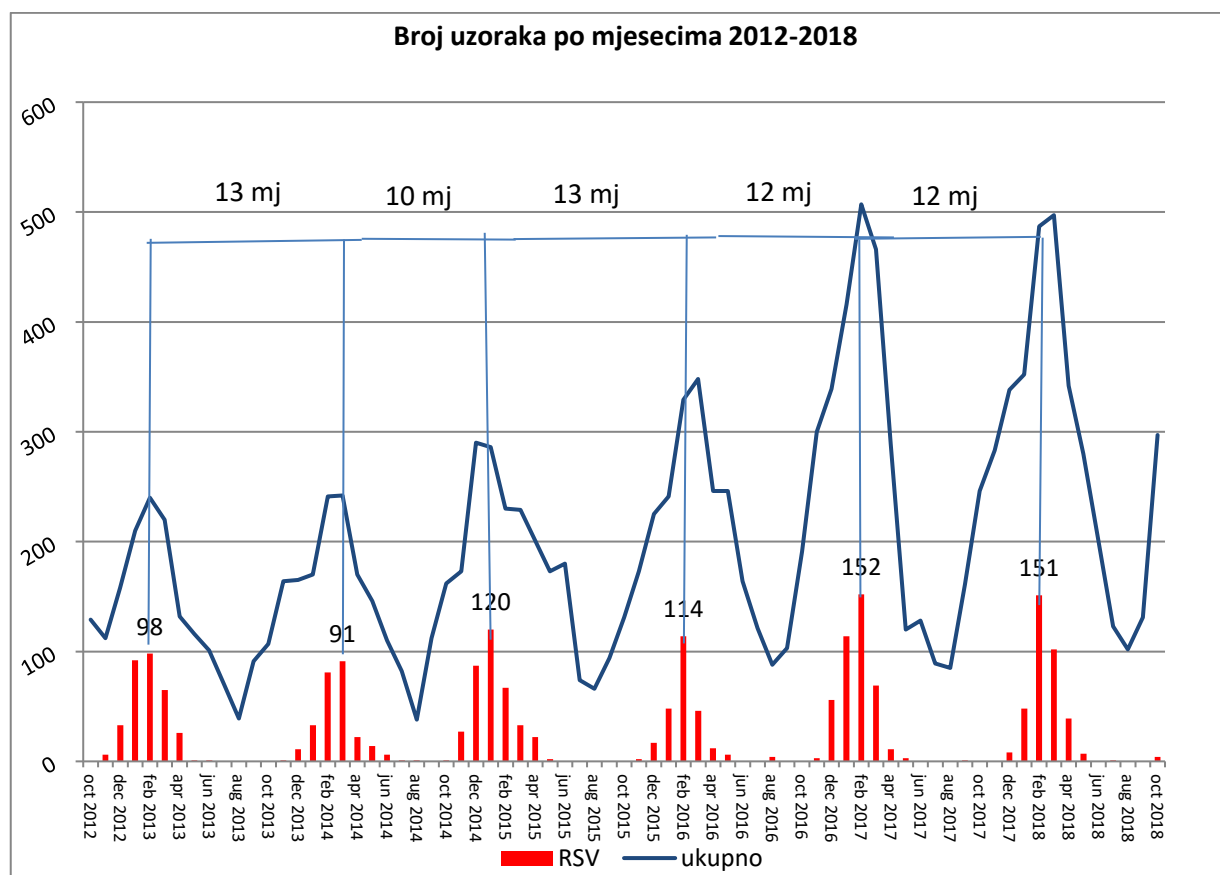
U epidemiološkim istraživanjima virusnih IDS-a u djece u Hrvatskoj, 1980-tih te kasnije 1994-2005. godine, nađeno je da je u 20-34% hospitalizirane djece s akutnim IDS-om uzročnik bio RSV.

Prema dosadašnjim spoznajama, RSV epidemije i u Hrvatskoj imaju dvogodišnji ciklus pojavljivanja koji se ponavlja svakih 23-25 mjeseci, tj. nakon velike (zimске) epidemije za 14 mjeseci slijedi mala (proljetna) epidemija, te nakon 8 mjeseci slijedi opet velika (zimská) epidemija. Najveći broj oboljelih zabilježen je u prosincu/siječnju u (zimskim) sezonama 1994/95., 1996/97., 1998/99., 2000/01., 2002/03., 2004/05., 2006/07. i 2008/09. godine, odnosno u ožujku/travnju (proljetnim sezonama) 1996., 1998., 2000., 2002., 2004., 2006. i 2010. godine. Ovo otkriće ustaljenog ciklusa RSV epidemija omogućilo je predviđanje njihove pojave. U prethodnom istraživanju u djece u Zagrebu i okolici velika RSV-epidemija 2012/13. godine počela je u studenom i vrhunac je dosegla tek u veljači 2013. godine, a mala RSV-epidemija počela je ranije tj. u prosincu te je svoj vrhunac također dosegla u veljači 2014. godine. Tada je zaključeno da unatoč manjim varijacijama početka i vrhunca sezone, pravilnost dvogodišnjeg ciklusa RSV-a potvrđuju i povećani broj dokazanih infekcija 294/504 (58,3%) u velikoj 2012/2013 sezoni naprama 210/504 (41,7%) u slijedećoj maloj sezoni, te prateća veća učestalost bronhiolitisa u dojenčadi tijekom veće epidemije (62,4%) u odnosu na manju epidemiju (50,7%).

Stoga smo dodatno istražili epidemiološke značajke RSV infekcija u djece u razdoblju od studenog 2013. do listopada 2018. godine, utvrdili epidemijske vrhunce i usporedili ih s dosadašnjim spoznajama o ustaljenom ciklusu pojavljivanja RSV epidemija.

RSV je dokazan metodom direktne imunofluorescencije (DFA engl. direct immunofluorescent assay) u uzorku nazofaringealnog sekreta ili obrisku nazofarinksa. Korišten je komercijalni test u kojem su monoklonalna protutijela obilježena fluorescentnom bojom (Light Diagnostics) koja virusne uklopine prikazuju zelenom fluorescencijom kada se promatraju pod UV mikroskopom. RSV infekcija je dokazana u 1636 djece u dobi do 10 godina, a najčešće je zabilježena u dojenčadi u dobi 0-6 mjeseci (822/1636; 50,2%), što je u skladu s rezultatima prethodnih istraživanja u Hrvatskoj koji su bili u rasponu 35,6-63,8%. Najveći broj oboljelih po sezoni zabilježen je u veljači 2013. godine, potom u ožujku 2014., u siječnju 2015. te u veljači 2016-2018. godine (slika 1).

U zaključku, analizirani podatci pokazali su da je tijekom promatranog perioda najveći broj dokazanih RSV infekcija zabilježen uglavnom u veljači (2013. te 2016-2018. godine). Sezone su uglavnom počinjale u prosincu i završavale u svibnju. Iako rezultati ukazuju na mogućnost promjene u obrascima pojavljivanja RSV epidemija, ipak će biti potrebno napraviti analizu dužeg vremenskog razdoblja.



Slika 1. Broj pretraženih uzoraka i dokazanih infekcija RSV po mjesecima

MOLEKULARNA EPIDEMIOLOGIJA VIRUSA IZ PORODICE *PNEUMOVIRIDAE*

Anamarija Slović^{1,2}, Maja Jagušić^{1,2}, Jelena Ivančić-Jelečki^{1,2}, Sunčanica Ljubin-Sternak^{3,4}, Gordana Mlinarić-Galinović⁴, Tatjana Vilibić-Čavlek^{4,5}, Irena Tabain⁵, Dubravko Forčić^{1,2}

¹Centar za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

²Centar izvrsnosti za virusnu imunologiju i cjepiva

³Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Zagreb, Hrvatska

⁴Medicinski fakultet u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

⁵Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

e-mail: aslovic@unizg.hr

Akutne respiratorne infekcije najčešće su infekcije kod djece mlađe od 5 godina, a jedni od najčešćih uzročnika su ljudski respiratorni sincicijski virus (HRSV) i ljudski metapneumovirus (HMPV) koji pripadaju porodici *Pneumoviridae*. Epidemiološki obrasci ovih virusa se preklapaju, kao i bolesti koje uzrokuju u pedijatrijskoj populaciji, uključujući teške respiratorne infekcije poput bronhiolitisa i upale pluća. Genom ovih virusa čini jednolančana negativno orijentirana RNA molekula, a karakterizira ih izrazita genska raznolikost te kontinuirana prilagodba i evolucija kao i sposobnost ponovnih infekcija. Spoznaje o odnosima između postojećih genotipova na određenom području važne su za predviđanje epidemija te omogućavaju pravovremenu kontrolu širenja, što je od posebne važnosti za navedene viruse, s obzirom da ne postoji specifični antivirusni tretman niti cjepivo protiv ovih virusa.

U ovu studiju uključeni su uzorci sakupljeni tijekom 7 uzastopnih godina (2011. – 2017.), u kojima je metodom direktne imunofluorescencije utvrđena prisutnost HRSV-a i HMPV-a. Daljnje molekularno-epidemiološke analize zasnivale su se na sekvenciranju varijabilnijih regija genoma: druge hipervarijabilne regije gena G kod HRSV-a i fragmentu gena F kod HMPV-a. Analizom sojeva HRSV-a detektirana je istovremena cirkulacija 5 genotipova, te je uočena smjena dominantnih grupa. Pokazano je da je u grupi A prevladavajući genotip tijekom prve tri godine studije bio NA1, koji je potpuno zamijenjen novim genotipom ON1 u narednoj godini. Već početkom 2016. godine ovom je genotipu pripadalo 70% analiziranih uzoraka, demonstrirajući epidemiološku prevlast genotipa ON1 u populaciji. Zanimljivo je da unos novog genotipa u populaciju nije utjecao na cikličku smjenu dominantnih grupa HRSV-a.

Na temelju filogenetske analize sojeva HMPV-a uočena je istovremena cirkulacija 3 podgrupe, iz čega se može zaključiti da vrlo različiti virusi tijekom jedne sezone uzrokuju infekcije. U ovom istraživanju detektirana je pojava novog podklastera A2c, koji je do sada detektiran samo u Japanu i Maleziji. Ovaj podklaster detektiran je tijekom cijelog analiziranog perioda, naglašavajući važnost ovog podklastera u epidemiologiji HMPV-a. Cirkulacija novog podklastera dodatno je potvrđena sekvenciranjem kompletnih gena za površinske proteine, G, F i SH. Analizom sekvenci gena G otkriveni su sojevi koji

nose duplikaciju od 180, odnosno 111 nukleotida unutar kodirajuće regije, što je sličnost s proteinom G HRSV-a koji može tolerirati ovako velike duplikacije. Ovakve duplikacije su nedavno pronađene unutar sojeva HMPV-a koji cirkuliraju u Španjolskoj i Japanu, te će se daljnjim praćenjem moći zaključiti slijede li ovi sojevi epidemiološke obrasce genotipa ON1 kod HRSV-a. Dodatno je zanimljivo da su već uočene promjene između aminokiselina prve i druge kopije duplicirane regije, upućujući na brzu evoluciju virusa. Promjene u ovoj regiji mogu doprinijeti sposobnosti virusa da inficira domaćine, bilo poboljšanim vezanjem na stanice domaćina ili izbjegavanjem imunološkog odgovora domaćina.

Visoke stope supstitucije izračunate su za promatrane regije oba virusa, potvrđujući ulogu površinskih proteina u izbjegavanju imunološkog odgovora. Najviša stopa supstitucije kod HRSV-a izračunata je za genotip BA9 ($8,851 \times 10^{-3}$ supstitucija/mjesto/godina), u skladu s višim stopama evolucije koje su procijenjene za grupu B. Unutar grupe A, stopa supstitucije za genotip NA1 iznosila je $3,006 \times 10^{-3}$ supstitucija/mjesto/godina, dok je u genotipu ON1 iznosila $4,969 \times 10^{-3}$ supstitucija/mjesto/godina, u skladu sa istraživanjem stope supstitucije globalno prisutnih sojeva ON1. Na temelju ovih rezultata može se zaključiti da širenje i evolucija genotipa ON1 unutar lokalne populacije slijedi sličnu evolucijsku i epidemiološku dinamiku prisutnu na globalnoj razini.

Viša stopa supstitucije izračunata je i za uzorke HMPV-a grupe B te je iznosila $4,72 \times 10^{-3}$ supstitucija/mjesto/godina, dok je za grupu A stopa supstitucije iznosila $2,48 \times 10^{-3}$ supstitucija/mjesto/godina. Nadalje, ispitana je evolucija novog podklastera A2c te je izračunata viša stopa supstitucije u genu G nego što je bilo očekivano na temelju dosadašnjih spoznaja. S obzirom da je ovakav trend uočen i kod prvotne detekcije genotipa ON1, očekuje se da će lokalna stopa pratiti opaženi globalni trend u bliskoj budućnosti i unutar sojeva HMPV-a.

Genska karakterizacija virusa omogućuje istraživanje biologije virusa te njihovu varijabilnost i sposobnost adaptacije, što dovodi do boljeg razumijevanja patogeneze virusa i pomaže u sprječavanju budućih epidemija. Stoga rezultati ove studije doprinose poznavanju obrazaca cirkulacije pneumovirusa kao i boljem razumijevanju molekularne epidemiologije, s krajnjim ciljem razvoja učinkovitih terapijskih ili preventivnih metoda.