

# Usutski virus: novi Flavivirus u Hrvatskoj

---

**Vilibić-Čavlek, Tatjana; Barbić, Ljubo; Stevanović, Vladimir; Mlinarić-Galinović, Gordana**

Source / Izvornik: **Liječnički vjesnik, 2015, 137, 46 - 51**

**Journal article, Published version**

**Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:800308>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-30**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine  
Digital Repository](#)



33. *Coopersmith S.* Parental characteristics related to self-esteem. U: The antecedents of self-esteem. San Francisco: Freeman; 1967, str. 96–117.
34. *Zeanah RD, Schwarz J C.* Reliability and validity of the sexual self-esteem inventory for women. *Assessment* 1996;3:1–15.
35. *Snell WE, Jr, Papini DR.* The Sexuality Scale: An instrument to measure sexual-esteem, sexual-depression, and sexual-preoccupation. *J Sex Res* 1989;26:256–63.
36. *Snell WE, Jr.* Measuring multiple aspects of the sexual self-concept: The Multidimensional Sexual Self-Concept Questionnaire. U: Snell WE Jr, ur. New directions in the psychology of human sexuality: Research and theory. Cape Girardeau: Snell Publications; 2001.
37. *Snell WE, Jr, Fisher TD, Schuh T.* Reliability and validity of the Sexuality Scale: A measure of sexual-esteem, sexual-depression, and sexual-preoccupation. *J Sex Res* 1992;29:261–73.
38. *Brafford Squiers L.* Sexual self-esteem and its relationship to demographics, sexual history, relationship context, and condom use in college students. *Dissertation Abstracts International*; 1998.
39. *Rosenthal D, Moore S, Flynn I.* Adolescent self-efficacy, self-esteem, and sexual risk taking. *J Commun Appl Soc Psychol* 1991;1:77–88.
40. *Oliver MB, Hyde JS.* Gender differences in sexuality: A meta-analysis. *Psychol Bull* 1993;114:29–51.
41. *Schmitt DP.* Sociosexuality from Argentina to Zimbabwe: A 48-nation study of sex, culture, and strategies of human mating. *Behav Brain Sci* 2005;28:247–311.
42. *Petersen JL, Hyde JS.* A Meta-analytic review of research on gender differences in sexuality. *Psychol Bull* 2010;136:21–38.
43. *Menard D, Offman A.* The interrelationships between sexual self-esteem, sexual assertiveness and sexual satisfaction menard. *Can J Hum Sex*, 2009;18.
44. *Collins NL, Allard LM.* Cognitive representations of attachment: The content and function of working models. U: Fletcher GJO, Clark MS, ur. *Blackwell handbook of social psychology: Interpersonal processes.* Oxford: Blackwell; 2001.
45. *Collins NL, Guichard AC, Ford MB, Feeney BC.* Working models of attachment: New developments and emerging themes. U: Rholes WS, Simpson JA, ur. *Adult Attachment: Theory, Research, and Clinical Implications.* New York: Guilford; 2004, str. 196–239.
46. *Collins NL, Ford MB, Guichard AC, Feeney BC.* Responding to need in intimate relationships: Normative processes and individual differences. U: Mikulincer M, Goodman G, ur. *Dynamics of romantic love: Attachment, caregiving, and sex.* New York: Guilford; 2006.
47. *Birnbaum GE, Reis HT, Mikulincer M, Gillath O, Orpaz A.* When sex is more than just sex: Attachment orientations, sexual experience, and relationship quality. *J Personal Soc Psychol* 2006;91:929–43.
48. *Bartholomew K, Horowitz LM.* Attachment styles among young adults: A test of a four-category model. *J Personal Soc Psychol* 1991;61:226–44.
49. *Brennan KA, Morris KA.* Attachment styles, self-esteem, and patterns of seeking feedback from romantic partners. *Pers Social Psychol Bull* 1997;23:23–31.
50. *Campbell L, Jeffrey A, Simpson JB, Kashy DA.* Perceptions of conflict and support in romantic relationships: The role of attachment anxiety. *J Personal Soc Psychol* 2005;88:510–31.
51. *MacNeil S, Byers ES.* Dyadic assessment of sexual self-disclosure and sexual satisfaction in heterosexual dating couples. *J Soc Relationship* 2005;22:169–81.
52. *Sprecher S, Cate R.* Sexual satisfaction and sexual expression as predictors of relationship satisfaction and stability. U: Harvey J, Wenzel A, Sprecher S, ur. *Handbook of sexuality in close relationships.* Mahwah: Lawrence Erlbaum; 2004, str. 235–56.
53. *Laumann EO, Gagnon JH, Michael RT, Michaels S.* The social organization of sexuality: Sexual practices in the United States. Chicago: University of Chicago Press; 1994.
54. *Sprecher S.* Sexual satisfaction in premarital relationships: Associations with satisfaction, love, commitment, and stability. *J Sex Res* 2002; 3:1–7.
55. *Yeh HC, Lorenz FO, Wickrama KA, Conger RD, Elder GH.* Relationships among sexual satisfaction, marital quality, and marital instability in midlife. *J Fam Psychol* 2006;20:339–43.
56. *Feeney JA.* Adult romantic attachment and couple relationships. U: Cassidy J, Shaver PR, ur. *Handbook of attachment.* New York: Guilford; 1999, str. 355–77.
57. *Feeney JA, Noller P.* Attachment and sexuality in close relationships. U: Harvey JH, Wenzel A, Sprecher S, ur. *The handbook of sexuality in close relationships.* Mahwah, NJ: Lawrence Erlbaum Associates; 2004, str. 183–201.
58. *Butzer B, Campbell L.* Adult attachment, sexual satisfaction, and relationship. *Person Relation* 2008;15:141–54.
59. *Birnbaum GE.* Bound to interact: The divergent goals and complex interplay of attachment and sex within romantic relationships. *J Soc Personal Relation* 2010c;27:245–52.

## USUTSKI VIRUS: NOVI FLAVIVIRUS U HRVATSKOJ

### USUTU VIRUS: A NOVEL FLAVIVIRUS IN CROATIA

TATJANA VILIBIĆ-ČAVLEK, LJUBO BARBIĆ, VLADIMIR STEVANOVIĆ,  
GORDANA MLINARIĆ-GALINOVIĆ\*

**Deskriptori:** Infekcije flavivirusima – epidemiologija, veterinarstvo, dijagnoza, prevencija; Hrvatska – epidemiologija

**Sažetak.** Usutski virus (Usutu virus – USUV) pripada porodici *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus*, serokompleksu japanskog encefalitisa. Otkriven je 1959. godine u Južnoj Africi, a posebnu pozornost pobuđuje nakon 1996. godine kada su zabilježene epizootije s visokom mortalitetom ptica na području Europe. Iako značenje USUV-a u humanoj medicini još nije potpuno razjašnjeno, nekoliko do sada opisanih kliničkih slučajeva humane infekcije USUV-om potvrđuje ga kao antropozoonotskog uzročnika. Prisutnost USUV-a na području Hrvatske bilježi se od 2011. godine kada su specifična protutijela na USUV nađena u dva konja na području Zagrebačke i Sisačko-moslavačke županije. Sljedeće su godine neutralizacijska protutijela na USUV dokazana u jednome humanom uzorku ispitanika iz Vukovarsko-srijemske županije. Prvi klinički slučajevi humane infekcije USUV-om opisani su tijekom epidemije uzrokovane zapadnonilskim virusom u razdoblju od srpnja do rujna 2013. godine. Neuroin vazivna infekcija USUV-om dokazana je u tri osobe s područja Zagreba i Zagrebačke

\* Odjel za virologiju, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu (prim. dr. sc. Tatjana Vilibić-Čavlek, dr. med.; prof. dr. sc. Gordana Mlinarić-Galinović, dr. med.), Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu (prof. dr. sc. Ljubo Barbić, dr. med. vet.; Vladimir Stevanović, dr. med. vet.)

Adresa za dopisivanje: Prim. dr. sc. T. Vilibić-Čavlek, Odjel za virologiju, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Rockefellerova 12, 10000 Zagreb, e-mail: tatjana.vilbic-cavlek@hzjz.hr

Primljeno 20. svibnja 2014., prihvaćeno 28. studenoga 2014.

županije. Naši rezultati nedvojbeno upućuju na prisutnost USUV-a na području Hrvatske te se oboljenja ljudi mogu očekivati i u sljedećim sezonama prijenosa.

**Descriptors:** Flavivirus infections – epidemiology, veterinary, diagnosis, prevention and control; Croatia – epidemiology

**Summary.** Usutu virus (USUV) belongs to the family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus*, Japanese encephalitis serocomplex. The virus was discovered in 1959 in South Africa and has emerged since 1996 causing epizootics with high avian mortality in Europe. The importance of USUV in humans is not fully understood. However, several human clinical cases of USUV infection described so far indicate the role of this virus as an antropozoonotic agent. In Croatia, serologic evidence of USUV was first documented in 2011 in two horses from Zagreb and Sisak-Moslavina County. In 2012, USUV neutralizing antibodies were found in one human sample from a resident of a Vukovar-Srijem County. Human clinical cases of USUV infection were detected for the first time during the West Nile virus outbreak from July to September 2013. Three patients with USUV neuroinvasive disease were detected in the City of Zagreb and Zagreb County. Our results indicate USUV circulation in Croatia. Further human cases could be expected in the next transmission seasons.

Liječ Vjesn 2015;137:46–51

### Usutski virus: otkriće i zemljopisna rasprostranjenost

Usutski virus (USUV) izoliran je prvi put 1959. godine iz komaraca *Culex* (*Cx.*) *neavei* uhvaćenih uz rijeku Usutu u Svazilandu (Južna Afrika) po kojoj je virus dobio ime.<sup>1</sup> Sljedećih su godina opisani sporadični izolati iz različitih vrsta komaraca i ptica u Ugandi, Nigeriji, Senegal, Obali Bjelokosti i Srednjoafričkoj Republici<sup>1–3</sup> te jedan izolat iz afričkog štakora (*Praomys* spp.).<sup>4,5</sup> Nadalje, infekcija USUV-om serološki je dokazana u divljih ptica na području Maroka. Prvi humani izolati zabilježeni su 1981. i 2004. godine iz oboljelih osoba na području Srednjoafričke Republike i Burkine Faso.<sup>3</sup> U Europi je prisutnost USUV-a dokazana prvi put 2001. godine u Austriji,<sup>6</sup> a sljedećih godina i u drugim europskim državama. Nedavno objavljenim istraživanjem potvrđena je prisutnost virusa u arhiviranim tkivima uginulih ptica iz 1996. godine na području Italije, što upućuje na to da je USUV, iako neprepoznat, bio prisutan na području Europe i prije 2001. godine.<sup>7</sup>

### Grada i biološke osobitosti usutskog virusa

USUV je malen (~50 nm), ovijeni kuglasti virus koji pripada porodici *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus*, serokompleksu japanskog encefalitisa zajedno s genetski srodnim virusom japanskog encefalitisa, zapadnonilskim virusom (ZVN), virusom denge i virusom žute groznice.<sup>8</sup> Genom USUV-a čini jednolančana, pozitivna (+) RNK koja sadržava jedno veliko otvoreno područje kodiranja (engl. *open reading frame* – ORF) te dvije kratke nekodirajuće regije na 3' i 5' kraju. Produkt prevodenja ORF-a jest polipeptid koji se posttranslacijski cijepa na tri strukturalna (protein nukleokapside C, membranski protein M te glikoprotein E) i sedam nestrukturalnih proteina (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, NS5). Virus se umnožava u citoplazmi stanice te se iz nje oslobađa egzocitozom ili lizom.<sup>9</sup> Filogenetska analiza pokazala je gensku varijabilnost USUV-a. Na temelju analize E-gena do sada je opisana jedna genska linija, a analizom NS5-gena dokazane su dvije genske linije.<sup>10</sup>

### Prirodni ciklus i klinička slika infekcije usutskim virusom u životinja

Prirodni ciklus USUV-a sličan je ciklusu ZNV-a. Rezervoari virusa su različite vrste divljih ptica, a glavni vektori komarci roda *Culex* iako je virus dokazan i u drugim vrstama komaraca. U Africi USUV je izoliran većinom iz komaraca *Cx. neavei* te sporadično iz vrsta *Cx. perfuscus* i *Cx. quinquefasciatus*, kao i komaraca iz rodova *Aedes*, *Manso-*

*nia* i *Coquillettidia*.<sup>3,11</sup> Na području Europe USUV je dokazan u komaraca *Cx. pipiens*, *Ae. albopictus*, *An. maculipennis* i *Ae. caspius* u Italiji,<sup>12,13</sup> *Cx. pipiens* i *Cx. perexignus* u Španjolskoj<sup>14,15</sup> te *Cx. pipiens* u Njemačkoj. U širenju virusa na nova područja važnu ulogu imaju ptice selice.<sup>16</sup> Ovisno o vrsti, u zaraženih ptica može se razviti oblik bolesti različita intenziteta koji varira od asimptomatske infekcije do masovnih uginuća. Letalne infekcije USUV-om zabilježene su u ptica iz reda vrapčarki (*Passeriformes*) od kojih su najosjetljivija vrsta kosovi (*Turdus merula*) te reda sovka (*Strigiformes*). U osjetljivih vrsta ptica USUV pokazuje širok tkivni tropizam te se umnaža u različitim tkivima (središnji živčani sustav – SŽS, poprečnoprugasto i glatko mišićje, fibroblasti, epitelne stanice crijeva, dišnog i mokraćnog sustava, limfatičko tkivo), što dovodi do multiorganskog zatajenja. Tijek bolesti obično je akutan ili perakutan, bez razvoja znatnog imunosnog odgovora. Najvažnije histološke promjene u ptica prisutne su u SŽS-u (nekroza neurona), miokardu (miocitoliza), slezeni (nekrotizirajuća upala) i jetri (multifokalne nekroze).<sup>17</sup> Budući da je USUV većinom dokazan u pticama koje su nađene uginule, simptomi bolesti rijetko se uočavaju (apatija, anoreksija, nakostriješenost perja, nemogućnost letanja, nekontrolirani pokreti).<sup>18</sup> U manje osjetljivih vrsta ptica dolazi do supkliničke infekcije i serokonverzije. Mortalitet u divljih ptica varira, a na njegovo smanjenje može utjecati udomaćenost uzročnika u određenoj populaciji s posljedičnom imunošću jata. Nadalje, uzrok smanjenja mortaliteta u ptica može biti i oslabljena virulencija sojeva virusa koji cirkuliraju na određenom području.

Pokusnim infekcijama na domaćoj peradi dokazano je da guske i kokoši inficirane USUV-om ne pokazuju kliničkih znakova bolesti i samo povremeno izlučuju virus.<sup>19,20</sup> Neuropatogenost USUV-a dokazana je u miševa. Za razliku od drugih flavivirusa neuroinvasivni oblik infekcije USUV-om razvija se samo u miševa inficiranih u dobi do tjedan dana u kojih 6–11 dana nakon intraperitonealne inokulacije virusa dolazi do dezorijentacije, paraplegije i kome. Histološkim pretragama dokazana je apoptoza neurona u području moždanog debla, malog mozga te produžene i leđne moždine uz rijetke upalne infiltrate i demijelinizaciju. Za razliku od apoptoze neurona koja nastaje i kod infekcije drugim flavivirusima, demijelinizacija je karakteristična za infekciju USUV-om.<sup>21</sup>

Održavanje USUV-a u endemskim područjima najvjerojatnije omogućuje prezimljavanje uzročnika u inficiranim komarcima te uspostavljanje prirodnog ciklusa prijenosa između ptica i komaraca na početku nove sezone.<sup>22</sup> Čini se da ptice nemaju ulogu u održavanju virusa tijekom zimskih

mjeseci budući da do sada nisu dokazane perzistentne infekcije u ptica. Također, nije opisan izravan prijenos virusa između ptica kao što je slučaj kod ZNV-a. Ljudi, kao i konji, nakon zaražavanja USUV-om imaju nizak stupanj viremije te postaju slučajni krajnji domaćini.<sup>23</sup>

### Epizootologija i epidemiologija infekcije usutskim virusom

Na području Afrike 1972. godine USUV je izoliran iz više vrsta ptica, no uginuća ptica nisu dokazana.<sup>3</sup> Prvi slučajevi infekcije USUV-om izvan Afrike opisani su u kolo-zovu 2001. godine u Austriji gdje su zabilježena masovna uginuća kosova te uginuće pet sova u bečkome zooškom vrtu.<sup>6</sup> Izolirani je soj USUV-a pokazao 97% podudarnosti u nukleotidnom slijedu u usporedbi s južnoafričkim sojem virusa.<sup>24</sup> U sljedećim je sezonama potvrđena cirkulacija virusa na području Austrije, kao i kontinuirani porast seropozitivnosti u divljih ptica od <10% (2003. i 2004. godine) do >50% (2005. i 2006. godine).<sup>25</sup> Sljedećih se godina ponovo bilježe epizootije te je USUV dokazan u ptica i komaraca na području Mađarske,<sup>26</sup> Španjolske,<sup>14,15</sup> Italije<sup>13</sup> i Belgije,<sup>18</sup> što upućuje na njegovo širenje i endemizaciju na području Europe. Nadalje, infekcija USUV-om serološki je dokazana u divljih ptica u Engleskoj,<sup>27</sup> Češkoj,<sup>28</sup> Njemačkoj,<sup>29,30</sup> Italiji,<sup>31,32</sup> Poljskoj,<sup>16</sup> Španjolskoj<sup>33,34</sup> i Švicarskoj,<sup>35</sup> dok je u Italiji 2009. godine prvi put opisana serokonverzija u konja<sup>36</sup> (tablica 1.). Nedavno objavljenim istraživanjem USUV je dokazan u tkivima uginulih ptica s područja Italije (Toskana) arhiviranim 1996. godine tijekom epizootije bolesti s visokim mortalitetom. Navedeno potvrđuje prisutnost virusa u Europi godinama prije prvog opisa 2001. godine.<sup>7</sup> Pretpostavlja se da je virus unesen u Europu pticama selicama

inficiranim u endemskim područjima Afrike. Na području Europe bolest se pojavljuje sezonski (od srpnja do listopada), vezano uz aktivnost vektora.<sup>37</sup> Iako značenje USUV-a u humanoj medicini još nije potpuno razjašnjeno, nekoliko do sada opisanih infekcija u ljudi s kliničkim znakovima bolesti nedvojbeno dokazuje antropozoonotski značaj ovog virusa.<sup>3,38-43</sup> Epidemiološki su čimbenici još nedostatno istraženi, no dokazana endemska pojavnost u mnogim europskim državama upućuje na to da se virus udomaćio u ovom području te da treba imati u vidu mogući utjecaj na zdravlje ljudi.

### Klinička slika humane infekcije usutskim virusom

Do danas je u literaturi opisano svega nekoliko humanih slučajeva klinički manifestne infekcije uzrokovane USUV-om (tablica 2.). Pretpostavlja se da inkubacija iznosi od 2 do 14 dana. Uz većinom asimptomatske infekcije USUV može u ljudi uzrokovati usutsku groznicu, blagu febrilnu bolest s osipom, žuticom i glavoboljom<sup>3</sup> te neuroinvasivnu bolest (meningitis, encefalitis) u imunokompromitiranih bolesnika.<sup>38,39</sup> Prvi humani slučaj infekcije USUV-om opisan je 1981. godine u Srednjoafričkoj Republici u bolesnika s vrućicom i osipom. Drugi zabilježeni slučaj jest bolesnik s vrućicom i žuticom opisan 2004. godine na području Burkine Faso.<sup>3</sup> U endemskim su područjima Austrije tijekom 2006. godine neutralizacijska protutijela na USUV dokazana u 25% bolesnika s osipnom bolesti nerazjašnjene etiologije.<sup>40</sup> U kasno ljeto 2009. godine neuroinvasivna bolest izazvana USUV-om dokazana je u dva imunokompromitirana bolesnika u Italiji.<sup>38,39</sup> Nadalje, asimptomatska infekcija USUV-om dokazana je serološki (detektabilna IgM i IgG-protutijela) u jednoga dobrovoljnog davatelja krvi u Nje-

Tablica 1. Dokaz rasprostranjenosti usutskog virusa na području Europe  
Table 1. Evidence of Usutu virus distribution in Europe

Država Country	Ptice Birds	Komarci Mosquitoes	Sisavci Mammals	Referencija Reference
Austrija / Austria	Klinička slika, uginuće ptica; dokaz protutijela u ptica / Clinical symptoms, bird mortality; antibody detection in birds		Klinička slika u ljudi / Clinical symptoms in humans	(6, 40)
Italija / Italy		<i>Cx. pipiens</i> <i>Ae. albopictus</i> <i>An. maculipennis</i> <i>Ae. caspius</i>	Dokaz protutijela u konja / Antibody detection in horses Klinička slika i dokaz protutijela u ljudi / Clinical symptoms and antibody detection in humans	(12, 13, 31, 32, 36, 38, 39)
Mađarska / Hungary	Klinička slika, uginuće ptica / Clinical symptoms, bird mortality			(26)
Njemačka / Germany	Klinička slika, uginuće ptica / Clinical symptoms, bird mortality	<i>Cx. pipiens</i>	Dokaz protutijela u ljudi / Antibody detection in humans	(29, 40)
Velika Britanija / United Kingdom	Dokaz protutijela u divljih ptica i sentinelnih kokoši / Antibody detection in wild birds and sentinel chickens			(30)
Španjolska / Spain	Klinička slika i dokaz protutijela u ptica / Clinical symptoms and antibody detection in birds	<i>Cx. pipiens</i> <i>Cx. perexiguus</i>		(14, 15, 33, 35)
Češka / Czech Republic	Klinička slika, uginuće ptica / Clinical symptoms, bird mortality			(28)
Švicarska / Switzerland	Klinička slika, uginuće ptica / Clinical symptoms, bird mortality			(34)
Belgija / Belgium	Klinička slika u ptica / Clinical symptoms in birds			(18)
Hrvatska / Croatia			Dokaz protutijela u konja / Antibody detection in horses Klinička slika i dokaz protutijela u ljudi / Clinical symptoms and antibody detection in humans	(44-47)

Tablica 2. *Humani slučajevi infekcije usutskim virusom*  
Table 2. *Human cases of Usutu virus infection*

Godina Year	Država Country	Klinički oblik Clinical symptoms	Referencija Reference
1981.	Srednjoafrička Republika / Central African Republic	Vrućica, osip / Fever, rash	(3)
1994.	Burkina Faso	Vrućica, žutica / Fever, jaundice	(3)
2006.	Austrija / Austria	Osip (neutralizacijska protutijela na USUV u 25% oboljelih) / Rash (USUV neutralizing antibodies in 25% patients)	(40)
2009.	Italija / Italy	Meningoencefalitis / Meningoencephalitis	(38, 39)
2012.	Njemačka / Germany	Asimptomatska infekcija USUV-om (dokaz IgM i IgG-protutijela) u dobrovoljnog davatelja krvi / Asymptomatic USUV infection (detection of IgM and IgG antibodies) in a volunteer blood donor	(43)
2013.	Hrvatska / Croatia	Meningitis, meningoencefalitis / Meningitis, meningoencephalitis	(46, 47)

mačkoj 2012. godine.<sup>41</sup> Seroepidemiološka istraživanja provedena u dobrovoljnih davatelja krvi u Italiji pokazala su seroprevalenciju od 1,1% (2009. godine) te 0,23% (2010.–2011. godine).<sup>42,43</sup>

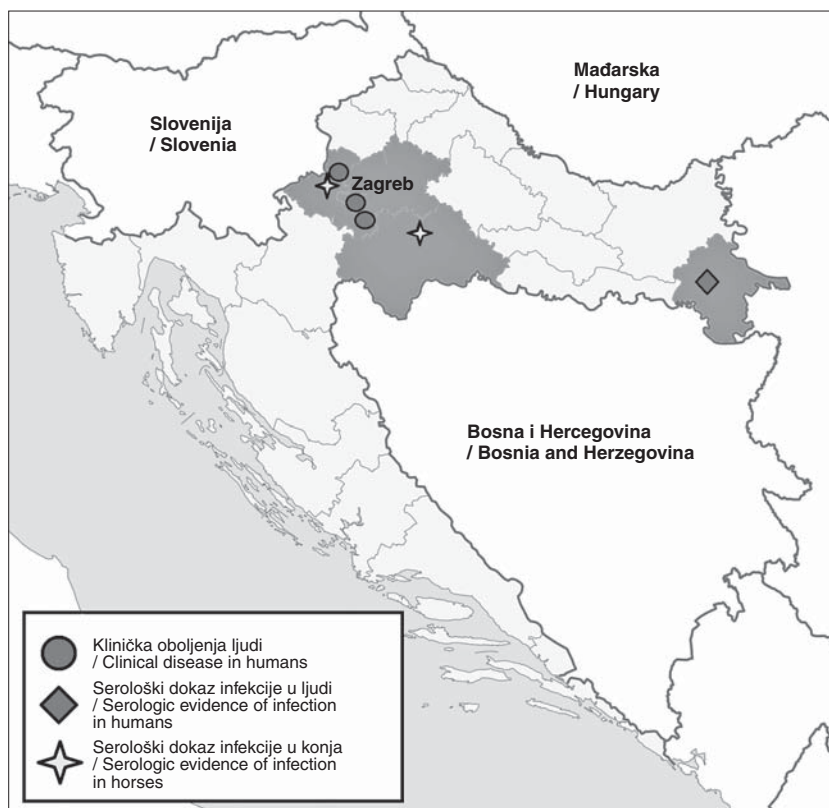
### Infekcija usutskim virusom na području Hrvatske

Prisutnost USUV-a na području Hrvatske prati se od 2011. godine tijekom koje su prvi put potvrđena dva seropo-

zitivna konja na području Zagrebačke i Sisačko-moslavačke županije.<sup>44</sup> U istom je razdoblju testirano 306 humanih uzoraka seruma osoba u dobi od 30 do 60 godina. Dva su uzorka pokazala pozitivan rezultat na USUV u imunoenzimskom (ELISA) testu, ali su na potvrdnom testiranju dokazana neutralizacijska protutijela na ZNV koja su dala križnu reakciju s USUV-om. Istraživanje proširenosti USUV-a nastavljeno je tijekom 2012. i 2013. godine kada su neutralizacijska protutijela dokazana i u jednome humanom uzorku seruma asimptomatskog ispitanika s područja Vukovarsko-srijemske županije.<sup>45</sup> Tijekom epidemije uzrokovane ZNV-om u razdoblju od 24. srpnja do 7. listopada 2013. godine zabilježeni su prvi klinički slučajevi humane infekcije USUV-om kada su opisana tri slučaja neuroinvasive bolesti uzrokovane USUV-om. Dvije su starije osobe imale predležu bolest u anamnezi (hipertenziju odnosno dijabetes), dok je treća oboljela osoba bila mlađe životne dobi i prethodno zdrava. Klinička slika (meningitis i meningoencefalitis) nije se razlikovala od neuroinvasive infekcije ZNV-om.<sup>46–48</sup> Ni jedan bolesnik nije putovao izvan mjesta boravka niti je imao anamnestički podatak o cijepljenju protiv krpelnog encefalitisa (KE), žute groznice i japanskog encefalitisa, što je upućivalo na autohtonu infekciju USUV-om. Oboljele osobe bile su s područja grada Zagreba i Zagrebačke županije (slika 1.).<sup>47</sup>

### Dijagnostika infekcije usutskim virusom

USUV se umnožava na različitim vrstama staničnih kultura. Nakon četiri dana dolazi do pojave citopatskog učinka (zaokruživanje stanica) koji je vidljiv samo na staničnoj kulturi majmuskog bubrega (Vero), svinjskog bubrega (PK-15) te embrionalnih fibroblasta guske (GEF).<sup>49</sup> Također, virus se može izolirati u alantoisnoj vrećici oplodjenoga



Slika 1. *Rasprostranjenost usutskog virusa na području Hrvatske (2011.–2013.)*

Figure 1. *Distribution of Usutu virus in Croatia (2011–2013)*

gušćeg jajeta i mišjoj sisančadi. RNK USUV-a može se dokazati u serumu i cerebrospinalnom likvoru metodom RT-PCR.<sup>50,51</sup> U klasičnom se RT-PCR-testu rabe početnice usmjerene prema E-genu, a u RT-PCR u stvarnom vremenu početnice usmjerene na NS3 i NS5-gen.<sup>40</sup> U usporedbi s klasičnom metodom RT-PCR u stvarnom vremenu ima veću osjetljivost i specifičnost, moguće je kvantitativno odrediti broj kopija virusne RNK te je manja mogućnost kontaminacije uzorka.<sup>52</sup> Budući da je u ljudi viremija kratkotrajna s niskom razinom virusa, dijagnoza se obično potvrđuje serološkim metodama (ELISA, imunofluorescentni test – IFA). Zbog mogućih križnih reakcija s drugim pripadnicima roda *Flavivirus* od kojih su na području Hrvatske prošireni virus KE i ZNV, pozitivne rezultate ELISA-testa potrebno je potvrditi neutralizacijskim testovima (VNT).<sup>53–55</sup> Iako su neutralizacijska protutijela tipno specifična, i kod ovih su testova moguće križne reakcije. Virusi koji pripadaju istomu serokompleksu kao, npr., USUV i ZNV imaju oko 80% identičnih aminokiselina u E-proteinu odgovornom za tvorbu neutralizacijskih protutijela. U slučaju križne reaktivnosti, četverostruki ili veći titar protutijela na USUV u odnosu na titar heterolognih protutijela potvrđuje infekciju. Virusi koji pripadaju različitim serokompleksima kao, npr., USUV i virus KE imaju oko 40% identičnih aminokiselina u E-proteinu zbog čega obično izostaju križne reakcije u VNT-u.<sup>53,54,56,57</sup> Za izvođenje neutralizacijskih testova potrebna je razina biosigurnosti 3. stupnja te se oni većinom izvode u referentnim laboratorijima. Protutijela na USUV mogu se dokazati i testom inhibicije hemaglutinacije (USUV aglutinira eritrocite guske pri pH 6,2–6,4) no ovaj je test manje specifičnosti od VNT-a.<sup>40</sup>

### Prevenција i programi kontrole infekcije usutskim virusom

S obzirom na to da ne postoji cjepivo, izuzetno su važne nespecifične mjere prevencije bolesti. Uz kontrolu populacije komaraca adulticidnim i larvicidnim dezinfekcijskim mjerama kako bi se smanjila mogućnost prijenosa bolesti, poseban naglasak treba staviti na mjere osobne zaštite od komaraca. Pri boravku na otvorenome savjetuje se nanošenje repelenata na kožu, nošenje odjeće dugih rukava i nogavica, izbjegavanje boravka na otvorenome u razdoblju najveće aktivnosti komaraca, primjena zaštitnih mreža na prozorima i vratima te uklanjanje vode iz okućnice.<sup>58</sup>

Program kontrole proširenosti i prosudbe rizika od infekcije USUV-om do sada nije uspostavljen ni u jednoj europskoj državi zbog još nedostatne istraženosti značenja ovog virusa za zdravlje ljudi. Međutim, budući da USUV pripada istoj skupini virusa kao i ZNV, uz iste epidemiološke značajke (prirodni ciklus prijenosa, sporadični prijenos komarcima na ljude i životinje) u sustavu kontrole proširenosti ZNV-a istodobno se prikupljaju podaci o proširenosti ovog emergentnog uzročnika.<sup>59</sup> Uspostava sustava kontrole ZNV-a pretraživanjem sentinelnih životinja, prije svega konja i domaće peradi te pretraživanjem komaraca koje se provodi u svrhu prikupljanja podataka o proširenosti ZNV-a, dokazala se vrlo uspješnom za javno zdravstvo i na području Hrvatske.<sup>60–62</sup> Ovaj program kontrole omogućuje istodobno prikupljanje podataka i o proširenosti USUV-a što je potvrđeno i dokazom prisutnosti USUV-a u Hrvatskoj u konja i ljudi.

S obzirom na rasprostranjenost USUV-a u našem okružju, pojava ovog virusa u Hrvatskoj bila je očekivana, a njegovo značenje za zdravlje ljudi bit će područje budućih istraživanja. Upoznavanje stručne javnosti s mogućnošću pojave

kliničkih oboljenja u ljudi od iznimnog je značenja zbog diferencijalne dijagnostike u odnosu na sve prošireniji ZNV.

### LITERATURA

1. Williams MC, Simpson DI, Haddow AJ, Knight EM. The isolation of West Nile Virus from man and of Usutu virus from the bird-biting mosquito *Mansonia aurites* (Theobald) in the Entebbe area of Uganda. *Ann Trop Med Parasitol* 1964;58:367–74.
2. Odelola HA, Fabiyi A. Antigenic relationships among Nigerian strains of West Nile virus by complement fixation and agar gel precipitation techniques. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1976;70:138–44.
3. Nikolay B, Diallo M, Boye CSB, Sall AA. Usutu virus in Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011;11:1417–23.
4. Adam F, Digoutte JP. Virus d'Afrique, base de données (in French), Centre collaborateur OMS de référence et de recherche pour les arbovirus et les virus de fièvres hémorragiques (CRORA). Institut Pasteur de Dakar. 2007. Dostupno na adresi: <http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA>, preuzeto 25.2.2014.
5. CRORA: African arboviruses database. Dostupno na adresi: [www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA/biblio/b619.htm](http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA/biblio/b619.htm), preuzeto 19.3.2014.
6. Weissenböck H, Kolodziejek J, Url A, Lussy H, Rebel-Bauder B, Nowotny N. Emergence of Usutu virus, an African mosquito borne flavivirus of the Japanese encephalitis virus group, central Europe. *Emerg Infect Dis* 2002;8:652–6.
7. Weissenböck H, Bakonyi T, Rossi G, Mani P, Nowotny N. Usutu virus, Italy, 1996. *Emerg Infect Dis* 2013;19:274–7.
8. Calisher CH, Gould EA. Taxonomy of the virus family Flaviviridae. *Adv Virus Res* 2003; 59:1–19.
9. Lindenbach BD, Thiel HJ, Rice CM. Flaviviridae: The viruses and their replication. U: Knipe DM, Howley PM, ur. *Fields Virology*. 5. izd. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007, str. 1101–51.
10. Peletto S, Lo Presti A, Modesto P i sur. Genetic diversity of Usutu virus. *New Microbiol* 2012;35:167–74.
11. Nikolay B, Diallo M, Faye O, Boye CSB, Sall AA. Vector competence of *Culex neavei* (Diptera: Culicidae) for Usutu virus. *Am J Trop Med Hyg* 2012;86:993–6.
12. Tamba M, Bonilauri P, Bellini R i sur. Detection of Usutu virus within a West Nile virus surveillance program in Northern Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011;11:551–7.
13. Calzolari M, Bonilauri P, Bellini R i sur. Usutu virus persistence and West Nile virus inactivity in the Emilia-Romagna region (Italy) in 2011. *PLoS One* 2013;8:e63978.
14. Busquets N, Alba A, Allepuz A, Aranda C, Ignacio Nuñez J. Usutu virus sequences in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), Spain. *Emerg Infect Dis* 2008;14:861–3.
15. Vazquez A, Ruiz S, Herrero L i sur. West Nile and Usutu viruses in mosquitoes in Spain, 2008–2009. *Am J Trop Med Hyg* 2011;85:178–81.
16. Sanchez-Seco MP, Vazquez A. Emergence of novel viruses (Toscana, Usutu) in population and climate change. U: Singh SK, ur. *Viral infections and global change*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons; 2013, str. 535–5.
17. Chvala S, Kolodziejek J, Nowotny N, Weissenböck H. Pathology and viral distribution in fatal Usutu virus infections of birds from the 2001 and 2002 outbreaks in Austria. *J Comp Pathol* 2004;131:176–85.
18. Garigliani MM, Marlier D, Tenner-Racz K, i sur. Detection of Usutu virus in a bullfinch (*Pyrrhula pyrrhula*) and a great spotted woodpecker (*Dendrocopos major*) in north-west Europe. *Vet J* 2014;199:191–3.
19. Chvala S, Bakonyi T, Hackl R, Hess M, Nowotny N, Weissenböck H. Limited pathogenicity of Usutu virus for the domestic goose (*Anser anser f. domestica*) following experimental inoculation. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2006;53:171–5.
20. Chvala S, Bakonyi T, Hackl R, Hess M, Nowotny N, Weissenböck H. Limited pathogenicity of Usutu virus for the domestic chicken (*Gallus domesticus*). *Avian Pathol* 2005;34:392–5.
21. Weissenböck H, Bakonyi T, Chvala S, Nowotny N. Experimental Usutu virus infection of suckling mice causes neuronal and glial cell apoptosis and demyelination. *Acta Neuropathol* 2004;108:453–60.
22. Chvala S, Bakonyi T, Bukovsky C, i sur. Monitoring of Usutu virus activity and spread by using dead bird surveillance in Austria, 2003–2005. *Vet Microbiol* 2007;122:237–45.
23. Weissenböck H, Erdelyi K. Usutu virus infection. U: Gavier-Widen D, Duff JP, Meredith A, ur. *Infectious diseases of wild mammals and birds in Europe*. Chichester: Wiley-Blackwell; 2012, str. 128–45.
24. Bakonyi T, Gould EA, Kolodziejek J, Weissenböck H, Nowotny N. Complete genome analysis and molecular characterization of Usutu virus that emerged in Austria in 2001: comparison with the South African strain SAAR-1776 and other flaviviruses. *Virology* 2004;328:301–10.
25. Meister T, Lussy H, Bakonyi T i sur. Serological evidence of continuing high Usutu virus (Flaviviridae) activity and establishment of herd immunity in wild birds in Austria. *Vet Microbiol* 2008;127:237–48.
26. Bakonyi T, Erdelyi K, Ursu K i sur. Emergence of Usutu virus in Hungary. *J Clin Microbiol* 2007;45:3780–4.

27. Buckley A, Dawson A, Moss SR, Hinsley SA, Bellamy PE, Gould EA. Serological evidence of West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus infection of birds in the UK. *J Gen Virol* 2003;84:2807–17.
28. Hubálek Z, Rudolf I, Capek M, Bakonyi T, Betášová L, Nowotny N. Usutu Virus in Blackbirds (*Turdus merula*), Czech Republic, 2011–2012. *Transbound Emerg Dis* 2012; doi: 10.1111/tbed.12025.
29. Jöst H, Bialonski A, Maus D, i sur. Isolation of Usutu Virus in Germany. *Am J Trop Med Hyg* 2011;85:551–3.
30. Becker N, Jöst H, Ziegler U i sur. Epizootic emergence of Usutu virus in wild and captive birds in Germany. *PLoS One* 2012;7(2):e32604.
31. Calzolari M, Gaibani P, Bellini RI i sur. Mosquito, bird and human surveillance of West Nile and Usutu viruses in Emilia-Romagna region (Italy) in 2010. *PLoS One* 2012;7:e38058.
32. Calzolari M, Bonilauri P, Bellini R i sur. Arboviral survey of mosquitoes in two northern Italian regions in 2007 and 2008. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010;10:875–84.
33. Höfle U, Gamino V, Fernández de Mera IG i sur. Usutu virus in migratory song thrushes, Spain. *Emerg Infect Dis* 2013;19:1173–5.
34. Llorente F, Pérez-Ramírez E, Fernández-Pinero J, Sorriquer R, Figueroa J, Jiménez-Clavero MA. Flaviviruses in game birds, southern Spain, 2011–2012. *Emerg Infect Dis* 2013;19:1023–5.
35. Steinmetz HW, Bakonyi T, Weissenböck H i sur. Emergence and establishment of Usutu virus infection in wild and captive avian species in and around Zurich, Switzerland-genomic and pathologic comparison to other central European outbreaks. *Vet Microbiol* 2011;148:207–12.
36. Savini G, Monaco F, Terregino C i sur. Usutu virus in Italy: An emergence or a silent infection. *Vet Microbiol* 2011;151:264–74.
37. Brugger K, Rubel F. Simulation of climate-change scenarios to explain Usutu-virus dynamics in Austria. *Prev Vet Med* 2009;88:24–31.
38. Pecorari M, Longo G, Gemari W i sur. First human case of Usutu virus neuroinvasive infection, Italy, August-September 2009. *Euro Surveill* 2009;14:pii=19446.
39. Cavrini F, Gaibani P, Longo G i sur. Usutu virus infection in a patient who underwent orthotopic liver transplantation, Italy, August-September 2009. *Euro Surveill* 2009;14:pii=19448.
40. Weissenböck H, Chvala-Maansberger S, Bakonyi T, Nowotny N. Emergence of Usutu virus in Central Europe: diagnosis, surveillance and epizootiology. U: Takken W, Knols BGJ, ur. *Emerging pests and vector-borne diseases in Europe*. Wageningen: Academic Publishers; 2007, str. 153–68.
41. Allering L, Jöst H, Emmerich P i sur. Detection of Usutu virus infection in a healthy blood donor from south-west Germany, 2012. *Euro Surveill* 2012;17:pii=20341.
42. Gaibani P, Pierro A, Alicino R i sur. Detection of Usutu-virus-specific IgG in blood donors from Northern Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2012;12:431–3.
43. Pierro A, Gaibani P, Spadafora C i sur. Detection of specific antibodies against West Nile and Usutu viruses in healthy blood donors in northern Italy, 2010–2011. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:E451–3.
44. Barbic L, Vilibić-Čavlek T, Listes E i sur. Demonstration of Usutu virus antibodies in horses, Croatia. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2013;13:772–4.
45. Vilibić-Čavlek T, Stevanovic V, Pem-Novosel I i sur. A serologic survey of West Nile virus and Usutu virus in Croatia. 24th ECCMID, Barcelona, Spain, 10–13 May, 2014. P0434
46. Vilibić-Čavlek T, Kaic B, Barbic Lj i sur. First evidence of simultaneous occurrence of West Nile virus and Usutu virus neuroinvasive disease in humans in Croatia during the 2013 outbreak. *Infection* 2014;42:689–95.
47. Santini M, Vilibić-Čavlek T, Barsic B i sur. First cases of human Usutu virus neuroinvasive infection in Croatia, August-September 2013: clinical and laboratory features. *J Neurovirol* 2014; doi: 10.1007/s13365-014-0300-4.
48. Pem-Novosel I, Vilibić-Čavlek T, Gjenero-Margan I i sur. First outbreak of West Nile virus neuroinvasive disease in humans, Croatia, 2012. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2014;14:82–4.
49. Bakonyi T, Lussy H, Weissenböck H, Hornyak A, Nowotny N. In vitro host-cell susceptibility to Usutu virus. *Emerg Infect Dis* 2005;11:298–301.
50. Cavrini F, Della Pepa ME, Gaibani P i sur. A rapid and specific real-time RT-PCR assay to identify Usutu virus in human plasma, serum, and cerebrospinal fluid. *J Clin Virol* 2011;50:221–3.
51. Nikolay B, Weidmann M, Dupressoire A i sur. Development of a Usutu virus specific real-time reverse transcription PCR assay based on sequenced strains from Africa and Europe. *J Virol Methods* 2014;197:51–4.
52. Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS i sur. Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *J Clin Microbiol* 2000;38:4066–71.
53. Kuno G. Serodiagnosis of flaviviral infections and vaccinations in humans. *Adv Virus Res* 2003;61:3–65.
54. Stiasny K, Aberle SW, Heinz FX. Retrospective identification of human cases of West Nile virus infection in Austria (2009 to 2010) by serological differentiation from Usutu and other flavivirus infections. *Euro Surveill* 2013;18:pii=20614.
55. Vilibić-Čavlek T, Barbic Lj, Ljubic-Sternak S i sur. Infekcija virusom Zapadnog Nila: re-emergentna bolest u Hrvatskoj. *Liječ Vjesn* 2013;135:156–61.
56. Sonnleitner ST, Simeoni J, Baumgartner R i sur. The spreading of flaviviruses over the continental divide: a challenge for serologic diagnostics. *J Med Microb Diagn* 2013;S3:002. doi:10.4172/2161-0703.S3-002
57. Yeh JY, Lee JH, Park JY i sur. A diagnostic algorithm to serologically differentiate West Nile virus from Japanese encephalitis virus infections and its validation in field surveillance of poultry and horses. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2012;12:372–9.
58. Pauli G, Bauerfeind U, Blümel J i sur. Usutu virus. *Transfus Med Hemother* 2014;41:73–82.
59. Vazquez A, Jimenez-Clavero M, Franco L i sur. Usutu virus: potential risk of human disease in Europe. *Euro Surveill* 2011;16:pii=19935.
60. Barbic L, Listeš E, Katić S i sur. Spreading of West Nile virus infection in Croatia. *Vet Microbiol* 2012;159:504–8.
61. Barbic Lj, Stevanovic V, Vilibić-Čavlek T, i sur. Serosurveillance of WNV in horses – useful tool for public health. 24th ECCMID, Barcelona, Spain, 10–13 May, 2014. P0449
62. Vilibić-Čavlek T, Barbic Lj, Pem-Novosel I i sur. Usutu virus u Hrvatskoj: novi virus – već viden scenarij. U: Barbic Lj, Vilibić-Čavlek T, Hadina S, ur. *Emergentni i re-emergentni flavivirusi – zajednički izazov i odgovornost humane i veterinarske medicine*. Zagreb: Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2014, str. 43–47.



## Vijesti News

*Poštovani čitatelji, dragi kolege!*

Veliko nam je zadovoljstvo upoznati Vas s mogućnosti da prva godišta Liječničkog vjesnika od 1877. do 1917. godine pročitate u elektroničkom obliku na web adresi: [www.hlz.hr](http://www.hlz.hr).

*Urednički odbor LV-a*