

VIRUS KRPELJNOG ENCEFALITISA: EPIDEMIOLOŠKA I KLINIČKA SLIKA, DIJAGNOSTIKA I PREVENCIJA

TATJANA VILIBIĆ-ČAVLEK, LJUBO BARBIĆ¹, NENAD PANDAK², IVA PEM-NOVOSEL³, VLADIMIR STEVANOVIĆ¹, BERNARD KAIČ³ i GORDANA MLINARIĆ-GALINOVIĆ

Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Odjel za virologiju; ¹Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Zagreb; ²Sveučilište u Osijeku, Medicinski fakultet, Opća bolnica "Dr. Josip Benčević", Odjel za infektologiju, Slavonski Brod i ³Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Služba za epidemiologiju, Zagreb, Hrvatska

Virus krpeljnog encefalitisa (KE) je mali, ovijeni virus koji pripada porodici *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus*, serokompleksu krpeljnog encefalitisa. Postoje tri podtipa virusa KE: europski, dalekoistočni i sibirski koji se razlikuju po zemljopisnoj rasprostranjenosti, vektoru i kliničkom očitovanju infekcije u ljudi. Bolest je rasprostranjena na širokom području od srednje Europe i Skandinavskog poluotoka do Japana. Virus KE se održava endemski u tzv. prirodnim žarištima gdje obitavaju rezervoari (mali glodavci) i vektori (krpelji roda *Ixodes*). *I. ricinus* je vektor europskog podtipa, a *I. persulcatus* dalokoistočnog i sibirskog podtipa virusa. Virus se u krpeljima prenosi transtadijski i transovarijski pa oni predstavljaju i rezervoare infekcije.

Infekcija u ljudi najčešće nastaje nakon uboda zaraženog krpelja, ali je moguća i konzumacijom mlijeka i mliječnih proizvoda od zaraženih životinja. U tipičnom obliku bolest uzrokovana europskim podtipom virusa KE ima bifazičan tijek (50-77 % inficiranih). Prva je faza obilježena nespecifičnim simptomima nakon koje slijedi asimptomsko razdoblje nakon čega se u oko 20-30 % oboljelih pojavljuju znaci infekcije središnjeg živčanog sustava (meningitis, encefalitis, mijelitis, radikulitis). Mortalitet iznosi 1-2 %. Dijagnoza se obično potvrđuje serološkim metodama (imunoenzimni test, indirektni imunofluorescentni test, neutralizacijski test redukcije plakova). U Hrvatskoj je u razdoblju od 1993. do 2013. godine prijavljeno ukupno 777 slučajeva KE. Bolest je endemska u sjeverozapadnim županijama (prosječna incidencija 3,61-6,78/100 000 stanovnika). Većina oboljelih su osobe starije od 20 godina (88 %). Najveći je broj infekcija (73 %) zabilježen u razdoblju od svibnja do srpnja.

Ključne riječi: virus krpeljnog encefalitisa, epidemiologija, klinička slika, dijagnostika, prevencija

Adresa za dopisivanje: Prim. dr. sc. Tatjana Vilibić-Čavlek, dr. med.
Odjel za virologiju
Hrvatski zavod za javno zdravstvo
Rockefellerova 12
10 000 Zagreb, Hrvatska
E-pošta: tatjana.vilibic-cavlek@hzjz.hr

POVIJESNI PREGLED

Prvi opisi krpeljnog encefalitisa (KE) potječu iz 18. stoljeća u crkvenim zapisima na Aalandskom otočju u Finskoj. Austrijski liječnik Schneider je 1931. godine opisao epidemije akutnog seroznog meningitisa s redovitim sezonskim pojavljivanjem (1). Virus KE je prvi puta izolirao Lev Zilber 1937. godine u Rusiji iz krpelja *Ixodes (I.) persulcatus*, a bolest je nazvana "ruski proljetno-ljetni encefalitis" (2). U srednjoj je Europi virus izoliran 1948. godine iz oboljele osobe na području

Čehoslovačke (3), a nedugo zatim iz krpelja *I. ricinus* (4). Retrogradni su podatci pokazali opise slične bolesti i u brojnim drugim europskim državama nekoliko desetljeća prije prve izolacije virusa. U Čehoslovačkoj je ova bolest bila poznata kao "epidemijski encefalitis". Nedugo nakon detekcije u Čehoslovačkoj, virus KE je izoliran na širokom području Euroazije (1952. godine u Mađarskoj, 1954. godine u Poljskoj i Bugarskoj, 1955. godine u Austriji, 1959. godine u Rumunjskoj, 1960. godine u Njemačkoj, a istodobno i na području Finske i Švedske te sjeverne Kine i Japana) (4).

GRAĐA I BIOLOŠKE OSOBITOSTI VIRUSA KRPELJNOG ENCEFALITISA

Virus KE je mali (40-60 nm), kuglasti, ovijeni virus koji pripada porodici *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus*, serokompleksu krpeljnog encefalitisa. Genom čini jednolančana pozitivna (+) RNK koja kodira tri strukturna proteina: protein nukleokapside (C), glikoprotein ovojnice (E) i membranski protein (M) te sedam nestrukturnih proteina: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5 (5). Glikoprotein E odgovoran je za adsorpciju virusa na stanicu domaćina te fuziju virusne ovojnice sa staničnom membranom tijekom procesa umnožavanja. Nadalje, E protein izaziva tvorbu neutralizacijskih protutijela koja imaju zaštitnu ulogu (6), a čini se da istu ulogu imaju i protutijela stvorena na NS1 protein (7).

Na temelju filogenetske analize dokazana su tri podtipa virusa KE: europski, dalekoistočni i sibirski podtip koji se međusobno razlikuju 3,6-5,6 % u slijedu nukleotida (8). Analize nukleotidnih sekvenci različitih izolata pokazale su da europski podtip virusa KE ne pokazuje značajne antigene varijacije za razliku od dalekoistočnog i sibirskog podtipa u kojih je dokazana genetska heterogenost (9). Kod sibirskog su podtipa opisane dvije genetičke linije: "sibirska" koja uključuje sojeve izolirane na području Sibira i "baltička" koja uključuje sojeve s područja oko Baltičkog mora, Estonije, Latvije i Finske (10). U novije su vrijeme izolirane varijante virusa na području Irkutskaja, istočnog Sibira, Rusije i Mongolije koje ne pripadaju niti jednom podtipu (11).

Umnožavanje virusa odvija se u citoplazmi inficiranih stanica. Nakon vezanja glikoproteina E za stanični receptor, virus u stanicu ulazi endocitozom. Niski pH u endosomu uzrokuje konformacijske promjene E proteina, nakon čega dolazi do fuzije virusne ovojnice s membranom endosoma i otpuštanja RNK u citoplazmu. Genom djeluje kao mRNK i prevodi se u poliprotein. Zatim se sintetizira negativan (-) lanac RNK, koji služi kao kalup za sintezu pozitivnog (+) lanca genoma. Novosintetizirana genomska RNK spaja se s proteinom kapside i tvori nukleokapsidu. Virus dobiva ovojnicu pupanjem kroz citoplazmatske vakuole, a iz stanice se oslobađa egzocitozom ili lizom (5).

Virus KE razlikuje se od ostalih članova roda prema otpornosti na kiselu sredinu (u želučanom soku infektivnost ostaje očuvana do 2 sata) zbog čega je moguća infekcija mlijekom zaraženih životinja. Virus je infektivan u mlijeku pri 4°C dva tjedna, a u maslacu 60 dana. Grijanjem mlijeka titar virusa se smanjuje, ali tek pasterezacija učinkovito inaktivira virus (12).

PRIRODNI CIKLUS VIRUSA KRPELJNOG ENCEFALITISA

U prirodnom ciklusu prijenosa virus KE se održava zahvaljujući trajno inficiranim vektorima i rezervoarima između kojih se, tijekom hranjenja krpelja, uzročnik može prenositi u oba smjera (13). Iako je dokazano da najmanje 16 vrsta krpelja može prenositi virus KE, za održavanje virusa u prirodi značajne su dvije vrste: *I. ricinus* - vektor europskog podtipa te *I. persulcatus* - vektor dalekoistočnog i sibirskog podtipa virusa. U svom razvojnem ciklusu krpelj prolazi kroz tri oblika: larva, nimfa i odrasli oblik. Obrok krvi nužan je krpeljima u svakoj razvojnoj fazi te se hrane tri puta na različitim domaćinima. Larve i nimfe uobičajeno se hrane na malim šumskim glodavcima (miševi, voluharice), a adulti na većim divljim (jeleni, lisice) i domaćim životinjama (koze, ovce, goveda). U krpeljima se virus prenosi transstadijski i transovarijski zbog čega je moguć prijenos uzročnika na sljedeće generacije (14). Uz infekcije krpelja tijekom hranjenja na viremičnim životinjama dokazan je i prijenos virusa između inficiranih i neinficiranih krpelja tijekom istodobnog hranjenja na imunim mišolikim glodavcima u kojih nije bila detektibilna viremija (15).

Endemsko održavanje virusa omogućuju životinjski rezervoari, od kojih su najznačajniji mišoliki glodavci. U glodavaca je dokazana mogućnost vertikalnog prijenosa virusa KE transplacentno ili preko mlijeka (16). Raznolikost putova prenošenja uzročnika u prirodnom ciklusu prijenosa objašnjava endemsko pojavljivanje bolesti na određenim područjima kao i kompleksnost mjera prevencije i suzbijanja KE. Veliki broj domaćih i divljih životinja može biti inficiran virusom KE. Od domaćih životinja, klinički oblici bolesti opisuju se sporadično u pasa (17) i konja (18) u kojih je dokazana kratkotrajna niska viremija te nisu izravno izvor infekcije za ljude. Supkliničke infekcije domaćih preživača imaju znatno veće značenje za zdravlje ljudi jer se uzročnik može izlučivati mlijekom te je u posljednje vrijeme sve veći broj opisanih epidemija KE nastalih konzumacijom nepasteriziranog mlijeka i mliječnih proizvoda od inficiranih koza i goveda (19-22). Stoga je virus KE značajan uzročnik u humanoj medicini i s aspekta sigurnosti hrane. Ljudi nakon infekcije imaju nisku razinu viremije te su slučajni krajnji domaćini (23).

EPIDEMIOLOGIJA KRPELJNOG ENCEFALITISA

KE se pojavljuje endemski na širokom području od srednje Europe i Skandinavskog poluotoka do Japana. Godišnje se u svijetu bilježi 10,000-15,000 slučajeva KE, od čega ~3,000 na području Europe (24,25). U

posljednja je dva desetljeća opažen porast incidencije KE u endemskim područjima, ali i pojava sporadičnih slučajeva izvan endemskih područja. U područja vrlo visokog rizika (incidencija veća od 10/100,000) spadaju Rusija, Estonija, Latvija, Litva, Češka i Slovenija (26). Visoku incidenciju KE bilježe i Njemačka, Poljska, Švicarska, Finska, Slovačka i Mađarska (4, 27, 28). Kao mogući čimbenici koji utječu na porast incidencije KE navode se klimatske promjene (progresivno globalno zatopljenje) što uzrokuje povećanje populacije rezervoara i vektora (29,30), migracije stanovništva u prigradska područja te promjene navika ljudi - češći boravak i aktivnosti u prirodi (31). Vremenske i prostorne promjene temperature, količina oborina i vlažnost zraka imaju s velikom vjerojatnošću značajan učinak na biologiju i ekologiju krpelja (32). Nadalje, pojavljuju se nova endemska žarišta. Ranija su epidemiološka istraživanja dokazala pojavnost krpelja na nadmorskim visinama do 800 m (33), dok noviji podatci na području srednje Europe i Švedske ukazuju na širenje staništa krpelja na veće nadmorske visine (do 1,500 m) (19,34,35). U Kirgistanu su endemska žarišta zabilježena čak i na visinama do 2,100 m (36). U širenju virusa na nova područja važnu ulogu imaju ptice selice koje prenose zaražene krpelje, iako one zbog niske viremije nisu značajni rezervoari bolesti (37). Premda se većina infekcija pojavljuje nakon boravka u endemskim područjima, sve se češće spominju infekcije nastale u urbanim područjima (gradskim parkovima, vrtovima), a opisane su i infekcije nastale nehotičnim unošenjem krpelja na odjeći ili na samoniklom cvijeću (38).

Austrija je jedina europska zemlja s progresivnim smanjenjem incidencije KE. Prije uvođenja nacionalne imunizacijske kampanje 1981. godine, u Austriji je godišnje bilježeno oko 600 slučajeva (33), dok je 2010. godine dijagnosticirano svega 58 slučajeva KE (39).

Za infekciju virusom KE karakteristična je sezonska pojavnost, vezana uz aktivnost vektora. U središnjoj Europi, vrijeme maksimalne aktivnosti krpelja *I. ricinus* je tijekom travnja i svibnja te ponovno u rujnu i listopadu (40), dok je *I. persulcatus* najaktivniji od kraja travnja do početka lipnja. Pojedina europska endemska žarišta, kao npr. sjeverna Europa, ali i neke zemlje srednje Europe kao Njemačka, Češka i Poljska, bilježe samo jedan godišnji maksimum pojave KE tijekom ljetnih mjeseci (srpanj-kolovoz) (41). Češće oboljevaju osobe iz seoskih sredina, šumski radnici, lovci, vojnici i ostali koji posjećuju prirodna žarišta (izletnici) (4,42). Prevalencija inficiranih krpelja *I. ricinus*, ovisno o zemljopisnom području iznosi od 0,1-5 %, a krpelja *I. persulcatus* u pojedinim dijelovima Rusije i do 40 % (12).

EPIDEMIOLOGIJA KRPELJNOG ENCEFALITISA U HRVATSKOJ

U Hrvatskoj je KE prvi puta opisan 1953. godine u okolici Križevaca (Stara Ves) (43). Uz panonsko žarište nakon 1961. godine dokazana su i druga žarišta u kontinentalnoj Hrvatskoj (Bjelovar, Pakrac, Koprivnica, Karlovac, Varaždin) kao i nekoliko manjih mediteranskih žarišta u okolici Zadra, Pule i zaseoku Nadsela na otoku Braču. Prvi klinički slučajevi u blizini Zagreba opisani su 1968. godine na Medvednici (44), a 1991. godine je dokazano novo žarište KE u Gorskom kotaru (45).

Seroprevalencija KE u ljudi i životinja na području Hrvatske prati se od pojave prvih kliničkih slučajeva. U razdoblju od 1961. do 1964. godine, Stara Ves je i dalje bila aktivno žarište KE na što ukazuje visok stupanj prokuženosti ljudi (32,14 %) i životinja (konji 86,96 %; krave 53,73 %) (46). Na istom su području 1972. godine neutralizacijska protutijela dokazana u 47,50 % humanih i 59,49 % životinjskih seruma (47). U razdoblju od 1962. do 1977. godine u žarištu na području Nadsela, seropozitivitet u ljudi iznosio je 22,43 %, a u ovaca 56,09 % (48). Nadalje, metodom reakcije vezanja komplementa i inhibicijom hemaglutinacije specifična protutijela za KE dokazana su 1976. godine u 10-33 % stanovnika sjeverozapadne Hrvatske, 2,9 % stanovnika istočne te 0,8 % stanovnika sjeverne Hrvatske (49). Seroprevalencija KE ispitivana je i na području srednje Dalmacije (Zadar, okolica Splita, otok Brač) gdje je 1980. godine seropozitivno bilo 2,41 % ispitanika. Seropozitivne su osobe (2,63 %) dokazane i na području južne Dalmacije, od Slanog do Čilipa (50). U istraživanjima provedenim 1998-1999. godine protutijela na virus KE nađena su u 1,17 % stanovnika Hvara te 1,41 % stanovnika Mljeta (51). U Međimurskoj je županiji je 1997. godine seroprevalencija iznosila 3 %, a 2007. godine na istom području 16 % (52). Seroepidemiološko istraživanje provedeno u šumskih radnika u hrvatskoj srednjoj Posavini pokazalo je seroprevalenciju od 4,41 % (53).

Prisustvo virusa KE dokazano je i u krpeljima. Iz krpelja sakupljenih u prirodnim žarištima u sjeverozapadnim (okolica Križevaca, Medvednica) i istočnim (okolica Vinkovaca, Donjeg Miholjca) dijelovima Hrvatske, stopa zaraženosti je 1976. godine iznosila 3,8 % odnosno 0,5 % (54). U nedavno objavljenom istraživanju, identifikacijom vrste krpelja koji su parazitirali na lisicama (*Vulpes vulpes*), dokazano je da je *I. ricinus* daleko najzastupljenija vrsta krpelja u kontinentalnoj Hrvatskoj što potvrđuje epidemiološku osnovu za endemsko pojavljivanje KE na tom području. U istom je istraživanju opisan dokaz virusa KE u 7 skupnih uzoraka krpelja uzorkovanih s lisica na području Varaždinske i Zagrebačke županije te u slezeni dva jele-

na (*Cervus elaphus*) s područja Osječko-baranjske te Vukovarsko-srijemske županije (55). Prevalencija virusa u uzorcima krpelja podjednaka je ili nešto viša u odnosu na druga endemska područja Europe (25). Filogenetska je analiza pokazala da svi detektirani virusi pripadaju europskom podtipu virusa KE te da su genetski vrlo srodni što ponovno potvrđuje endemsku pojavu bolesti na području kontinentalne Hrvatske (55).

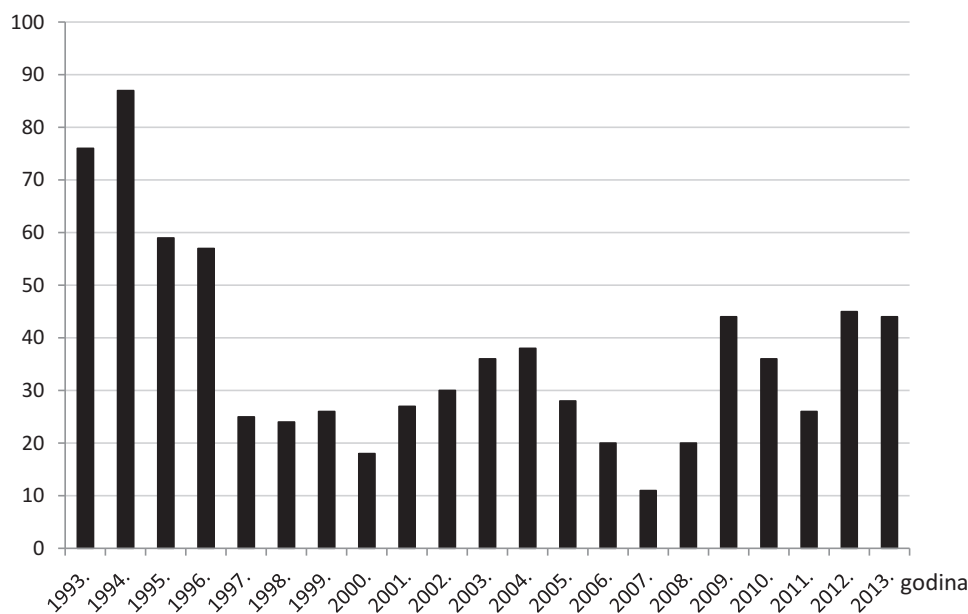
Prema podacima Referentnog centra za epidemiologiju Ministarstva zdravlja pri Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo, u Hrvatskoj je u razdoblju od 1993-2013. godine prijavljeno ukupno 777 oboljelih od KE, u rasponu od 11 do 87 godišnje (incidencija 0,20-1,90/100,000 stanovnika) (sl. 1). Najviša je incidencija KE zabilježena u sjeverozapadnim hrvatskim županijama (Koprivničko-križevačka, Bjelovarsko-bilogorska, Krapinsko-zagorska te Međimurska županija). Među oboljelima najmanji je udio djece predškolske dobi (2 %), djeca školske dobi i adolescenti čine 10 % oboljelih, nakon čega se opaža porast te je 88 % oboljelih u dobi starijoj od 20 godina. Prosječna je dobnog specifična incidencija najviša u dobi 50-59 (1,42/100,000) te 30-39 godina (1,01/100,000). Većina infekcija (73 %) zabilježena je u razdoblju od svibnja do srpnja (56, 57).

PATOGENEZA I PATOLOŠKE PROMJENE UZROKOVANE VIRUSOM KRPELJNOG ENCEFALITISA

Neuropatogenost virusa KE detaljno je istražena u životinja. Divlji sojevi virusa KE letalni su za miševe nakon intrakranijske ili periferne inokulacije. Jedna od značajki virusa KE je sposobnost izazivanja perzistentne infekcije na što upućuju degenerativne promjene u središnjem živčanom sustavu (SŽS). Intracerebralna ili intraspinalna inokulacija virusa u majmuna dovodi do razvoja encefalitisa, dok nakon supkutane inokulacije dolazi do viremije i serokonverzije, ali bez vidljivih znakova bolesti (58).

Infekcija u ljudi većinom nastaje tijekom uzimanja obroka krvi zaraženog krpelja, ali i konzumacijom nepasteriziranog mlijeka i mliječnih proizvoda od zaraženih životinja. Te su infekcije obično blaže s bifazičnim tijekom (19,21). Nadalje, opisano je nekoliko slučajeva laboratorijske infekcije nakon uboda kontaminiranom iglom (59) te inhalacijom infektivnog aerosola (60).

Svi razvojni oblici krpelja mogu prenositi virus. U čak ~30 % zaraženih ubod krpelja ostaje nezapažen. Virus KE se najprije umnaža na mjestu ulaska u organizam (Langerhansove stanice kože), a potom u regionalnim limfnim čvorovima nakon čega dolazi do viremije koja traje nekoliko dana. Hematogenim širenjem virus dolazi u retikuloendotelni sustav (slezina, jetra, koštana srž) gdje se nastavlja daljnje umnožavanje. Za vrijeme viremije virus KE prelazi krvno-moždanu barijeru i ulazi u SŽS. Primarno mjesto infekcije su neuroni, no stanični receptori kao i točan način ulaska u SŽS još uvijek nisu potpuno razjašnjeni. Dokazani su različiti receptori na stanicama kralježnjaka *in vitro*,



SL. 1. Broj prijavljenih slučajeva krpeljnog encefalitisa u Hrvatskoj u razdoblju 1993. do 2013. godine

kao npr. lamininski receptor na humanim embrionalnim stanicama te glikozaminoglikani (heparansulfat) (5). Mogući mehanizmi prijenosa virusa u SŽS su: a) putem neurona nakon infekcije perifernih živaca; b) infekcijom olfaktornih neurona; c) infekcijom endotela kapilara te transcitozom u moždani parenhim; d) difuzijom iz kapilarnih endotelih stanica kroz pojačano propusnu krvno-moždanu barijeru (58).

Najznačajnije patološke promjene kod KE uključuju edem i hiperemiju moždanog tkiva te difuzne mikroskopske lezije u gotovo svim dijelovima SŽS-a, posebno u meduli oblongati, ponsu, cerebelumu, moždanom deblu, bazalnim ganglijima, talamusu i kralježničnoj moždini. Lezije se nalaze u sivoj tvari i karakterizira ih perivaskularna infiltracija limfocita, nakupljanje stanica glije, nekroza neurona i neuronofagija. Promjenama su osobito zahvaćene Purkinjeove stanice maloga mozga te stanice prednjih rogova kralježnične moždine (61).

KLINIČKA SLIKA KRPELJNOG ENCEFALITISA

Bolest u čovjeka obično nastaje 7-14 dana nakon uboda krpelja, no inkubacija može iznositi od jednog do 28 dana. Seroepidemiološke studije pokazale su da u endemskim područjima 70-95 % humanih infekcija prolazi asimptomatski. Kod trećine zaraženih infekcija se očituje kao nespecifična febrilna bolest, s potpunim oporavkom. Pojedini podtipovi virusa KE pokazuju afinitet za određene dijelove SŽS-a što rezultira različitom kliničkom slikom (62). Učestalost pojedinih kliničkih oblika prikazana je u tablici 1 (26, 40, 63).

Tablica 1.
Klinička obilježja infekcije virusom krpeljnog encefalitisa (26,40,63)

Obilježje	Europski podtip	Dalekoistočni podtip	Sibirski podtip
Tijek bolesti	Bifazičan (50-77 %)	Monofazičan (~90 %)	Monofazičan (~80 %)
Učestalost kliničkih oblika			
Febrilna bolest	~70 %	14-16 %	40 %
Meningitis	20-30 % ^a	26 %	47 %
Encefalitis	20-30 % ^a	31-64 %	5 %
Trajne neurološke posljedice	20 %	60 %	20 % ^b
Mortalitet	1-2 %	20 % (5-35 %)	2-3 %

^a20-30 % oboljelih razvija infekciju središnjeg živčanog sustava; ^bu ~1,7 % zaraženih bolest prelazi u kronični oblik

U tipičnom obliku bolest uzrokovana europskim podtipom virusa KE ima bifazičan tijek (50-77 % zaraženih). U ostalih bolesnika prva faza izostaje te bolest započinje neurološkim simptomima. Prva faza bolesti

traje 1-8 dana i rezultat je viremije koja se pojavljuje nakon umnožavanja virusa na mjestu inokulacije. Tijekom ove faze bolesti bolesnici se tuže na nespecifične simptome uobičajene za akutne infektivne bolesti: umjereno povišenu tjelesnu temperaturu, bolove u mišićima, kostima i zglobovima te glavobolju. Nakon toga nastupa asimptomatsko razdoblje koje traje 2-10 dana nakon kojeg se u 20-30 % inficiranih pojavljuje druga faza bolesti obilježena naglim početkom s visokom temperaturom i znacima upale SŽS-a (meningitis, encefalitis, mijelitis, radikulitis), a rezultat je prodora virusa u SŽS (64, 65). Obično se u mlađih osoba razvijaju blaži oblici bolesti, dok se u bolesnika starijih od 60 godina mogu javiti teže kliničke slike meningitisa/encefalitisa/mijelitisa. Mortalitet iznosi 1-2 %, dok oko 20 % oboljelih ima blaže neuropsihijatrijske posljedice. Rekonvalescencija je obično produžena, obilježena glavoboljom i klonulošću (26).

Infekcija uzrokovana dalekoistočnim podtipom virusa KE obično ima monofazičan tijek. Klinička slika je teža nego kod europskog podtipa, često s encefalitičkim simptomima i višom smrtnošću (5-35 %). U 30-60 % preživjelih zaostaju trajne neurološke posljedice (mlohava paraliza ramenog pojasa i ruku, epilepsija) (65).

Kronična infekcija virusom KE opisana je u bolesnika zaraženih sibirskim podtipom virusa na području Sibira i ruskog Dalekog Istoka, kod kojih je virus izoliran i 10 godina nakon uboda krpelja (39). Smrtnost kod sibirskog podtipa virusa KE iznosi oko 2-3 % (66,67).

KLINIČKI OBLICI

Infekcija virusom KE može se očitovati kao blaga ili umjereno teška nespecifična febrilna bolest s potpunim oporavkom. Nešto rjeđe se manifestira kao subakutni meningoencefalitis s gotovo potpunim oporavkom ili umjerenim rezidualnim tegobama koje su prisutne duže vrijeme i koje postupno prestaju, a može se razviti i encefalitis ili encefalomijelitis s teškim i trajnim neurološkim posljedicama pa i smrću. Najrjeđe infekcija može imati kronični tijek s polaganim, ali stalnim pogoršanjima što rezultira nastankom trajnih oštećenja ili bolest ima smrtni ishod (68).

Febrilni se oblik bolesti ("febrilna glavobolja") pojavljuje u trećine oboljelih. Karakteriziran je visokom temperaturom do 39°C, jakom glavoboljom, ali bez neuroloških znakova te uz uredan nalaz u cerebrospinalnom likvoru (CSL). Kod ovog kliničkog oblika dolazi do potpunog oporavka.

Meningitis je praćen visokom temperaturom, glavoboljom, općom slabošću, mučninom povraćanjem

te vrtoglavicom. Oporavak je postupan tijekom 7-14 dana.

Meningoencefalitis se javlja rjeđe. Očituje se različitim stupnjevima poremećaja svijesti, nemirom, hiperkinezijom, tremorom, hemiparezom/hemiplegijom i epilepsijom. Karakterističan znak infekcije virusom KE je ataksija (68).

Meningoencefalomijelitis je najteži oblik bolesti koji se očituje parezama, obično 5-10 dana nakon razdoblja remisije. Pojavi pareza prethode jaki bolovi u ekstremitetima. Gornji ekstremiteti su zahvaćeni češće od donjih. Tijek bolesti je težak, a oporavak dugotrajan s trajnim oštećenjima u velikom broju oboljelih. U slučaju zahvaćanja produžene moždine i moždanog debla prognoza je vrlo loša sa smrtnim ishodom unutar 5-10 dana. U rijetkim se slučajevima mijelitis može pojaviti kao samostalna bolest.

Za poliradikulitis su karakteristična oštećenja perifernih živaca. Tijek bolesti je bifazičan. Žarišni neurološki ispadi pojavljuju se tijekom druge faze, no oporavak je obično potpun (40).

Postoje i pojedinačna izvješća o rijetkim kliničkim manifestacijama KE izvan SŽS-a kao što su hepatitis, pankreatitis i miokarditis (69).

Kronična infekcija virusom KE opisana je samo kod sibirskog podtipa virusa. Postoje dva oblika kronične infekcije. Prvi se oblik često definira kao dugotrajne posljedice nekog od akutnih oblika KE kod kojih dolazi do postupnog pogoršanja simptoma tijekom više mjeseci ili čak godina. Međutim, kronični oblik KE može početi i bez tipičnih simptoma akutne infekcije. U mnogim slučajevima dolazi do postupnog razvoja neuroloških simptoma nakon uboda zaraženog krpelja, ponekad i tijekom više godina (40).

LABORATORIJSKI NALAZI

U prvoj je fazi bolesti, u 10-20 % bolesnika prisutna neutropenija, trombocitopenija te povišene vrijednosti aminotransferaza. U drugoj se fazi u oko 75 % bolesnika nalazi leukocitoza u perifernoj krvi. Istodobno su u oko 80 % bolesnika nađene povišene vrijednosti C-reaktivnog proteina dok je ubrzana sedimentacija eritrocita (SE) nađena u više od 90 % bolesnika (70).

U CSL-u se nalazi pleocitoza koja u vrlo ranom stadiju bolesti može izostati. U početku bolesti, broj stanica može iznositi i do 1000/mm³ uz predominaciju polimorfonukleara što se može pogrešno protumačiti kao bakterijska infekcija. Ipak, u većine je bolesnika broj

stanica obično ispod 500/mm³ uz predominaciju mononukleara. Biokemijske analize pokazuju da su vrijednosti glukoze i laktata u CSL-u najčešće u granicama referentnih vrijednosti, dok su vrijednosti proteina umjereno povišene. Brojna su istraživanja pokazala da rezultati laboratorijskih testova ne koreliraju s prognozom KE (70).

ELEKTROENCEFALOGRAFSKI I NEURORADIOLOŠKI NALAZI

Nalaz elektroencefalograma (EEG) u akutnoj fazi bolesti u većine bolesnika (77 %) pokazuje difuznu usporenu aktivnost te spore žarišne disritmije (71). Kompjuteriziranom tomografijom (CT) mozga se rijetko mogu naći hipodenzne neoštro ograničene zone u zahvaćenim područjima dok je nalaz magnetske rezonancije (MR) mozga uredan u većine oboljelih. U istraživanju provedenom u Njemačkoj u skupini od 656 bolesnika s KE, patološki nalaz MR nađen je u 17,5 % bolesnika (71). Najčešće promjene na MR su zone povišenog signala koje mogu biti uni- ili bilateralne, fokalne ili difuzne i lokalizirane su uglavnom u području talamusa. Diferencijalno-dijagnostički treba isključiti demijelinizirajuće bolesti SŽS-a (72).

KLINIČKA SLIKA I LABORATORIJSKI NALAZI KRPELJNOG ENCEFALITISA U DJECE

U djece i adolescenata bolest je obično blažeg kliničkog tijeka, a težina bolesti kao i rizik trajnih posljedica rastu s dobi (66). Sklonost težem tijeku pokazuju djeca starija od 7 godina (73). Bolest se u oko 70 % oboljelih očituje kao meningitis s jakom glavoboljom i kočenjem šije (74). U manjem se postotku razvija meningoencefalitis s poremećajima svijesti od blage apatije do somnolencije uz ataksiju, tremor, hemiparezu, lezije kranijalnih i spinalnih živaca te epilepsiju (74, 75).

U rjeđim su slučajevima teška klinička slika i postencefalitički sindrom opisani i u djece (73,76). Od laboratorijskih se nalaza u oko 70 % djece oboljele od KE nalaze povišene vrijednosti CRP-a, leukocitoza te ubrzana SE. U gotovo sve djece se u početnom stadiju bolesti u CSL-u detektira pleocitoza s predominacijom neutrofila što može biti značajan diferencijalno-dijagnostički problem (74). Nadalje, djeca oboljela od KE češće imaju leukocitozu perifernje krvi i abnormalan EEG nalaz (75).

PROGNOZA

Prognoza u bolesnika oboljelih od KE s kliničkom slikom meningitisa općenito je dobra. Postencefalitički sindrom dokazan je u 35-50 % bolesnika s encefalitisom. Najčešće opisane prolazne neurološke posljedice su nemogućnost koncentracije, smetnje pamćenja, poremećaji vida te emocionalne smetnje (razdražljivost). Od ostalih simptoma često su prisutni glavobolja i disfazija, a nerijetko se u tih bolesnika pronalaze oštećenja sluha, tremor, poremećaj ravnoteže i nesigurnost u hodu. Od dugotrajnih posljedica (trajanje duže od godine dana) najčešće su zabilježeni ataksija, tremor te smetnje pamćenja (63). Mijelitis je obično udružen s encefalitisom moždanog debla i ima najlošiju prognozu. U 10-godišnjoj studiji praćenja bolesnika s mijelitičkim oblikom bolesti, 30 % bolesnika je završilo fatalno, dok su u 51 % zabilježene trajne posljedice (77).

DIJAGNOSTIKA VIRUSA KRPELJNOG ENCEFALITISA

Osnovne značajke metoda koje se koriste u dijagnostici virusa KE prikazane su u tablici 2 (78). Za vrijeme akutne febrilne faze virus se može izolirati iz krvi bolesnika inokulacijom u mišju sisančad ili stanične kulture. Također se molekularnim metodama (reverzna transkriptaza-lančana reakcija polimeraze; RT-PCR) može dokazati virusna RNK (79). Pomoću RT-PCR moguće je razlikovati podtip virusa, što je osobito važno u područjima gdje cirkulira više podtipova (80). Međutim, ove se metode rijetko koriste u rutinskoj dijagnostici budući da se bolesnici obično javljaju liječniku tek kada se pojave znaci infekcije SŽS-a, a tada virus više nije prisutan u krvi. Stoga se dijagnostika KE obično provodi serološkim metodama. Protutijela u serumu i likvoru su obično detektibilna pri pojavi neuroloških simptoma (81). Najčešće se koriste imunoenzimni test (ELISA) ili indirektni imunofluorescentni test (IFA) kojima se određuju IgM i IgG protutijela (82). U testu inhibicije hemaglutinacije određuju se ukupna protutijela te je za potvrdu dijagnoze potrebno dokazati dinamiku titra protutijela. Zbog mogućih križnih reakcija s drugim flavivirusima (virus Zapadnog Nila, virus dengue, Usutu virus, virus žute groznice i dr.), za potvrdu infekcije virusom KE koriste se neutralizacijski testovi (neutralizacijski test redukcije plakova, brzi test inhibicije fluorescentnih žarišta) (83). Za izvođenje ovih testova potrebna je razina biosigurnosti trećeg stupnja te se oni obično rabe samo u referentnim laboratorijima. IgM protutijela prisutna su najmanje šest tjedana, ali mogu perzi-

stirati do 10 mjeseci nakon infekcije ili čak dulje. IgG protutijela dosežu maksimalne vrijednosti u rekonvalescenciji i perzistiraju doživotno (81).

Tablica 2.

Osnovne značajke metoda koje se primjenjuju u dijagnostici virusa krpeljnog encefalitisa (78)

Metoda	Trajanje testa	Osjetljivost	Specifičnost
Izravna dijagnostika			
Izolacija virusa	1 - 7 dana	Visoka	Visoka
RT-PCR ^a	2 - 4 sata	Visoka (~200 virusnih kopija/mL)	Visoka
Elektronska mikroskopija	30 min	Niska ($\geq 10^6$ virusnih čestica/mL)	Visoka
Neizravna dijagnostika			
ELISA ^b	3 - 4 sata	Visoka	Niska
IFA ^c	2 - 4 sata	Umjerena	Umjerena
IH ^d	2 - 4 sata	Niska	Umjerena
Neutralizacijski testovi	4 - 7 dana	Umjerena	Visoka

^aRT-PCR = reverzna-transkriptaza lančana reakcija polimeraze; ^bELISA = imunoenzimni test; ^cIFA = neizravni imunofluorescentni test;

^dIH = test inhibicije hemaglutinacije

Kao dodatna metoda za potvrdu primarne infekcije virusom KE koristi se i određivanje aviditeta IgG protutijela. Ova je metoda osobito korisna za razlikovanje akutne/nedavne infekcije u slučajevima duge perzistencije IgM protutijela. U početku infekcije nastaju IgG protutijela niskog aviditeta (niskog afiniteta za antigen) koja sazrijevanjem imunološkog odgovora poprimaju visoki aviditet (84).

DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA KRPELJNOG ENCEFALITISA

Kako bi se utvrdila točna učestalost i javnozdravstveno značenje KE, Europski centar za kontrolu bolesti (engl. *European Centre for Disease Control*) je 2011. godine predložio zajedničke kriterije za definiranje i dijagnozu KE. Prema ovim preporukama bolesnik ima KE ako ispunjava: a) kliničke kriterije - simptomi upale SŽS-a (meningitis, meningo-encefalitis, encefalomijelitis, encefaloradikulitis); b) epidemiološke kriterije (izloženost istom izvoru hrane - nepasteriziranim mliječnim proizvodima kao i potvrđeni slučaj KE tijekom epidemije, moguća izloženost "krpeljima u endemskom području" ili "boravak u endemskom području"); c) laboratorijske kriterije - za vjerojatan slučaj (detekcija specifičnih IgM virus KE u serumu), za potvrđen slučaj (detekcija specifičnih IgM i IgG protutijela u serumu, detekcija IgM ili IgM i IgG protutijela

u CSL-u, serokonverzija ili značajan porast specifičnih protutijela u parnim uzorcima seruma, detekcija virusne RNA u kliničkim uzorcima, izolacija virusa KE iz kliničkih uzoraka). Slučaj se klasificira kao: a) vjerojatan ako ispunjava kliničke kriterije te laboratorijske kriterije za vjerojatan slučaj ili ako ispunjava kliničke kriterije uz epidemiološke kriterije; b) potvrđen ukoliko ispunjava kliničke kriterije te jedan od laboratorijskih kriterija za potvrdu infekcije (85).

U diferencijalnoj dijagnozi KE treba uzeti u obzir razne virusne, bakterijske i parazitarne infekcije (tablica 3) (86).

Tablica 3.
 Diferencijalna dijagnoza krpeljnog encefalitisa (86)

Uzročnik	Klinički oblik bolesti	
	"Febilna glavobolja"	"Febilna glavobolja", meningitis, meningoencefalitis, encefalomijelitis
Virusi	Epstein-Barrov virus, virus influence, virusi parainfluence	Echovirusi, cocksackie virusi, poliovirus, virus parotitisa, virus limfocitnog korimeningitisa, adenovirusi, herpes simpleks virus, citomegalovirus, virus Zapadnog Nila, virus japanskog encefalitisa, virus dengue
Bakterije	<i>Legionella spp.</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>
Spirohete	<i>Borrelia recurrentis</i>	<i>Treponema pallidum</i> , <i>Leptospira spp.</i> , <i>Borrelia burgdorferi</i>
Koksijela, rikecije i erlihije	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Coxiella burnetii</i> , <i>Rickettsia spp.</i> (skupina pjegavih groznica), <i>Ehrlichia chaffeensis</i>
Gljive		<i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>
Paraziti	<i>Babesia spp.</i>	<i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Trichinella spiralis</i> , <i>Taenia solium</i> (cisticerkoza)
Ostali uzročnici	<i>Francisella tularensis</i> , <i>Brucella spp.</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i>

KOINFEKCIJA VIRUSOM KRPELJNOG ENCEFALITISA I DRUGIM UZROČNICIMA KOJE PRENOSE KRPELJI

Krpelj *I. ricinus* može biti vektor za više uzročnika, npr. uz virus KE i neke bakterije kao što su *Borrelia (B.) burgdorferi*, *Anaplasma (A.) phagocytophilum* te *Babesia spp.* zbog čega može doći do koinfekcije (87). Koinfekcije su značajan klinički i epidemiološki pro-

blem budući da se terapija pojedinačnih infekcija razlikuje. Neki radovi ukazuju da koinfekcija utječe na klinički tijek bolesti koji je teži s duljim oporavkom i nepovoljnijim ishodom (88). U nedavno objavljenom istraživanju provedenom u Poljskoj nađena je nešto viša, ali ne značajna razlika u učestalosti pojedinih simptoma (kočenje šije, mučnina, vrtoglavica, bolovi u mišićima) u bolesnika kod kojih je dokazana koinfekcija virusom KE i *B. burgdorferi*, *A. phagocytophilum* ili *Babesia spp.* u odnosu na bolesnike inficirane samo virusom KE (89).

PREVENCIJA KRPELJNOG ENCEFALITISA

Uz opće preventivne mjere, specifična prevencija uključuje aktivnu imunizaciju. Zbog antigene sličnosti podtipova virusa KE, cjepivo protiv europskog podtipa pruža zaštitu i od dalekoistočnog i sibirskog podtipa virusa (90).

Od općih preventivnih mjera valja spomenuti kretanje obilježenim i očišćenim stazama u endemskim žarištima radi smanjenja kontakta s grmljem, nošenje odjeće dugih rukava i nogavica radi zaštite kože od izravnog kontakta s krpeljima, nošenje odjeće svjetlih boja radi lakšeg uočavanja krpelja na odjeći, nanošenje repelenata na otkrivenu kožu i odjeću te pažljiv pregled tijela nakon boravka u prirodi radi ranog uočavanja i odstranjivanja krpelja. Ako se uoči da se krpelj već učvrstio u koži, potrebno ga je odmah cijeloga skinuti, s obzirom da vjerojatnost prijenosa virusa s krpelja na čovjeka ovisi o vremenu koje krpelj provede pričvršćen. Pri skidanju krpelja, nije ga potrebno rotirati, nego ga jednostavno treba uhvatiti pincetom i lagano povlačiti u raznim smjerovima. Nije preporučljivo premazivati krpelja uljem, alkoholom niti bilo kakvim drugim sredstvima jer taj postupak pojačava izlučivanje virusa od strane krpelja, što može rezultirati unošenjem veće količine virusa u kožu čovjeka (91). S obzirom na mogućnost prijenosa virusa KE putem mlijeka i mliječnih proizvoda, od preventivnih mjera treba spomenuti i pasterizaciju mlijeka kojom se učinkovito inaktivira virus.

Specifična zaštita od krpeljnog meningoencefalitisa postiže se aktivnom imunizacijom, odnosno cijepljenjem. Primarno se cijepljenje sastoji od tri doze prema shemi 0, 1-3, 9-12 mjeseci. Smatra se da zaštita nastupa dva do tri tjedna nakon primjene druge doze. Nakon provedenog primarnog cijepljenja potrebno je docjepljivanje svakih tri do pet godina jednom dozom. Cijepljenje se preporučuje osobama koje su zbog prirode posla ili rekreacijski često izložene krpeljima u endemskom žarištu.

Zbog relativno kratke inkubacije bolesti, cjepivo se ne može koristiti za postekspozicijsku zaštitu (nakon uboda krpelja, u svrhu sprječavanja bolesti kod necijepljenih osoba), a imunoglobulini koji su se u prošlosti davali za postekspozicijsku zaštitu više se ne proizvode i nisu se pokazali sigurni u primjeni (92).

L I T E R A T U R A

- Schneider H. Über epidemische akute "Meningitis serosa". *Wien Klin Wochenschr* 1931; 44: 350-2.
- Zilber LA. Spring (spring-summer) epidemical tick-borne encephalitis. *Arch Biol Nauk* 1939; 56: 9-37.
- Gallia F, Rampas J, Hollender L. Laboratory infection caused by tick-borne encephalitis virus. *Čas Lék Čes* 1949; 88: 224-9.
- Donoso Mantke O, Schädler R, Niedrig M. A survey on cases of tick-borne encephalitis in European countries. *Euro Surveill* 2008;13(17):pii=18848.
- Lindenbach BD, Thiel HJ, Rice CM. Flaviviridae: The viruses and their replication. U: Knipe DM, Howley PM, ur. *Fields Virology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007, 1101-51.
- Leonova GN, Ternovoi VA, Pavlenko EV, Maistrovskaya OS, Protopopova EV, Loktev VB. Evaluation of vaccine Encepur Adult for induction of human neutralizing antibodies against recent Far Eastern subtype strains of tick-borne encephalitis virus. *Vaccine* 2007; 25: 895-901.
- Barret PN, Plotkin SA, Ehrlich HJ. Tick-borne encephalitis virus vaccines. U: Plotkin S, Orenstein W, Offit P, ur. *Vaccines*. 5th ed. Philadelphia: Saunders, 2008, 841-56.
- Ecker M, Allison SL, Meixner T, Heinz FX. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. *J Gen Virol* 1999; 80:179-85.
- Pogodina VV, Karan' LS, Koliassnikova NM i sur. Evolution of tick-borne encephalitis and a problem of evolution of its causative agent. *Vopr Virusol* 2007; 52: 16-21.
- Golovljova I, Katargina O, Geller J, i sur. Unique signature amino acid substitution in Baltic tickborne encephalitis virus (TBEV) strains within the Siberian TBEV subtype. *Int J Med Microbiol* 2008; 298: 108-20.
- Khasnatinov MA, Danchinova GA, Kulakova NV i sur. Genetic characteristics of the causative agent of tick-borne encephalitis in Mongolia. *Vopr Virusol* 2010; 55: 27-32.
- Charrel RN, Attoui H, Butenko AM i sur. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 1040-55.
- Moshkin MP, Novikov EA, Tkachev SE, Vlasov VV. Epidemiology of a tickborne viral infection: theoretical insights and practical implications for public health. *BioEssay* 2009, 31: 620-8.
- Danielová V, Holubová J, Pejcoch M, Daniel M. Potential significance of transovarial transmission in the circulation of tick-borne encephalitis virus. *Folia Parasitol (Praha)* 2002; 49: 323-5.
- Havlikova S, Ličkova M, Klempa B. Non-viraemic transmission of tick-borne viruses. *Acta Virol* 2013; 57: 123-9.
- Bakhvalova VN, Potapova OF, Panova VV, Morozova OV. Vertical transmission of tick-borne encephalitis virus between generations of adapted reservoir small rodents. *Virus Res* 2009; 140: 172-8.
- Pfeffer M, Dobler G. Tick-borne encephalitis virus in dogs-is this an issue? *Parasit Vectors* 2011; 4: 59.
- Klaus C, Horugel U, Hoffmann B, Beer M. Tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection in horses: Clinical and laboratory findings and epidemiological investigations. *Vet Microbiol* 2013; 163: 368-72.
- Holzmann H, Aberle SW, Stiasny K i sur. Tick-borne encephalitis from eating goat cheese in a mountain region of Austria. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 1671-3.
- Caini S, Szomor K, Ferenczi E i sur. Tick-borne encephalitis transmitted by unpasteurised cow milk in western Hungary, September to October 2011. *Euro Surveill* 2012;17(12):pii=20128.
- Hudopisk N, Korva M, Janet E i sur. Tick-borne encephalitis associated with consumption of raw goat milk, Slovenia, 2012. *Emerg Infect Dis* 2013; 19: 806-8.
- Barbić Lj, Stevanović V, Kovač S i sur. Značaj praćenja krpeljnog meningoencefalitisa u životinja za javno zdravstvo. U: Barbić Lj, Vilibić-Čavlek T, Hađina S, ur. *Emergentni i re-emergentni flavivirusi - zajednički izazov i odgovornost humane i veterinarske medicine*. Zagreb: Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2014, 55-61.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Tick-borne encephalitis factsheet for health professionals. Dostupno na adresi: http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/tick_borne_diseases/tick_borne_encephalitis/basic_facts/Pages/factsheet_health_professionals.aspx. Datum pristupa informaciji: 16. siječnja 2014.
- WHO. Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec* 2011;86: 241-56.
- Suss J. Tick-borne encephalitis 2010: epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia: an overview. *Ticks Tick Borne Dis* 2011; 2: 2-15.
- Donoso-Mantke O, Karan LS, Růžek D. Tick-borne encephalitis virus: A general overview. U: Růžek D, ur. *Flavivirus encephalitis*. In Tech, Dostupno na adresi: http://www.intechopen.com/books/flavivirus-encephalitis/tick-borne_encephalitis-virus-a-general-overview.
- Suss J. Tick-borne encephalitis in Europe and beyond-the epidemiological situation as of 2007. *Euro Surveill* 2008;13(26):pii=18916.
- Borčić B. O epidemiologiji krpeljnog meningoencefalitisa. *Priroda* 1995; 85: 27-9.

29. Gray JS, Dautel H, Estrada-Peña A, Kahl O, Lindgren E. Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2009; 2009:593232.
30. Randolph SE. To what extent has climate change contributed to the recent epidemiology of tick-borne diseases? *Vet Parasitol* 2010; 167: 92-4.
31. Pandak N. Krpeljni meningoencefalitis - ima li novosti? U: Barbić Lj, Vilibić-Čavlek T, Hađina S, ur. *Emergentni i re-emergentni flavivirusi - zajednički izazov i odgovornost humane i veterinarske medicine*. Zagreb: Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2014, 62-6.
32. Mišić-Majeus Lj, Zaninović K, Cmrk-Kadija V, Đaković-Rode O. Globalno zatopljenje, klimatske promjene, učinak na krpelje i krpeljom prenosive patogene. *Infektol Glasn* 2008; 28: 61-8.
33. Kunz C. TBE vaccination and the Austrian experience. *Vaccine* 2003; 21: 50-5.
34. Daniel M, Danielová V, Kříž B, Jirsa A, Nožička J. Shift of the tick *Ixodes ricinus* and tick-borne encephalitis to higher altitudes in Central Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; 22: 327-8.
35. Lukan M, Bulllova E, Petko B. Climate warming and tick-borne encephalitis, Slovakia. *Emerg Infect Dis* 2010; 16: 524-6.
36. Dobler G, Gniel D, Petermann R, Pfeffer M. Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr* 2012; 162: 230-8.
37. Waldenström J, Lundkvist A, Falk KI, i sur. Migrating birds and tickborne encephalitis virus. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 1215-8.
38. European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiological situation of tick-borne encephalitis in the European Union and European Free Trade Association countries. Stockholm: ECDC, 2012.
39. <http://data.euro.who.int/cisid/Default.aspx?TabID=331951>. Datum pristupa informaciji: 10. prosinca 2013.
40. Gritsun TS, Lashkevich VA, Gould EA. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res* 2003; 57: 129-46.
41. Grygorczuk S, Mierzynska D, Zdrodowska A i sur. Tick-borne encephalitis in northeastern Poland in 1997-2001: a retrospective study. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 904-9.
42. Stefanoff P, Rosinska M, Samuels S, White DJ, Morse DL, Randolph SE. A national case-control study identifies human socio-economic status and activities as risk factors for tick-borne encephalitis in Poland. *PLoS One* 2012; 7: e4551.
43. Vesenjaj-Hirjan J. Tick-borne encephalitis in Croatia. *Rad JAZU. Knjiga* 372. 1976; 1-10.
44. Vesenjaj-Hirjan J, Rulnjević J, Šooš E, Galinović-Weissglas M, Beus I. Appearance of tick-borne encephalitis in the mountain range Medvednica. *Rad JAZU. Knjiga* 372. 1976; 161-6.
45. Borčić B, Kaić B, Gardašević-Morić L, Turković B. Krpeljni meningoencefalitis u Gorskom kotaru - nove spoznaje. *Lijec Vjesn* 2001; 123: 163-4.
46. Vesenjaj-Hirjan J, Egri-Hećimović E, Brudnjak Z, Vinca Šooš E. Infections with tick-borne encephalitis virus in the Panonian focus Stara Vas. *Serological studies 1961-1964. Rad JAZU. Knjiga* 372. 1976, 11-20.
47. Vesenjaj-Hirjan J, Galinović-Weissglas M, Brudnjak Z. Infections with tick-borne encephalitis virus in Pannonian focus Stara Vas. *Serological studies in 1972. Rad JAZU. Knjiga* 372. 1976, 29-36.
48. Vesenjaj-Hirjan J, Egri-Hećimović E, Šooš E. Infections with tick-borne encephalitis virus in Mediterranean focus Nadsela (Island of Brač). *Rad JAZU. Knjiga* 372. 1976, 37-40.
49. Vesenjaj-Hirjan J, Galinović-Weissglas M, Brudnjak Z i sur. Island of Brač - focus of arbovirus infections. U: Vesenjaj-Hirjan J, ur. *Arboviruses in the Mediterranean countries. Zbl Bakt (Suppl. 9)* 1980, 311-7.
50. Vesenjaj-Hirjan J, Galinović-Weissglas M, Urlič V, i sur. Occurrence of arboviruses in the Middle and the south Adriatic (Yugoslavia). U: Vesenjaj-Hirjan J (ur). *Arboviruses in the Mediterranean countries. Zbl Bakt (Suppl. 9)* 1980; 303-10.
51. Turković B, Brudnjak Z. Natural foci of some viral zoonoses in Croatia. *Acta Med Croatica* 1999; 53: 195-8.
52. Golubić D, Dobler G. Flavivirusi u sjeverozapadnoj Hrvatskoj. *Infektol Glasn* 2012; 32: 153-7.
53. Miletić-Medved, Đaković-Rode O, Cvetko-Krajinović L, Markotić A. Krpeljni meningoencefalitis u hrvatskoj srednjoj Posavini: seroepidemiološko ispitivanje u šumskih radnika. *Infektol Glasn* 2011; 31: 87-94.
54. Brudnjak Z, Vesenjaj-Hirjan J, Šooš E. Isolation of tick-borne encephalitis virus from ticks and patients. *Rad JAZU. Knjiga* 372. 1976, 41-8.
55. Jemersić L, Dežđek D, Brnić D i sur. Detection and genetic characterization of tick-borne encephalitis virus (TBEV) derived from ticks removed from red foxes (*Vulpes vulpes*) and isolated from spleen samples of red deer (*Cervus elaphus*) in Croatia. *Ticks Tick Borne Dis* 2013; 5: 7-13.
56. Pem Novosel I, Kurečić Filipović S, Gjenero Margan I, Kaić B, Erceg M, Višekruna Vučina V. Epidemiologija krpeljnjog meningoencefalitisa u Hrvatskoj, 1993.- 2012. U: *Knjiga sažetaka 10. hrvatskog kongresa kliničke mikrobiologije i 7. Hrvatskog kongresa o infektivnim bolestima (CROCMID), Rovinj, 24-27. listopada, 2013. PO 31 (Sažetak)*
57. Borčić B, Kaić B, Kralj V. Some epidemiological data on TBE and Lyme borreliosis in Croatia. *Zbl Bakt* 1999; 289: 540-7.
58. Růžek D, Gritsun TS, Forrester NL i sur. Mutations in the NS2B and NS3 genes affect mouse neuroinvasiveness of a Western European field strain of tick-borne encephalitis virus. *Virology* 2008; 374: 249-55.
59. Avsic-Zupanc T, Poljak M, Maticic M i sur. Laboratory acquired tick-borne meningoencephalitis: characterisation of virus strains. *Clin Diagn Virol* 1995; 4: 51-9.
60. Kollaritsch H, Krasilnikov V, Holzmann H i sur. Background Document on Vaccines and Vaccination against Tick-borne Encephalitis (TBE). Dostupno na adresi: http://www.who.int/immunization/sage/6_TBE_backgr_18_Mar_net_apr_2011.pdf. January 3, 2013.

61. Gelpi E, Preusser M, Garzuly F, Holzmann H, Heinz FX, Budka H. Visualization of Central European tick-borne encephalitis in fatal human cases. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005; 64: 506-12.
62. Mansfield KL, Johnson N, Phipps LP, Stephenson JR, Fooks AR, Solomon T. Tick-borne encephalitis virus - a review of an emerging zoonosis. *J Gen Virol* 2009; 90: 1781-94.
63. Popponikova TV. Specific clinical and epidemiological features of tick-borne encephalitis in Western Siberia. *Int J Med Microbiol* 2006; 296: 59-62.
64. Haglund M, Günther G. Tick-borne encephalitis-pathogenesis, clinical course and long-term follow-up. *Vaccine* 2003; 21: 11-8.
65. Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet* 2008; 371: 1861-71.
66. Kaiser R. Tick-borne encephalitis. *Infect Dis Clin North Am* 2008; 22: 561-75.
67. Stähelin-Massik J, Zimmermann H, Gnehm HE. Tick-borne encephalitis in Swiss children 2000-2004: five-year nationwide surveillance of epidemiologic characteristics and clinical course. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: 555-7.
68. Kaiser R. Tick-borne encephalitis: clinical findings and prognosis in adults. *Wien Med Wochenschr* 2012; 162: 239-43.
69. Mišić-Majerus Lj, Bujčić N, Mađarić V, Avšič-Županc T. Hepatitis caused by tick-borne meningoencephalitis virus (TBEV)-a rare clinical manifestation outside the central nervous system involvement. *Acta Med Croatica* 2005; 59: 347-52.
70. Kaiser R, Holzmann H. Laboratory findings in tick-borne encephalitis-correlation with clinical outcome. *Infection* 2000; 28: 78-84.
71. Kaiser R. The clinical and epidemiological profile of tick-borne encephalitis in southern Germany 1994-98. A prospective study of 656 patients. *Brain* 1999; 122: 2067-78.
72. Horger M, Beck R, Fenchel M i sur. Imaging findings in tick-borne encephalitis with differential diagnostic considerations. *AJR* 2012; 199: 420-7.
73. Mišić-Majerus Lj, Sabol Z, Toth Mršić M, Bujčić N, Đaković Rode O, Ružić Sabljic E. Postencefalitički sindrom u djece s krpeljnim meningoencefalitisom. *Pediatr Croat* 2013; 57: 61-6.
74. Rostasy K. Tick-borne encephalitis in children. *Wien Med Wochenschr* 2012; 162: 244-7.
75. Mišić-Majerus Lj, Sabol Z, Poje R, Toth Mršić M, Bujčić N, Đaković Rode O. Klinički značaj elektroencefalografskih promjena u djece s krpeljnim meningoencefalitisom: tridesetogodišnje retrospektivno istraživanje. *Paediatr Croat* 2011; 55: 181-6.
76. Fowler Å, Forsman L, Eriksson M, Wickström R. Tick-borne encephalitis carries a high risk of incomplete recovery in children. *J Pediatr* 2013; 163: 555-60.
77. Kaiser R. Long-term prognosis of patients with primary myelitic manifestation of tick-borne encephalitis: a trend analysis covering 10 years. *Nervenarzt* 2011; 82: 1020-5.
78. Niedrig M, Nitsche A, Donoso-Mantke O. Arthropod-borne viruses. U: Jerome KR, ur. *Lennette's laboratory diagnosis of viral infections*. 4th ed. New York: Informa Healthcare, 2010, 450-7.
79. Saksida A, Duh D, Lotrič -Furlan S, Strle F, Petrovec M, Avšič-Županc T. The importance of tick-borne encephalitis virus, RNA detection for early differential diagnosis of tick-borne encephalitis. *J Clin Virol* 2005; 33: 331-5.
80. Achazi K, Nitsche A, Patel P, Radonić A, Donoso Mantke O, Niedrig N. Detection and differentiation of tick-borne encephalitis virus subtypes by a reverse transcription quantitative real-time PCR and pyrosequencing. *J Virol Methods* 2011; 171: 34-9.
81. Holzmann H. Diagnosis of tick-borne encephalitis. *Vaccine* 2003; 21: 3-40.
82. Niedrig M, Vaisviliene D, Teichmann A, Klockmann U, Biel SS. Comparison of six different commercial IgG-ELISA kits for the detection of TBEV-antibodies. *J Clin Virol* 2001; 20: 179-82.
83. Vene S, Haglund M, Vapalahti O, Lundquist A. A rapid fluorescent focus inhibition test for the detection of neutralizing antibodies to tick-borne encephalitis virus. *J Virol Methods* 1998; 73: 71-5.
84. Gassmann C, Bauer G. Avidity determination of IgG directed against tick-borne encephalitis virus improves detection of current infections. *J Med Virol* 1997; 51: 242-51.
85. ECDC. Second expert consultation on tick-borne diseases with emphasis on Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis. Dostupno na adresi: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Tick-borne-diseases-meeting-report.pdf>. Datum pristupa informaciji: 18.11.2014.
86. Dumpis U, Crook D, Oksi J. Tick-borne encephalitis. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 882-90.
87. Skotarczak B, Rymaszewska A, Wodecka B, Sawczuk M. Molecular evidence of co-infection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, human granulocytic ehrlichiosis agent, and *Babesia microti* in ticks from northwestern Poland. *J Parasitol* 2003; 89: 194-6.
88. Swanson SJ, Neitzel D, Reed KD, Belongia EA. Coinfections acquired from ixodes ticks. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 708-27.
89. Moniuszko A, Dunaj J, Swięcicka I i sur. Co-infections with *Borrelia* species, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in patients with tick-borne encephalitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33: 1835-41.
90. Leonova GN, Ternovoi VA, Pavlenko EV i sur. Evaluation of vaccine Encepur Adult for induction of human neutralizing antibodies against recent Far Eastern subtype strains of tick-borne encephalitis virus. *Vaccine* 2007; 25: 895-901.
91. Borčić B. Krpeljni meningoencefalitis. U: *Epidemiologija zaraznih bolesti (odabrana poglavlja)*. Zagreb: HZJZ, 2001, 75-86.
92. Stefanoff P, Polkowska A, Giambi C i sur. Reliable surveillance of tick-borne encephalitis in European countries is necessary to improve the quality of vaccine recommendations. *Vaccine* 2011; 29: 1283-8.

SUMMARY

TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS: EPIDEMIOLOGICAL AND CLINICAL PICTURE, DIAGNOSIS AND PREVENTION

T. VILIBIĆ-ČAVLEK, LJ. BARBIĆ¹, N. PANDAK², I. PEM-NOVOSEL³, V. STEVANOVIĆ¹, B. KAIĆ³
and G. MLINARIĆ-GALINOVIĆ

*Croatian National Institute of Public Health; University of Zagreb School of Medicine, Department of Virology,
¹University of Zagreb Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology and Infectious Diseases with
Clinic, ²University of Osijek, School of Medicine, Dr. Josip Benčević General Hospital, Department of Infectious
Diseases, Slavonski Brod and ³Croatian National Institute of Public Health,
Department of Epidemiology, Zagreb, Croatia*

Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is a small, enveloped virus that belongs to the family Flaviviridae, genus Flavivirus, tick-borne encephalitis serocomplex. There are three subtypes of TBEV: European, Far-Eastern and Siberian subtypes, which differ in geographical distribution, tick vector and clinical manifestation of disease in humans. TBEV is endemic in a wide geographic area ranging from Central Europe and the Scandinavian Peninsula to Japan. The virus is maintained in nature in so-called natural foci in cycles involving ticks and wild vertebrate hosts (mainly small rodents). The principal vector for the European subtype is *Ixodes (I.) ricinus* tick, whereas for Far-Eastern and Siberian subtypes it is *I. persulcatus*. In the Baltic States and Finland, co-circulation of two or all three subtypes was documented.

Several animals, principally small rodents, serve as virus reservoirs. In the tick population, TBEV is transmitted by feeding/co-feeding on the same host, transovarially (from infected females to their eggs) and trans-stadially (from one development stage to the next). An infected tick remains infected for life. While most TBE infections in humans occur following a tick bite, alimentary routes of TBEV transmission (consumption of unpasteurized milk/milk products from infected livestock) have also been described. All three tick stages can transmit the infection to humans. In the last decade, an increase of TBE incidence has been observed in some endemic areas. This could be due to a number of interacting factors such as changes in the climatic conditions affecting tick habitats, improvements in the quality of epidemiological surveillance systems and diagnostics, in landscape resources and their utilization and more outdoor recreation activity. In addition, the endemic area of TBEV has expanded to higher altitudes (up to 1500 m), apparently influenced by climatic changes. The typical clinical picture of infection with European subtype TBEV is characterized by a biphasic course (50%-77%). The first phase is characterized by nonspecific, flu-like symptoms followed by an asymptomatic interval of about one week. In 20%-30% of persons who develop symptoms, the second phase occurs with symptoms of central nervous system involvement (meningitis, encephalitis, myelitis, radiculitis). The mortality rate for European subtype is 1%-2%. Diagnosis is usually based on detection of specific antibodies (enzyme immunoassay, indirect immunofluorescent assay, plaque reduction neutralization test). From 1993 to 2013, a total of 777 cases of TBE were reported in Croatia. Endemicity is highest in north-western counties (mean incidence 3.61-6.78/100,000 inhabitants). The majority of patients were older than 20 years (88%). Most cases (73%) were reported from May to July.

Key words: tick-borne encephalitis virus, epidemiology, clinical picture, diagnosis, prevention