

# VIRUS ZAPADNOG NILA U HRVATSKOJ – VETERINARSKI ASPEKT

## West Nile virus in Croatia – veterinary aspects



Barbić, Lj., Stevanović, V., Milas, Z., Starešina, V., Turk, N., Štiritof Majetić, Z., Habuš, J., Perharić, M., Kovač, S., Martinković, K., Mojćec Perko, V., Madić, J.

### Sažetak

Pojava infekcija virusom Zapadnog Nila u životinja i ljudi bilježi se u posljednjih nekoliko godina u Republici Hrvatskoj i predstavlja tipičnu pojavu emergentne zoonoze. Širenje uzročnika te zabilježene bolesti ljudi donekle su iznenadili čak i struku, i veterinarsku i liječničku. S obzirom na to da se očekuje daljnje širenje uzročnika i pojavljivanje bolesti i u sljedećim sezonama, informiranje veterinarima i liječnika osnovna je pretpostavka za sadašnju, ali i buduću uspješnu kontrolu i suzbijanje bolesti. Uloga veterinarina neosporna je u prepoznavanju bolesti u životinja, primarno konja, i njihova liječenja, ali također i u prikupljanju neophodnih podataka o proširenosti uzročnika, temeljnih za kontrolu bolesti u javnom zdravstvu. Stoga su u ovom radu pregledno opisane osnovne značajke infekcija virusom Zapadnog Nila u životinja, ali i ljudi, kako bi pridonijeli kvalitetnijem radu veterinarina u svakodnevnoj praksi kao i kvalitetnijem provođenju sustava kontrole proširenosti bolesti koju provodi veterinarska struka u svrhu zaštite zdravlja ljudi.

**Ključne riječi:** Virus Zapadnog Nila, Zoonoza, javno zdravstvo, veterinarska medicina

### Abstract

Occurrence of WNV infection in animals and humans has been recorded during the last few years in Croatia and represents a classical emergence of zoonosis. Spreading of the WNV and recorded human cases surprised even health authorities. As further dissemination of WNV and new clinical cases are expected in the coming seasons, keeping veterinary and medical practitioners in lights of events is a prerequisite for a better control and confinement of the disease. Even more, role of veterinarians beside recognizing horse clinical cases and treating them is a key point in gathering data for discerning the extent of the viral activity fundamental for adequate public health measures to be taken. In this article we give systematic overview of main characteristic of WNV infections in animals and humans as a contribution for improvement of everyday work of veterinary practitioners. Also, information given in this article are necessary for better implementation of surveillance and control methods of WNV, performed by veterinary health professionals, in prevention of disease in humans.

**Key words:** West Nile Virus, Zoonosis, Public Health, Veterinary medicine

### Uvod

Virus Zapadnog Nila uzročnik je emergentne zoonoze koja je sve proširenija u svijetu, uključujući i Republiku Hrvatsku te ostale zemlje u regiji. Od prvog izdvajanja virusa do danas znatno se promijenila proširenost ove bolesti kao i njezin značaj na

globalnoj razini. Danas je ova bolest zasigurno jedna od važnijih zoonoza u mnogim dijelovima svijeta i opravdano je izazvala iznimno zanimanje i struke i javnosti. Postoji terminološka neujednačenost, što i nije iznenađujuće pri pojavi emergentne bolesti. Bolest uzrokovana infekcijom VZN-a se u veterinarskoj i

*Ljubo BARBIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, Vladimir STEVANOVIĆ, dr. med. vet., asistent, Zoran MILAS, dr. med. vet., redoviti profesor, Vilim STAREŠINA, dr. med. vet., izvanredni profesor, Nenad TURK, dr. med. vet., redoviti profesor, Zrinka ŠTRITOF MAJETIĆ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Josipa HABUŠ, dr. med. vet., viša asistentica, Matko PERHARIĆ, dr. med. vet., asistent, dr. sc. Snježana KOVAČ, prof. biol., Krešimir MARTINKOVIĆ, dr. med. vet., univ. mag. med. vet., Vesna MOJĆEC PERKO, dipl. ing. mol. biol., Josip MADIĆ, dr. med. vet., akademik, Veterinarski fakultet, Zagreb.*

liječničkoj literaturi na hrvatskom jeziku, ovisno o domaćinu i kliničkoj slici, opisuje kao „vrućica Zapadnog Nila“, „encefalitis Zapadnog Nila“, „groznica Zapadnog Nila“ i slično. U ovom se radu koristimo izrazom bolest Zapadnog Nila, koji objedinjuje sve domaćine i kliničke oblike, kao potporu ranije opisanoj inicijativi za jedinstvenim nazivom ove bolesti (Savić, 2012.).

Bolest se klinički očituje u ptica i konja, s mogućim smrtnim ishodima, što ističe važnost u veterinarskoj medicini. Ona je, međutim, i transmisivna zoonoza koja, u slučaju razvoja neuroinvasivnih kliničkih oblika, može rezultirati smrću ljudi, pa zauzima važno mjesto i u humanoj medicini. Zbog epidemiologije bolesti, u njezinoj kontroli i suzbijanju neizbježna je stručna suradnja veterinaru i liječnika koja jedina može biti jamstvo smanjivanja broja oboljelih i smrtnih slučajeva u ljudi. Prva karika u tom lancu zasigurno je edukacija stručnjaka o ovoj emergentnoj bolesti kako bi pravodobno prepoznali kliničke znakove, postavili sumnju i proveli objektivnu dijagnostiku te bolje razumjeli važnost provođenja svojih zadaća u kompleksnom sustavu kontrole bolesti. Stoga u ovom radu prikazujemo najosnovnije značajke infekcije virusom Zapadnog Nila u životinja i ljudi u svrhu kvalitetnijeg rada veterinaru u svakodnevnoj praksi. Također, prikazanim želimo naglasiti činjenice na kojima se osniva program kontrole ove bolesti u Republici Hrvatskoj, glavninu kojega provodi veterinarska struka. Detaljniji program kontrole te rezultati dosadašnjeg provođenja nadzora VZN-a u RH u okviru veterinarske djelatnosti bit će prikazani u sljedećem broju Hrvatskog veterinarskog vjesnika.

## Etiologija

Virus Zapadnog Nila (VZN) jest ovijeni, relativno mali (~50 nm), kuglasti virus koji pripada porodici *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus*, unutar kojega je smješten u skupinu virusa prenošenih komarcima. Prema antigenskoj srodnosti pripada serokompleksu virusa japanskog encefalitisa. Genom VZN-a čini jednolančana, pozitivna (+) RNK koja kodira tri strukturna proteina (protein kapside (C), glikoprotein ovojnice (E), prekursorski membranski protein (prM) i sedam nestrukturnih proteina (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, NS5) (Mukhopadhyay i sur., 2003.)).

Do danas je opisano više različitih linija VZN-a (Mackenzie i Williams, 2009.). Najučestalije i najproširenije linije VZN-a su linija 1 i 2, koje se međusobno razlikuju u 25 – 30% nukleotidnog slijeda (Lanciotti, 1999.). Liniji 1 pripadaju sojevi VZN-a izdvojeni na području Afrike, Srednjeg istoka, Europe, Sjeverne Amerike, Australije (Kunjin virus) i Indije (May i sur., 2011.). Linija 1 široko je rasprostranjena u Eu-

ropi te su dokazane i različite podlinije linije 1 VZN-a (Zehender i sur., 2011.). Liniji 2 većinom pripadaju sojevi VZN-a izdvojeni na području južne Afrike i Madagaskara (May i sur., 2011.), ali su u posljednjim desetljećima pripadnici te linije izdvojeni i na području srednje i istočne Europe. Prvi VZN linije 2 u Europi potvrđen je u Mađarskoj 2004. godine (Bakonyi i sur., 2006.), nakon čega su virusi te linije dokazani i u Rumunjskoj (Sirbu i sur., 2011.), Grčkoj (Chaskopolou i sur., 2011.), Italiji (Bagnarelli i sur., 2011.), Rusiji (Platonov i sur., 2011.) i Austriji (Wodak i sur., 2011.), tako da su u ovom trenutku obje glavne linije VZN-a proširene i cirkuliraju u Europi. Taj je podatak važan zbog opisanih razlika u virulenciji i neuroinvasivnosti pripadnika pojedinih linija što utječe i na kliničke oblike. Generalno, neuroinvasivni sojevi uglavnom su pripadali liniji 1, dok se smatralo da su pripadnici linije 2 znatno manje virulentni. Nedavno je opisan izrazito virulentan i neuroinvasivan soj pripadnik linije 2 VZN-a u južnoj Africi (Venter i Swanepoel, 2010.) i Mađarskoj (Kutasi i sur., 2011.) tako da se ta poveznica linije i kliničkih oblika treba uzeti s rezervom.

Uz ove najvažnije linije VZN-a, opisan je soj virusa izdvojen iz komaraca na području Rabensburga u Češkoj te je svrstan u liniju 3 (Bakonyi i sur., 2005.), zatim VZN-a izdvojen iz krpelja na području Kavkaza, kao i sojevi izdvojeni iz komaraca i žaba na području Volgograda koji pripadaju liniji 4 (Lvov i sur., 2004.). U posljednje su vrijeme opisani i genetski znatno različiti VZN-i na području Indije (Bondre i sur., 2007.) te soj Sarawak Kunjin (Vazquez i sur., 2010.), koji pripadaju linijama 5 i 6. Dokazano je da je afrički virus Koutango usko povezan s VZN-om te se smatra linijom 7 (De Fillette i sur., 2012.). Navedeno je zasigurno podložno reklasifikaciji i za očekivati je da će se ustanovljivati novi virusni sojevi u postojećim linijama, kao i nove linije VZN-a.

## Zemljopisna proširenost

Virus Zapadnog Nila (VZN) prvi je put izdvojen 1937. godine iz krvi febrilne žene na području okruga Zapadni Nil u sjevernoj Ugandi, po čemu je i dobio ime (Smithburn i sur., 1940.). Nakon prvog opisa zabilježena su sporadična obolijevanja ljudi na Srednjem istoku i u Africi, a 1951. godine su po prvi put detaljno opisani glavni klinički simptomi infekcije u ljudi tijekom epidemije u Izraelu (Bernkopf i sur., 1953.). Bolest u konja bilježi se sporadično u Egiptu te po prvi put u Europi, u Francuskoj u ranim 1960-im godinama (Schmidt i Elmansoury, 1963.). Nakon toga se sporadične epizootije pojavljuju u Francuskoj, ali i drugim mediteranskim državama. Tijekom 90-ih godina 20. stoljeća znatno se povećava uče-

stalost epizootija bolesti Zapadnog Nila u konja s većim epizootijama u Maroku, Italiji i Izraelu (Hubalek i Halouzka, 1999.; Murgue i sur., 2001.a). Sporadične pojave bolesti na često istim lokacijama u Europi objašnjavane su unošenjem virusa pticama selicama na lokacije koje se nalaze na glavnim migracijskim putovima. Kako se u posljednjih nekoliko godina bolest uzrokovana virusom Zapadnog Nila pojavljuje svake godine na istim područjima, postalo je jasno da se virus endemizirao u velikom dijelu Europe, što je i dokazano (Monaco i sur., 2011). Bolest dobiva dodatno na važnosti kad se 1999. godine po prvi put pojavljuje na području Sjeverne Amerike (Lanciotti i sur., 1999.). Otada su se epizootije i epidemije kontinuirano ponavljale i u sljedećim godinama te je dokazana endemizacija bolesti (Murray i sur., 2011.), a uzročnik se proširio i na Južnu Ameriku. Opseg epizootija u Sjedinjenim Američkim Državama najbolje oslikava 15.257 potvrđenih slučajeva klinički oboljelih konja od bolesti Zapadnog Nila zabilježenih samo tijekom 2002. godine (APHIS, 2012.).

Prvi dokaz infekcije čovjeka virusom Zapadnog Nila u Republici Hrvatskoj opisan je 1980. godine (Vesjenjak-Hirjan, 1980.). Ista autorica opisuje serološki dokaz infekcije ljudi virusom Zapadnog Nila i 1991. godine (Vesjenjak-Hirjan i sur., 1991.), a infekcije u ljudi zabilježene su i krajem 90-ih godina 20. stoljeća (Turković i Brudnjak, 1999.). U veterinarskoj je medicini infekcija virusom Zapadnog Nila dokazana nalazom specifičnih protutijela u serumu smeđeg medvjeda (Madić i sur., 1993.). Serološki pozitivni konji po prvi su put potvrđeni na području Đakova (Madić i sur., 2007.), a opsežnijim istraživanjem proširenosti VZN-a u konja na području Republike Hrvatske, načinjenim tijekom 2010. i 2011. godine, dokazana je značajna proširenost uzročnika na području cijele kontinentalne Hrvatske te u Istri, uz najvišu seroprevalenciju na području istočne Hrvatske (Barbić i sur., 2012.a). Prvih sedam slučajeva neuroinvasivnih bolesti ljudi u RH zabilježeno je na istom području tijekom 2012. godine (Pem-Novosel i sur., 2013.), a novih preko 20 slučajeva zabilježeno je tijekom 2013. godine (HZJZ, 2013.).

### Epizootiologija i epidemiologija

Ptice su primarni domaćini i rezervoari VZN-a u kojima se uzročnik umnožava, što omogućuje i izravnij prijenos među pticama. Značajno je da tijekom umnožavanja VZN-a u pticama nastaje jaka viremija koja omogućuje komarcima (najčešće iz rodova *Culex*, *Aedes* i *Ochlerotatuste*) da se inficiraju tijekom hranjenja na ptici i prenesu uzročnika na drugu pticu (Komar, 2000.). Ovaj ciklus prijenosa uzročnika

između ptica pomoću komaraca-vektora znatno je češći od izravnog prijenosa i naziva se prirodni ciklus kruženja VZN-a (slika 1). Tom prijenosu znatno pridonosi i mogućnost umnožavanja virusa u slinskim žlijezdama inficiranih komaraca, a prenosi se tijekom sljedećih hranjenja tako da komarci predstavljaju biološke vektore VZN-a. Uloga komaraca važna je i u endemizaciji bolesti jer se virus može prenositi transovarijski (Goddard i sur., 2003.), te zaražene ženke nakon prezimljavanja prenesu uzročnika na sljedeće generacije što omogućuje ponovnu pojavu bolesti u sljedećoj sezoni.

Uloga komaraca ključna je u epizootiologiji i epidemiologiji VZN-a. Praktički jedini način prirodnog prijenosa uzročnika na ljude i druge sisavce jest preko komaraca inficiranih tijekom hranjenja krvlju inficiranih ptica. Važno je istaknuti da, za razliku od ptica, nakon infekcije konja i drugih vrsta životinja, kao i ljudi, viremija ostaje vrlo niska te oni predstavljaju krajnje domaćine i niti u jednom trenutku nisu izvor infekcije niti opasnost za daljnje širenje infekcije (Komar, 2000.). To je osobito važno s aspekta osobne zaštite i razumijevanja epidemiologije bolesti kao i protuepidemijskih mjera. Za svakodnevnu veterinarsku praksu to je važno jer praktički ne postoji rizik od infekcije ljudi ili životinja izravnim dodiranjem s oboljelim konjima. Osim tijekom hranjenja komarca, prijenosi uzročnika na ljude opisani su, kao pojedinačni slučajevi, transfuzijom zaražene krvi, transplantacijom organa, dojenjem, te čak i jedan slučaj transplacentalne infekcije. Osim toga, opisane su i infekcije laboratorijskih djelatnika nakon uboda kontaminiranim iglama, kao i slučaj zaražavanja preko ozljede nastale tijekom razudbe ptice, te zaražavanje tijekom razudbe zaraženog konja (Vilibić-Čavlek i sur., 2013.). Sve su to iznimke te glavni i praktično jedini način prijenosa ostaje preko zaraženih komaraca.

Uočena je značajna razlika u mortalitetu u ptica ovisno o opisanim epizootijama. U SAD-u kliničkim obolijevanjima u ljudi prethodilo je znatno uginuće ptica, posebice iz porodice vrana (*Corvidae*). Kako su se klinički znakovi brzo razvijali i do uginuća je dolazilo unutar 24 sata, u pravilu su se pronalazile uginule ptice te je njihovo uginuće u SAD-u bilo glavni indikator virusne aktivnosti na određenom području (Eidson i sur., 2001.; Yaremych i sur., 2004.). Masovno uginuće ptica u Europi nije zabilježeno, a klinički slučajevi opisivani su primarno u ptica grabljivica poput, primjerice, kopca (*Accipiter nisus*), jastreba (*Accipiter gentilis*) i velikog sokola (*Falco rusticolus*) (Wodak i sur., 2011.). Klinički znakovi u domaće peradi iznimno su zabilježeni, a opisani su u gusaka (Glávits i sur., 2005.).

U opisanim epizootijama bolesti u konja nije uočena dobna dispozicija niti su sa sigurnošću definirani čimbenici rizika, iako se u nekim istraživanjima ističe viša smrtnost u konja svjetlije boje dlake te pastuha u odnosu na ostale kategorije, kao i lošija prognoza u slučaju obolijevanja u prvom dijelu sezone prijenosa (Epp i sur., 2007.). Ta su opažanja donekle u suprotnosti s dokazanom višom smrtnošću u starijih konja (Schuler i sur., 2004.) ili višom smrtnošću u kobilama (Salazar i sur., 2004.). U skladu s tim, određivanje rizičnih čimbenika za bolest Zapadnog Nila u konja zahtijeva daljnja istraživanja.

Kao glavni čimbenici rizika za nastanak težih oblika bolesti u ljudi navode se starija životna dob i imunosupresija, dok uloga drugih mogućih čimbenika, npr. hipertenzije, dijabetesa i cerebrovaskularne bolesti, u patogenezi infekcije VZN-a još uvijek nije sa sigurnošću potvrđena (Jean i sur., 2007.).

## Patogeneza

Virus Zapadnog Nila, kao i ostali virusi serogrupe virusa japanskog encefalitisa, pokazuju tkivni tropizam prema živčanom tkivu.

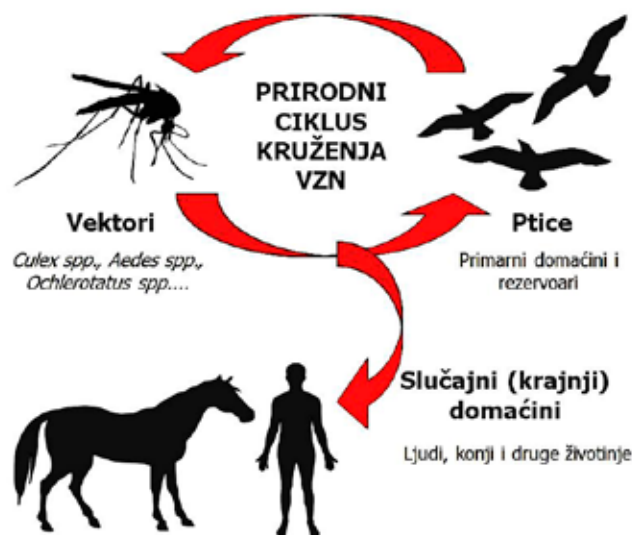
Nakon inokulacije virusa ubodom komarca, virus inficira keratinocite i Langerhansove stanice kojima uzročnik dolazi u regionalne limfne čvorove gdje se zbiva primarno umnožavanje. Nakon što dospije u sekundarno limfatično tkivo nastupa nova faza infekcije tijekom koje virus putem limfnoga sustava dopire u sistemsku cirkulaciju. Dolazi do razvoja viremije, postupne infekcije visceralnih organa te zatim prodora kroz hematoencefalnu barijeru i ulaska u središnji živčani sustav. Mehanizam prodora kroz

hematoencefalnu barijeru nije u potpunosti razjašnjen, a VZN se može dokazati u središnjem živčanom sustavu tri do četiri dana nakon infekcije. Infekcija neurona povezana je s degeneracijom i gubitkom stanične strukture. Velike Purkinjijevе stanice maloga mozga i motorički neuroni leđne/kralježnične moždine osobito su zahvaćeni, a eksperimentalna istraživanja upućuju na to da je virusno-inducirana apoptotična smrt stanice mehanizam koji je odgovoran za oštećenje neurona (Samuel i Diamond, 2006.; Lim i sur., 2011.).

## Klinička slika

Klinička bolest uzrokovana infekcijom virusom Zapadnog Nila očituju se u ptica, konja i ljudi. Kao što je ranije navedeno, klinički oblici u ptica razlikuju se s obzirom na vrstu ptice i virusni soj te značajno variraju ovisno o pojedinoj epizootiji. Kako se klinički oblici u pravilu pojavljuju u divljih ptica, najčešće se previde klinički znakovi i uočavaju iznenadna uginuća većeg broja ptica. Klinički znakovi uočeni tijekom pokusnih i prirodnih infekcija uključivali su generaliziranu letargiju, ataksiju, nakostriješenost perja, nemogućnost uspravnog držanja glave te konvulzije (Komar i sur., 2003.; Erdelyi i sur., 2007.), što su sve nespecifični klinički znakovi poremećaja središnjega živčanog sustava i nije dostatno za postavljanje dijagnoze.

Inkubacija bolesti Zapadnog Nila u konja iznosi od tri do 15 dana. Infekcije u najvećem broju prolaze asimptomatski, a u nekih životinja pojavljuju se samo blagi febrilni oblici koji često prolaze nezapaženi. U do 8% zaraženih konja bolest Zapadnog Nila



Slika 1. Prijenos virusa Zapadnog Nila

klinički se očituje znakovima poremećaja središnjega živčanog sustava različita intenziteta (Gardner i sur., 2007.). U slučaju pojave kliničkih znakova razvija se encefalomijelitis s ataksijom kao dominantnim kliničkim znakom. Učestalo se pojavljuju i slabost ekstremiteta, lijevanje i fascikulacija mišićja. Nešto su manje izraženi klinički znakovi deficita kranijalnih živaca poput opuštene usne, igre nosnica te fascikulacije mišićja lica. Važno je istaknuti da u oboljelih konja često izostaje porast tjelesne temperature, a ako se pojavljuje, onda prethodi kliničkim znakovima poremećaja središnjega živčanog sustava. Uz povišenu tjelesnu temperaturu prvi uočeni klinički znakovi mogu biti i depresija, anoreksija, količni napadi ili hromost (Long, 2007.). U manjem broju slučajeva uočavaju se hiperestezija, škrgutanje zubima, fotofobija i gubitak vida (Murgue i sur., 2001.b; Ostlund i sur., 2001.; Garcia-Bocanegra i sur., 2011.). Ostali poremećaji u ponašanju poput somnolencije, preosjetljivosti, pa čak i agresivnosti također se mogu pojaviti pri infekciji konja VZN-om (Ostlund i sur., 2001; Abutarbush i sur., 2004; Long, 2007; Garcia-Bocanegra i sur., 2011). U nekih konja razvijaju se simptomi slični narkolepsiji i poremećajima spavanja. Klinički slika izrazito varira s obzirom na kliničke simptome, intenzitet i trajanje, međutim u većine oboljelih konja do kliničkog poboljšanja dolazi nakon tri do sedam dana od pojave prvih znakova bolesti. Ako konji pokazuju značajno kliničko poboljšanje u tom razdoblju, za jedan do šest mjeseci može se očekivati potpuni oporavak u više od 90% slučajeva. U manjem broju slučajeva moguće su trajne posljedice poput slabosti, povremenih ataksija te gubitak funkcije jednoga ili više ekstremiteta (Long, 2007.). Ipak, potrebno je naglasiti da u slučaju očitovanja poremećaja središnjega živčanog sustava letalitet može biti vrlo visok te varirati od 22% do 44% (Murgue i sur., 2001a; Ostlund i sur., 2001.; Garcia-Bocanegra i sur., 2011.).

Pri infekciji VZN-om ljudi inkubacija iznosi dva do šest (najdulje 14) dana. Kao i u konja, većina infekcija VZN-om prolazi asimptomatski (oko 80%). U oko 20% zaraženih bolest se očituje kao nespecifična febrilna bolest (groznica VZN) s kliničkim znakovima sličnim influenci koji variraju u intenzitetu. U manje od 1% bolesnika razvija se neuroinvazivna bolest koja se očituje meningitisom, encefalitisom ili sindromom poliomijselitisa (akutna mlohava kljenut) (Hayes i sur., 2005.; Sejvar, 2007.). Najblaži oblik jest meningitis koji je prognostički povoljan s mogućim kratkotrajnim posljedicama (Klee i sur., 2004.). Pojavi li se klinički oblik encefalitisa, mortalitet može biti i do 20%, a u petine osoba koje prebole

akutnu bolest mogu zaostati neurološke posljedice (tremor i/ili ataksija), prisutne i dulje od godinu dana (Carson i sur., 2006.). Najteži je oblik sindrom poliomijselitisa u slučaju kojega mortalitet može iznositi i preko 50%. Oporavak pacijenata koji prebole ovaj oblik bolesti traje 6 – 8 mjeseci od pojave kljenuti uz mogućnost trajnih neuroloških posljedica (Sejvar i sur., 2006.).

## Dijagnostika

Na bolest Zapadnog Nila može se posumnjati na osnovi pojave opisanih kliničkih znakova na područjima na kojima je prema epizootiološkim podacima potvrđena aktivnost VZN-a. Od epizootioloških podataka u dijagnostici je važno da je, zbog primarnog prijenosa uzročnika vektorima, izrazita sezonost bolesti koja se podudara sa sezonom povećanog broja i aktivnosti vektora. U našim klimatskim uvjetima povećana vjerojatnost pojave kliničkih oblika bolesti je od lipnja do listopada, s najvećom vjerojatnošću za pojavu bolesti u kolovozu i rujnu u konja, dok se uginuća ptica mogu očekivati već od lipnja.

Klinički znakovi nisu patognomonični te se pri ustanovljivanju nespecifičnih kliničkih znakova poremećaja središnjega živčanog sustava u konja mora diferencijalnodijagnostički isključiti bjesnoća te rinopneumonitis konja uzrokovan neuropatogenim tipom konjskog herpesvirusa 1 koji je također proširen u RH (Barbić i sur., 2012.b). Iznimno je važno u slučaju pojave neuroloških znakova u konja objektivno dijagnosticirati o kojoj se od navedenih bolesti radi, jer su postupci s oboljelim životinjama i mjere u uzgojima potpuno različite, dok je rizik za ljude (bjesnoća) i infekciju drugih životinja (bjesnoća, rinopneumonitis konja) znatan.

Objektivna se dijagnostika infekcije VZN-om u konja provodi dokazom uzročnika ili serološkim pretragama. Ograničenje u dokazu uzročnika izdvajanjem, pa čak i molekularnim metodama, jest kratkotrajna viremija koja traje 4 – 6 dana i prestaje s pojavom kliničkih znakova (Bunning i sur., 2002.; Siger i sur., 2004.). Nadalje, odabir početnica za molekularnu dijagnostiku mora biti prilagođen linijama virusa koje cirkuliraju na nekom području zbog mogućnosti dobivanja lažno negativnih rezultata (Eiden i sur., 2010.). Zbog svega navedenog samo je pozitivan nalaz uzročnika potvrda bolesti, dok negativan nalaz molekularnih i virusoloških pretraga ne može biti siguran dokaz izostanka infekcije VZN-om. Dokaz uzročnika važniji je za objektivnu dijagnostiku *post mortem*, kad je virus znatno lakše dokazati u tkivu mozga uginule životinje.

Zbog svega navedenoga dijagnostika bolesti Zapadnog Nila najčešće se provodi serološkim metodomama. Serološkim se metodama mogu dokazivati specifična IgM i IgG protutijela. Dokaz IgM protutijela jest potvrda akutne infekcije u konja jer taj razred protutijela nastaje nekoliko dana nakon infekcije, a nestaje za dva do najdulje tri mjeseca (Castillo-Olivares i Wood, 2004.). Za razliku od konja, u ljudi IgM protutijela mogu biti prisutna u dokazivom titru znatno dulje pa ne moraju predstavljati potvrdu nedavne infekcije (Papa i sur., 2011.). Potvrda IgG protutijela dijagnostički je manje važna s obzirom na to da se ta protutijela mogu zadržati detektibilna i više od jedne godine te biti rezultat infekcije iz prethodne sezone. Uz to u državama u kojima se provodi cijepljenje konja, IgG protutijela mogu biti i posljedica cijepljenja. Važno je istaknuti da u serologiji poteškoću predstavljaju i križne reakcije s protutijelima za druge viruse pripadnike roda *Flavivirus*, od kojih su na području RH prošireni virus krpeljnog meningoencefalitisa te je odnedavno dokazana i proširenost Usutu virusa (Barbić i sur., 2013). Stoga serološka dijagnostika katkad zahtijeva i dodatne potvrđne testove.

### Liječenje, profilaksa i imunoprofilaksa

Kako nema etiološkog liječenja, liječenje oboljelih konja svodi se na potpuno i simptomatsko. Ono podrazumijeva primjenu infuzijskih otopina radi sprečavanja dehidracije, smanjivanje upalne reakcije središnjega živčanog sustava te minimaliziranje bilo kakvih podražaja koji bi mogli uzrokovati ekscitacije oboljelih životinja (npr. postavljanje vate u uši radi smanjenja zvučnih podražaja, prigušeno svjetlo...). Životinje je nužno smjestiti u adekvatan prostor te u slučaju liječanja držati ih u visiljkama. Opisana je uporaba hiperimunskih seruma, ali bez dokaza kliničke učinkovitosti, koja nije pouzdano dokazana niti za liječenje ribavirinom i interferonom (Angenvoort i sur., 2013).

Opća profilaksa infekcija VZN-om u konja, ali i ljudi, usmjerena je na što manju izloženost komarcima kao primarnim vektorima. Naravno da je nemoguće u potpunosti zaštititi konje od komaraca, ali se svakako može smanjiti njihova izloženost sustavnim dezinfekcijama u okolici objekata, uništavanjem potencijalnih staništa komaraca te korištenjem repelenata. Uz to, moguće je i držanje životinja u zatvorenim prostorima tijekom najveće aktivnosti vektora (u sumrak i svitanje) na područjima s dokazanom virusnom aktivnošću tijekom sezone prijenosa.

U ljudi mjere opće profilakse jedina su mogućnost profilakse s obzirom na to da ne postoji regi-

strirano cjepivo za ljude. Nespecifične se mjere prije svega odnose na kontrolu populacije komaraca kako bi se smanjila mogućnost prijenosa bolesti. Također, poseban naglasak treba staviti na mjere osobne zaštite, pa se pri boravku na otvorenom preporučuje nanošenje repelenata, nošenje majica dugih rukava, dugih hlača i čarapa. Kako je većina komaraca najaktivnija u zoru i sumrak, u to doba treba izbjegavati boravak na otvorenom. Budući da je životni ciklus komaraca vezan uz vodu, iz okućnice treba ukloniti vodu iz svih mjesta gdje se ona može zadržavati dulje od tjedan dana, koliko je potrebno da bi se ličinke razvile u odrasle jedinke. Važno je napomenuti da se u slučaju pojave bolesti ljudi provode protuepidemijske mjere koje uključuju larvicidni i adulticidni postupak dezinfekcije u bližoj okolici mjesta infekcije. Provođenje ove mjere utemeljeno je na relativno malom krugu kretanja najvažnijih vektora VZN-a tako da je protuepidemijska dezinfekcija usmjerena na legla komaraca u okruženju, koja su vjerojatno i bila izvor infekcije za oboljele.

Za razliku od ljudi, imunoprofilaksa u konja provodi se već dulje vrijeme s opisanim dobrim rezultatima. Cijepljenje je najproširenije u SAD-u, ali i sve prisutnije u europskim državama. Od početnih inaktiviranih cjepiva, imunoprofilaksa u konja se razvijala te su danas na tržištu dostupna i rekombinantna cjepiva. S obzirom na različite linije VZN-a pitanje je jesu li sva cjepiva prilagođena za uporabu u svim područjima, iako je u pojedinim istraživanjima dokazana učinkovita križna zaštita cjepiva koje je proizvedeno korištenjem soja VZN-a linije 1 u pokusnoj infekciji sojem VZN-a linije 2 (Minke i sur., 2011.). Upitna je i isplativost provođenja cijepljenja, poglavito u velikim skupinama ekstenzivno držanih konja s obzirom na to da se bolest očituje u najviše 8% sigurno inficiranih životinja. U prilog tomu ide i izostanak oboljevanja konja na području RH tijekom četiri godine sustavnog praćenja bolesti iako je dokazana virusna aktivnost, kao i oboljenja ljudi. Stoga, u RH se trenutno ne provodi cijepljenje konja protiv VZN-a, ali u slučaju da se započne provođenje imunoprofilakse, potrebno je striktno evidentirati svaku cijepljenu životinju kako bi se serološkim pretraživanjem kopitara i dalje mogao provoditi program kontrole proširenosti VZN-a u svrhu usmjerivanja i provođenja mjera javnoga zdravstva za zaštitu ljudi.

### LITERATURA

- Abutarbush, S. M., B. P. O'Connor, C. Clark, F. Sampieri, J. M. Naylor (2004): Clinical West Nile virus infection in 2 horses in western Canada. *Can. Vet. J.* 45, 315-317.

- Angenvoort, J., A. C. Brault, R. A. Bowen, M. H. Groschup (2013): West Nile viral infection of equids. *Vet. Microbiol.* dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.08.013.
- APHIS (2012): West Nile virus distribution maps, 1999-2012. Annual trends in U.S. distribution of equine West Nile virus cases. APHIS. [http://www.aphis.usda.gov/vs/nahss/equine/wnv/wnv\\_distribution\\_maps.htm](http://www.aphis.usda.gov/vs/nahss/equine/wnv/wnv_distribution_maps.htm).
- Bagnarelli, P., K. Marinelli, D. Trotta, A. Monachetti, M. Tavio, R. Del Gobbo, M. Capobianchi, S. Menzo, L. Nicoletti, F. Magurano, P. Varaldo (2011): Human case of autochthonous West Nile virus lineage 2 infection in Italy, September 2011. *Euro Surveill.*, 16 (43):pii: 20002.
- Bakonyi T., E. Ivanics, K. Erdelyi, K. Ursu, E. Ferenczi, H. Weissenböck, N. Nowotny (2006): Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 618-623.
- Bakonyi, T., Z. Hubalek, I. Rudolf, N. Nowotny (2005): Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 225-231.
- Barbić, Lj., E. Listeš, S. Katić, V. Stevanović, J. Madić, V. Starešina, A. Labrović, A. Di Gennaro, G. Savini, (2012a): Spreading of West Nile virus infection in Croatia. *Vet. Microbiol.* 159, 504-508.
- Barbić, Lj., I. Lojkić, V. Stevanović, T. Bedeković, V. Starešina, N. Lemo, M. Lojkić, J. Madić (2012b): Two outbreaks of neuropathogenic equine herpesvirus type 1 with breed-dependent clinical signs. *Vet. Rec.* 170, 227.
- Barbić, Lj., T. Vilibić-Čavlek, E. Listeš, V. Stevanović, I. Gjenero-Margan, S. Ljubin-Sternak, I. Pem-Novosel, I. Listeš, G. Mlinarić-Galinović, A. Di Gennaro, G. Savini (2013): Demonstration of Usutu Virus Antibodies in Horses, Croatia. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 13, 772-774.
- Bernkopf, H., S. Levine, R. Nerson (1953): Isolation of West Nile virus in Israel. *J. Infect. Dis.* 7, 128-32.
- Bondre, V. P., R. S. Jadi, A. C. Mishra, P. N. Yergolkar, V. A. Arankalle (2007): West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage. *J. Gen. Virol.* 88, 875-84.
- Bunning, M. L., R. A. Bowen, C. B. Cropp, K. G. Sullivan, B. S. Davis, N. Komar, M. S. Godsey, D. Baker, D. L. Hettler, D. A. Holmes, B. J. Biggerstaff, C. J. Mitchell (2002): Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* 8, 380-386.
- Carson, P. J., P. Konweko, K. S. Wold, P. Mariani, S. Goli, P. Bergloff, R. D. Crosby (2006): Long-term clinical and neurophysiological outcomes of West Nile virus infection. *Clin. Infect. Dis.* 43, 723-730.
- Castillo-Olivares, J., J. Wood (2004): West Nile virus infection of horses. *Vet. Res.* 35, 467-483.
- Chaskopoulou, A., C. Dovas, S. Chaintoutis, I. Bouzalas, G. Ara, M. Papanastassopoulou (2011): Evidence of enzootic circulation of West Nile virus (Nea Santa-Greece-2010, lineage 2), Greece, May to July 2011. *Euro Surveill.*, 16 (31): pii: 19933.
- De Filette, M., U. Sebastian, M. Diamond, N. N. Sanders (2012): Recent progress in West Nile virus diagnosis and vaccination. *Vet. Res.* 43, 16.
- Eiden, M., A. Vina-Rodriguez, B. Hoffmann, U. Ziegler, M. H. Groschup (2010): Two new real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction assays with unique target sites for the specific and sensitive detection of lineages 1 and 2 West Nile virus strains. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22, 748-753.
- Eidson, M., L. Kramer, W. Stone, Y. Hagiwara, K. Schmit, New York State West Nile Virus Avian Surveillance Team (2001): Dead bird surveillance as an early warning system for West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* 7, 631-635.
- Epp, T., C. Waldner, K. West, H. Townsend (2007): Factors associated with West Nile virus disease fatalities in horses. *Can. Vet. J.* 48, 1137-1145.
- Erdelyi, K., K. Ursu, E. Ferenczi, L. Szeredi, F. Ratz, J. Skare, T. Bakonyi (2007): Clinical and pathologic features of lineage 2 West Nile virus infections in birds of prey in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 7, 181-188.
- Garcia-Bocanegra, I., J. A. Jaen-Tellez, S. Napp, A. Arenas-Montes, M. Fernandez-Morente, V. Fernandez-Molera, A. Arenas (2011): West Nile fever outbreak in horses and humans, Spain, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 2397-2399.
- Gardner, I. A., S. J. Wong, G. L. Ferraro, U. B. Balasuriya, P. J. Hullinger, W. D. Wilson, P. Y. Shi, N.J. MacLachlan (2007): Incidence and effects of West Nile virus infection in vaccinated and unvaccinated horses in California. *Vet. Res.* 38, 109-116.
- Glávits, R., E. Ferenczi, E. Ivanics, T. Bakonyi, T. Mató, P. Zarka, V. Palya (2005): Co-occurrence of West Nile Fever and circovirus infection in a goose flock in Hungary. *Avian Pathol.* 34, 408-414.
- Goddard, L. B., A. E. Roth, W. K. Reisen, T. W. Scott (2003): Vertical transmission of West Nile Virus by three California *Culex* (Diptera: Culicidae) species. *J. Med. Entomol.* 40, 743-746.

- Hayes E.B., J. J. Sejvar, S. R. Zaki, R. S. Lanciotti, A. V. Bode, G. L. Campbell (2005): Virology, pathology, and clinical manifestations of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 1174-1179.
- Hubalek, Z., J. Halouzka (1999): West Nile fever – a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 643-650.
- HZJZ (2013): Služba za epidemiologiju. Priopćenje za javnost (3. 10. 2013.). [http://www.hzjz.hr/epidemiologija/zap\\_nil.htm](http://www.hzjz.hr/epidemiologija/zap_nil.htm)
- Jean C.M., S. Honarmand, J.K. Louie, C.A. Glaser (2007): Risk factors for West Nile virus neuroinvasive disease, California, 2005. *Emerg. Infect. Dis.* 13, 1918-1920.
- Klee A.L., B. Maidin, B. Edwin, I. Poshni, F. Mostashari, A. Fine, M. Layton, D. Nash (2004): Long-term prognosis for clinical West Nile virus infection. *Emerg. Infect. Dis.* 10, 1405-1411.
- Komar, N., S. Langevin, S. Hinten, N. Nemeth, E. Edwards, D. Hettler, B. Davis, R. Bowen, M. Bunning (2003): Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 311-322.
- Komar, N. (2000): West Nile viral encephalitis. *Rev. Sci. Tech.* 19, 166-176.
- Kutasi, O., T. Bakonyi, S. Lecollinet, I. Biksi, E. Ferenczi, C. Bahuon, S. Sardi, S. Zientara, O. Szenci (2011): Equine encephalomyelitis outbreak caused by a genetic lineage 2 West Nile virus in Hungary. *J. Vet. Intern. Med./Am. Coll. Vet. Intern. Med.* 25, 586-591.
- Lanciotti, R. S., J. T. Roehrig, V. Deube, J. Smith, M. Parker, K. Steele, B. Crise, K. E. Volpe, M. B. Crabtree, J. H. Scherret, R. A. Hall, J. S. MacKenzie, C. B. Cropp, B. Panigrahy, E. Ostlund, B. Schmitt, M. Malkinson, C. Banet, J. Weissman, N. Komar, H. M. Savage, W. Stone, T. McNamara, D. J. Gubler (1999): Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northern United States. *Science* 286, 2333-2337.
- Lim S. M., P. Koraka, A. D. Osterhaus, B. E. Martina (2011): West Nile Virus: Immunity and Pathogenesis. *Viruses* 3, 811-828.
- Long, M. T. (2007): *Flavivirus Infection. U: Equine infection diseases (ured. Sellon i Long)*, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, SAD, 198-206.
- Lvov, D. K., A. M. Butenko, V. L. Gromashevsky, A. I. Kovtunov, A. G. Prilipov, R. Kinney, V. A. Aristova, A. F. Dzharhenov, E. I. Samokhvalov, H. M. Savage, M. Y. Shchelkanov, I. V. Galkina, P. G. Deryabin, D. J. Gubler, L. N. Kulikova, S. K. Alkhovskiy, T. M. Moskvina, L. V. Zlobina, G. K. Sadykova, A. G. Shatalov, D. N. Lvov, V. E. Usachev, A. G. Voronina (2004): West Nile virus and other zoonotic viruses in Russia: examples of emerging-reemerging situations. *Arch. Virol. Suppl.* 18, 85-96.
- Mackenzie, J. S., D. T. Williams (2009): The zoonotic flaviviruses of southern, south-eastern and eastern Asia, and Australasia: the potential for emergent viruses. *Zoonoses Public Health.* 56, 338-356.
- Madić, J., Đ. Huber, B. Lugović (1993): Serological survey for selected viral and rickettsial agents of brown bears (*Ursus arctos*) in Croatia. *J. Wildl. Dis.* 29, 572-576.
- Madić, J., G. Savini, A. Di Gennaro, F. Monaco, B. Jukić, S. Kovač, N. Rudan, E. Listeš (2007): Serological evidence for West Nile virus infection in horses in Croatia. *Vet. Rec.* 160, 772-773.
- May F. J., C. T. Davis, R. B. Tesh, A. D. T. Barrett (2011): Phylogeography of West Nile virus: from the cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas. *J. Virol.* 85, 2964-2974.
- Minke, J. M., L. Siger, L. Cupillard, B. Powers, T. Bakonyi, S. Boyum, N. Nowotny, R. Bowen (2011): Protection provided by a recombinant ALVAC((R))-WNV vaccine expressing the prM/E genes of a lineage 1 strain of WNV against a virulent challenge with a lineage 2 strain. *Vaccine* 29, 4608-4612.
- Monaco, F., G. Savini, P. Calistri, C. Polci, C. Pinoni, R. Bruno, R. Lelli (2011): West Nile disease epidemic in Italy: First evidence of overwintering in Europe?. *Res. Vet. Sci.* 91, 321-326.
- Mukhopadhyay, S., B. S. Kim, P. R. Chipman, M. G. Rossmann, R. J. Kuhn (2003): Structure of West Nile virus. *Science* 302, 248.
- Murgue, B., S. Murri, H. Triki, V. Deubel, H.G. Zeller (2001a): West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000. *Ann. N Y Acad. Sci.* 951, 117-126.
- Murgue, B., S. Murri, S. Zientara, B. Durand, J. P. Durand, H. Zeller (2001b): West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: the return after 35 years. *Emerg. Infect. Dis.* 7, 692-696.
- Murray, K. O., C. Walker, E. Gould (2011): The virology, epidemiology, and clinical impact of West Nile virus: a decade of advancements in research since its introduction into the Western Hemisphere. *Epidemiol. Infect.* 139, 807-817.
- Ostlund, E. N., R. L. Crom, D. D. Pedersen, D. J. Johnson, W. O. Williams, B. J. Schmitt (2001): Equine West Nile encephalitis, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 7, 665-669.



- Papa, A., K. Danis, A. Athanasiadou, M. Delianidou, T. Panagiotopoulos (2011): Persistence of West Nile virus immunoglobulin M antibodies, Greece. *J. Med. Virol.* 83, 1857-1860.
- Pem-Novosel, I., T. Vilibić-Cavlek, I. Gjenero-Margan, N. Pandak, Lj. Perić, Lj. Barbić, E. Listes, A. Cvitković, V. Stevanović, G. Savini (2013): First Outbreak of West Nile Virus Neuroinvasive Disease in Humans, Croatia, 2012. *Vector Borne Zoonotic Dis.* doi:10.1089/vbz.2012.1295.
- Platonov, A. E., L. S. Karan', T. A. Shopenskaia, M. V. Fedorova, N. M. Koliashnikova, N. M. Rusakova, L. V. Shishkina, T. E. Arshba, V. I. Zhuravlev, M. V. Govorukhina, A. A. Valentseva, G. A. Shipulin (2011): Genotyping of West Nile fever virus strains circulating in southern Russia as an epidemiological investigation method: principles and results. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2, 29-37.
- Salazar, P., J. L. Traub-Dargatz, P. S. Morley, D. D. Wilmot, D. J. Steffen, W. E. Cunningham, M. D. Salman (2004): Outcome of equids with clinical signs of West Nile virus infection and factors associated with death. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 225, 267-274.
- Samuel, M. A., M. S. Diamond (2006): Pathogenesis of West Nile Virus Infection: a Balance between Virulence, Innate and Adaptive Immunity, and Viral Evasion. *J. Virol.* 80, 9349-9360.
- Savić, V. (2012): Virus Zapadnog Nila. *Vet. stn.* 43, 365-370.
- Schmidt, J. R., H. K. Elmansoury (1963): Natural and experimental infection of Egyptian equines with West Nile virus. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 57, 415-427.
- Schuler, L. A., M. L. Khaitza, N. W. Dyer, C. L. Stoltenow (2004): Evaluation of an outbreak of West Nile virus infection in horses: 569 cases (2002). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 225, 1084-1089.
- Sejvar, J. J. (2007): The long-term outcomes of human West Nile virus infections. *Emerg. infect. Dis.* 44, 1617-1618.
- Sejvar, J. J., A. V. Bode, A. A. Marfin, G. L. Campbell, J. Pape, B. J. Biggerstaff, L. R. Petersen (2006): West Nile virus-associated flaccid paralysis. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 1021-1027.
- Siger, L., R. A. Bowen, K. Karaca, M. J. Murray, P. W. Gordy, S. M. Loosmore, J. C. Audonnet, R. M. Nordgren, J. M. Minke (2004): Assessment of the efficacy of a single dose of a recombinant vaccine against West Nile virus in response to natural challenge with West Nile virus-infected mosquitoes in horses. *Am. J. Vet. Res.* 65, 1459-1462.
- Sirbu, A., C. S. Ceianu, R. I. Panculescu-Gatej, A. Vazquez, A. Tenorio, R. Rebreanu, M. Niedrig, G. Nicolescu, A. Pistol (2011): Outbreak of West Nile virus infection in humans, Romania, July to October 2010. *Euro Surveill.* 16 (2): pii:19762.
- Smithburn, K. C., T. P. Hughes, A. W. Burke, J. G. Paul (1940): A neurotropic virus isolated from a blood of a native of Uganda. *Am. J. Trop. Med.* 20, 471-492.
- Turković, B., Z. Brudnjak (1999): Natural foci of some viral zoonoses in Croatia. *Acta med. Croatica* 53, 195-198.
- Vazquez, A., M. P. Sanchez-Seco, S. Ruiz, F. Moleiro, L. Hernandez, J. Moreno, A. Magallanes, C. G. Tejedor, A. Tenorio (2010): Putative new lineage of West Nile virus, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 549-552.
- Venter, M., R. Swanepoel (2010): West Nile virus lineage 2 as a cause of zoonotic neurological disease in humans and horses in southern Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 10, 659-664.
- Vesenjāk-Hirjan, J. (1980): Arboviruses in Yugoslavia. *Zbl. Bakt. Suppl.* 9, 165-77.
- Vesenjāk-Hirjan, J., V. Punda-Polić, M. Dobec (1991): Geographical distribution of arboviruses in Yugoslavia. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 35, 129-140.
- Vilibić-Čavlek, T., Lj. Barbić, S. Ljubić-Sternak, I. Pem-Novosel, V. Stevanović, I. Gjenero-Margan, G. Mlinarić-Galinović (2013): West Nile virus infection: re-emergent disease in Croatia. *Lijec. Vjesn.* 135, 156-161.
- Wodak, E., S. Richter, Z. Bagó, S. Revilla-Fernández, H. Weissenböck, N. Nowotny, P. Winter (2011): Detection and molecular analysis of West Nile virus infections in birds of prey in the eastern part of Austria in 2008 and 2009. *Vet. Microbiol.* 149, 358-366.
- Yaremych, S. A., R. E. Warner, P. C. Mankin, J. D. Brawn, A. Raim, R. Novak (2004): West Nile virus and high death rate in American crows. *Emerg. Infect. Dis.* 10, 709-711.
- Zehender G., E. Ebranati, F. Bernini, A. Lo Presti, G. Rezza, M. Delogu, M. Galli, M. Ciccozzi (2011): Phylogeography and epidemiological history of West Nile virus genotype 1a in Europe and the Mediterranean basin. *Infect. Genet. Evol.* 11, 646-653.