



2021. XXI. évfolyam 3. szám

Tartalom:

Nyugat-nílusi láz állatorvos szemmel

Szerzők: Forgách Petra¹, Erdélyi Károly²

¹Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék, Budapest

²Eötvös Loránd Kutatási Hálózat Állatorvostudományi Kutatóintézet, Budapest

Humán nyugat-nílusi vírusfertőzések: hazai aktualitások

Szerzők: Nagy Anna¹, Horváth András^{1,2}, Nagy Orsolya¹, Koroknai Anita¹, Csonka Nikolett¹, Takács Mária¹

¹ Nemzeti Népegészségügyi Központ, Virális Zoonózisok Nemzeti Referencialaboratóriuma; Budapest

² Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

2021



Kiadja: Nemzeti Népegészségügyi Központ

A kiadó és a szerkesztőség székhelye: 1097 Budapest, Albert Flórián út 2-6.

Felelős kiadó: Dr. Müller Cecília

Alapító szerkesztő:

Dr. Füzi Miklós (Ph.D.)

Dr. Gacs Mária

Felelős szerkesztő:

Pásztai Judit

Mikrobiológiai Referencia Laboratóriumi Főosztály

Szerkesztő:

Áy Éva

Erdősi Tímea

Dr. Tóth Ákos (Ph.D.)

Technikai szerkesztő:

Adraveczi Lilla

Olvasó szerkesztő:

Dr. Dencs Ágnes (Ph.D.)

Készült a Nemzeti Népegészségügyi Központ nyomdájában
70 példányban

Nyomdavezető: Novák Anikó

ISSN 2063-9805 (Nyomtatott)

ISSN 2063-9813 (Online)

Nyugat-nílusi láz állatorvos szemmel

Szerzők: Forgách Petra¹, Erdélyi Károly²,

¹Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék, Budapest

²Eötvös Loránd Kutatási Hálózat Állatorvostudományi Kutatóintézet, Budapest

A nyugat-nílusi vírus (West Nile virus WNV), a *Flaviviridae* család *Flavivirus* nemzetségének tagja, és a mind állatokat, mind embereket érintő nyugat-nílusi láz (West Nile fever, WNF) kórokozója. A WNV vérszívó ízeltlábúak, főként szúnyogok közvetítésével elsősorban madarak közt cirkulál. A vírus fenntartó gazdái egyes madárfajok, melyekben a rendszerint szubklinikai, heveny lefolyású fertőzés magas vírustiterű viraemiával jár (Bakonyi et al., 2013). Más madárfajokban, valamint emlősökben (ember, ló, juh) a fertőzés az esetek többségében tünetmentes, klinikai formában rendszerint lázzal, általános influenza-szerű tünetekkel jellemezhető, ritkán a súlyosabb agyvelő-károsodással járó nyugat-nílusi neuroinvaszív tünetegyüttes (West Nile neuroinvasive disease, WNND) kialakulása is megfigyelhető (Heinz et al., 2000). A fertőzés madarak közötti cirkulációjáért elsősorban ornitophil, a fenntartó gazdáról alkalmi gazdákra történő közvetítéséért a madarakon és emlősökön is táplálkozó ún. "hídvektor" szúnyogok felelősek. A vírus globális elterjedtsége, zoonotikus természete és a klímaváltozás járványtani következményei, valamint a 2018. évi kiemelkedő fertőzési esetszámmal járó szúnyogszezon miatt a WNV kutatása az elmúlt években egyre intenzívebbé vált (Hayes et al., 2005 a and b; Nagy et al., 2019).

KÓROKTAN

A nyugat-nílusi vírus burkos, ikozaéder kapszid-szimmetriájú és egyszálú, pozitív irányítottágú RNS genommal rendelkezik (Rice et al, 1986). Az antigénszerkezetre irányuló vizsgálatok alapján a WNV az ún. Japán encephalitis vírus (JEV) szerokomplex tagja. A szerokomplexben más flavivírusokat is találunk, úgymint a Cacipacore vírus (CPCV), a Koutango vírus (KOUV), a St. Louis encephalitis vírus (SLEV), a Murray Valley encephalitis vírus (MVEV), az Alfuy vírus (ALFV), az Usutu vírus (USUV) és a Yaounde vírus (YAOV) (Heinz et al., 2000). Genetikai vizsgálatok alapján jelenleg 9 filogenetikai vonalat (lineage) különböztetünk, melyek között a lineage-1 és lineage-2 tagjai patogének (Pachler et al., 2014; Fall et al., 2017). A lineage-1 törzsek jelenlétét elsősorban Afrikában, Európában, a Közel-Keleten és Ausztráliában, 1999 óta pedig az Egyesült Államokban is kimutatták (Gray and Webb, 2014). A lineage-2 törzseket először Dél-Afrikában és Madagaszkáron detektálták, 2004-2005-ben azonban felbukkantak Közép-Európában is. Megjelenésüket követően ezek a törzsek egész Európában elterjedtek, és

jelenleg a szúnyogokból, madarakból, lovakból és emberekből kimutatott vírusok szinte minden esetben a 2-es genetikai vonalba tartoznak (Erdogan Bamac et al., 2021; Mencatelli et al., 2022). Magyarországon 2004 óta kizárólag lineage 2 törzseket azonosítottak a vizsgált mintákból (Erdogan Bamac et al., 2021).

ELTERJEDTSÉG

A nyugat-nílushi vírust első alkalommal 1937-ben, Ugandában mutatták ki, lázas tünetekben szenvedő betegek vérében (Smithburn et al., 1940). A széles körű szeropozitivitás ellenére a vírus kóroktani szerepe a humán megbetegedések hátterében először nem volt egyértelmű. Később, egyiptomi felméréseket követően körvonalazódott, hogy a WNV nem csak emberekben, hanem más emlősállatokban, elsősorban lovakban, valamint madarakban is fertőzést okoz, és szúnyogokból is kimutatták (Melnick et al., 1951). Az ezt követő évtizedekben európai, afrikai és ázsiai járványokból származó mintákban is azonosították a vírust, 1999-ben pedig az USA-ban is leírták a WNV megjelenését (Hubálek and Halouzka, 1999). Az 1999-es járványkitörés a betegség szezonálisának megfelelően késő nyáron történt, amikor az északkeleti államokban emberi agyvelőgyulladásos esetekkel egyidőben varjak és egzotikus madarak tömeges elhullását figyelték meg egy állatkertben (Anderson et al., 1999). Öt éven belül a vírus nem csak az Egyesült Államokban, hanem Kanadában és Mexikóban is elterjedté vált (Blitvich et al., 2003). A 2020-as évekig a WNV felbukkanását a világ szinte minden országából jelentették (Fall et al., 2019).

A WNV terjedése az Óvilágban az Eurázsia északi területei és a Mediterráneum, valamint Afrika közötti madárvonulásokhoz köthető, és ugyanez magyarázza az afrikai és közel-keleti eredetű új vírustörzsek felbukkanását az európai országokban (Hubálek, 2000; Vilibic-Cavlek et al., 2019). Az Egyesült Államokban elsőként megjelent WNV törzs nagy valószínűséggel Izraelből származott, a behurcolás útját és módját azonban nem sikerült tisztázni (Giladi et al., 2001).

ÖKOLÓGIA ÉS JÁRVÁNYTAN

A WNV fertőzési ciklusának központi szereplői a madarak és a rajtuk táplálkozó szúnyogfajok. Több, mint 65 szúnyogfajból kimutatták már a vírus jelenlétét, azonban a legfőbb vektoroknak a *Culex* fajokat, többek között a *Cx. pipiens* biotípusait tartják (Colpitts et al., 2012). A nőstény szúnyogban a fertőzött madár gazdából történt első vérszívást követően 10-14 nap inkubációs idő elteltével szaporodik fel egy újabb vérszívás alkalmával a gazda fertőzéséhez elegendő vírustiter. A *Cx. pipiens pipiens* biotípus ornithofil, emiatt a fertőzés madarak körében történő terjesztéséért felelős. A legtöbb madárfajban

a fertőzés tünetmentes és magas viraemiás titerrel jár, ezek rezervoár szerepet játszanak a vírus járványtanában. A fertőzés madarokról emlősökre való átviteléért az ún. „hídvektor” szúnyogok felelősek, melyek madár és emlős gazdán is táplálkoznak. A *Cx. pipiens molestus* biotípus szinte kizárólag emlősökön táplálkozik, ezért járványtani szerepe elhanyagolható. Ugyanakkor a *pipiens* és *modestus* biotípusok hibridjei madarakon és emlősökön is táplálkoznak, így a rezervoár fajokból az alkalmi gazdákra közvetítik a fertőzést (Vogels et al., 2017). Az alkalmi gazdáiban (ember, ló, juh) a viraemiás titer alacsony, ezért róluk vektor útján nem terjed tovább a fertőzés, más utakon azonban (pl. vérátömlesztés) lehetséges a fertőzés átvitele (Bowen et al., 2007; Costa et al., 2011). Horizontális fertőzés madarak között gyakoribb, pl. az ivóvíz vírust tartalmazó testnedvekkel (nyál, bélsár) való szennyezettsége, ragadozómadarak esetében pedig fertőzött zsákmány elfogyasztása útján (Garmendia et al., 2000; Banet-Noach et al., 2003). A WNV jelenlétét kullancsokban is megfigyelték és vizsgálták ezen vérszívók szerepét is a fertőzés terjesztésében. Egyes kullancsfajokban a vírus hosszú ideig való fennmaradását is kimutatták, ezért a fertőzés kullancsok általi közvetítése lehetségesnek tűnik, ugyanakkor egyelőre nem igazolt (Hayes, 1989; Lawrie et al., 2004).

KÓRFEJLŐDÉS

A vérszívás során a szúnyog által a bőrbe inokulált vírus először helyben multiplikálódik, majd a környéki nyirokcsomókon át a véráramba, majd a parenchimás szervekbe kerül, ahol a vírusszaporodás tovább folytatódik (Valiakos et al., 2013). A viraemiás titer a sejtes immunválasztól függ, szintje az ellenanyagok megjelenését követően rohamosan csökken. A viraemiás titer mértékétől függően, a Toll-like receptorok stimulációja, valamint a tumor necrosis faktor- α szintjének növekedésével a vér-agy gát permeabilitásának növekedését követően a vírusrészecskék az agyvelőben is megjelennek. A WNV a szürkeállomány sejtjeiben szaporodva és egyéb idegsejtek destrukciójával - melynek következményeit egyes vélekedések szerint az immun-mediált szövetkárosító hatások is fokozzák - bénulásos tüneteket okoz a fertőzött állatokban és embereken (DeBiasi, 2011). A WNV neuroinvazív tulajdonsága izolátumonként változó, és nem függ attól, melyik genetikai vonalhoz tartozik a kimutatott vírustörzs (Beasley et al., 2004).

KLINIKAI TÜNETEK ÉS KÓRBONCTANI ELVÁLTOZÁSOK

Mind embereken, mind állatokban, a WNV fertőzések kb. 80-90%-a szubklinikai formában zajlik, a betegség átvészelésére csupán a szerokonverzió utal. Az esetek 10-20 %-ában azonban klinikai tünetek is megfigyelhetők, melyek súlyossága az enyhe láztól a halálos kimenetelű agyvelőgyulladásig

terjedhet emberekben, madarakban és emlősállatokban is (Banet-Noach et al., 2003).

Állatorvosi területen elsősorban a lovak WNV-fertőzöttségének van jelentősége. Az esetek kis százalékában lázas általános tünetek, étvágytalanság, bágyadtság jellemző. A fertőzések kb. 1%-a vezet súlyos központi idegrendszeri tünetekkel járó neuroinvaszív nyugat-nílusi tünetegyütteshez, melyben savós agyhártya-, illetve agy-, és gerincvelő-gyulladás alakul ki. Utóbbi előfordulásakor 3-8 nap lappangási idő után láz, étvágytalanság, bágyadtság figyelhető meg, később a súlyos idegrendszeri károsodásra a bőr túlérzékenysége, hátsó testfél gyengeség, fogcsikorgatás, görcsök, járászavar (ataxia, kényszermozgások), bénulás, kóma utal. Az idegrendszeri tünetekkel járó forma 34-42% letalitással jár, a gyógyult állatokban is idegrendszeri károsodások maradnak vissza. A 2001-ben az USA-ban lejátszódott járványban az igazolt esetek kb. 33%-a végződött a fertőzött lovak elhullásával (Porter et al., 2003). Juhokban a nyugat-nílusi láz a lovakhoz hasonló klinikai tünetekben nyilvánul meg: a láz és étvágytalanság mellett az idegrendszeri tünetek között tántorgást, reszketést, kényszermozgásokat, nyálzást, rendellenes fejtartást, vakságot írtak le (Rimoldi et al., 2017). Húsevőkben (kutya, farkas, macska) és kisémlősökben ritkán figyelnek meg nyugat-nílusi lázat, szakirodalmi adatok alapján azonban előfordulhat klinikai, súlyos idegrendszeri tünetekkel járó fertőzés (Lichtensteiger et al., 2003; Austgen et al., 2004).

A madárfajok egy részében a fertőzés nem jár klinikai tünetekkel, ezek a madarak észrevétlenül tartják fenn és terjesztik vándorlásuk révén a nyugat-nílusi vírust akár kontinensek között is. Ugyanakkor az újvilági varjúfélek különösen érzékenyek, bennük a fertőzés 3 héten belül elhulláshoz vezet (Komar et al., 2003). A klinikai tünetek hasonlóak az emlősállatokban megfigyeltékhez: inkoordinált járás, gyengeség, letargia, reszketés és rendellenes fejtartás jellemző. Ragadozó madarakban a fertőzés szubklinikai szerokonverziótól idegrendszeri tünetekkel kísért elhullásig terjedő súlyossággal járhat (Erdélyi et al., 2007; Soltész et al., 2017). A házimadarak közül a házi tyúk kevésbé tűnik fogékonyak a fertőzésre, galambokban és vízimadarokban (lúd, kacska) görcsök, ataxia, rendellenes fejtartás, bénulás és 14-40% letalitás figyelhető meg (Kramer and Bernard, 2001; Bakonyi et al., 2006).

A nyugat-nílusi láz nem jár makroszkópos kórbonctani elváltozásokkal állatokban sem, az agyvelői károsodás jeleit kórszövetteni vizsgálattal lehet megfigyelni: a vírusszaporodás okozta direkt neuronsejt-destrukció mellett gyulladás, sejtes infiltráció és interstitialis ödéma jellemző (Sampson et al., 2000; Komar et al., 2003). Az idegsejtek funkciójának károsodása a fertőzés fatális kimenetelének alapja, ugyanerre vezethető vissza a gyógyulást követő maradandó károsodások (viselkedésváltozás, tanulási nehézségek) kialakulása (Austgen et al., 2004). Lovakban a gerincvelőben is megfigyelhetők a gyulladás



kórszövetteni jelei, elsősorban a mellkasi és ágyéki szakaszokon, mind a fehér-, mind a szürkeállományban (Castillo-Olivares and Wood, 2004).

KÓRJELZÉS

A szubklinikai WNV fertőzések állatokban rendszerint felderítetlenül maradnak, általában felmérő, a vakcinázás szükségességére irányuló szerológiai vizsgálatok alapján derül ki, hogy a lovak korábban már megfertőződtek a vírussal. A klinikai tünetekkel járó fertőzéskor a lázas stádiumban lehet a vírus kimutatását megkísérelni a szérumban, illetve a vérből szeparált fehérvérsejtekben, idegrendszeri tünetek esetén a cerebrospinális folyadékban. Lovakban a viraemia rendszerint rövid. Elhullást követően madarakban és lovakban is kimutatható a vírus az agyvelőből és gerincvelőből, és megkísérelhető a parenchimás szervekből is. A vírus kimutatását és azonosítását rendszerint nukleinsav-detektáló módszerekkel (hagyományos vagy valós idejű reverz-transzkripció polimeráz láncreakció, RT-PCR, qRT-PCR) végzik, a vírus izolálható a minta szopósegér agyvelőbe, embrionált tojás allantois vagy amnionüregébe, vagy a fertőzésre fogékony sejtenyésztetre (primer liba embrió fibroblaszt vagy Vero sejtvonal) oltásával. A nukleinsav-kimutatást BSL-2, a vírusizolálást BSL-3 körülmények között kell végezni. A vírusantigén jelenléte a szövetekben immunhisztokémiai módszerekkel is vizsgálható (Erdélyi et al., 2007).

Az indirekt víruskimutatás során rendszerint ELISA kitékkel mutatják ki az IgM vagy IgG típusú ellenanyagok jelenlétét, ezek azonban a Japán encephalitis szerokomplexbe tartozó vírusok közeli antigénrokonsága miatt nem adnak specifikus eredményt. Az immunválaszt kiváltó vírus beazonosításához haemagglutináció-gátlási próba, immunfluoreszcenciás vagy vírusneutralizációs teszt szükséges.

A klinikai tünetekben megnyilvánuló, idegrendszeri tünetekkel járó fertőzés esetén elkülönítő kórjelzés is szükséges. Madarakban a nyugat-nílusi lázhoz hasonló klinikai tünetekkel jár a baromfipestis, madárinfluenza, madár encephalomyelitis (járványos remegés), madárinfluenza és Marek-betegség, togavírusok okozta járványos agy- és gerincvelő gyulladás, bakteriális és gombás fertőzések, valamint az E, B1 vagy B2 vitaminhiány.

Lovakban többek között a veszettség, a herpeszvírus-fertőzések, a togavírusok okozta járványos agy- és gerincvelő gyulladás, a japán encephalitis, a bornai betegség vagy a botulizmus, esetleg mérgezés jön szóba az elkülönítő kórjelzésben. A fertőzés gyanújának megfogalmazásakor a klinikai tünetek mellett figyelembe kell venni a nyugat-nílusi láz szezonális jellegét is.

VÉDEKEZÉS, MEGELŐZÉS

A WNV transzmissziója járványidőszakban a fenntartó gazdák (egyes madárfajok) és a szúnyogok populációdinamikájától függ. Az alkalmi gazdáknál előforduló fertőzések számát urbánus környezetben elsősorban szúnyogirtással, a szúnyogszaporodás kontrolljával (virágcserep-aljakban és egyéb kerti edényekben pangó vizek megszüntetése) valamint a vérszívás megakadályozására szúnyogháló és repellenszerek alkalmazásával lehet csökkenteni. A természetben azonban a rovarirtó szerek használata súlyos ökológiai következményekkel járhat, emiatt a vadon élő állatokban a fertőzés megelőzésére eddig nem történtek próbálkozások. A járványidőszak előrejelzésére és nyomon követésére az emberi és ló fertőzések, madár elhullások kivizsgálásával történő passzív monitoring, valamint a szúnyogmintákban vírus kimutatásával történő aktív monitoring alkalmazható. Hazánkban a nyugat-nílusi láz bejelentési kötelezettség alá tartozó betegség emberekben és lovakban is (1/2014 EMMI rendelet, 113/2008 FVM rendelet). A lovak fertőzöttségi adatai az Állategészségügyi Világszervezet (OIE) és az Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ (ECDC) által is feldolgozásra kerülnek. Az ECDC néhány éve nem kötelező jelleggel a madár-WNV fertőzésekről szóló információkat is gyűjti és honlapján szöveges és grafikus módon is közzéteszi.

Lovak számára inaktivált vagy rekombináns WNV vakcina hazánkban is elérhető, de házi lúd és ragadozómadarak védettségének kialakításához hatékony oltóanyag, bár solymászok részéről lenne rá igény, egyelőre nem elérhető. Klinikai tünetekben megnyilvánuló betegség esetén a gyógykezelési lehetőségek limitáltak állatokban, támogató terápia alkalmazható a betegség legyőzésének elősegítésére.

ÁLLATOK NYUGAT-NÍLUSI VÍRUS FERTŐZÉSE MAGYARORSZÁGON

Magyarországon először 1969-ben szerológiai vizsgálatokkal mutatták ki a WNV jelenlétét (Koller et al., 1969), a vírust később, rágcsálókban izolálták (Molnár, 1982). Klinikai tünetekben megnyilvánuló betegséget hazánkban egy házi lúd állományban írtak le először 2003-ban nagymértékű elhullás és ennek kóroki felderítését követően (Glávits et al., 2005). Ezzel egyidőben humán agyvelő-gyulladásos esetek is jelentésre kerültek (Ferenczi et al., 2005). Egy évvel később a Körös-Maros Nemzeti Parkban elhullott héja esetében szövettani, immunhisztokémiai és virológiai vizsgálattal igazolták a WNV fertőzést (Erdélyi et al., 2007). A 2003-ban izolált vírus az 1-es genetikai vonalba, míg a 2004-ben izolált, valamint az azóta előfordult esetekből kimutatott vírusok a lineage 2-be tartoznak (Bakonyi et al., 2006; Erdélyi et al., 2007; Kecskeméti et al., 2007). Lovak megbetegedését először 2007-ben írták le

hazánkban (Kutasi et al., 2011.). Míg a fertőzések 2007-ig az alföldi régióban fordultak elő, 2008-tól az ország más területein is megjelentek vadon élő madarakban, lovakban és emberekben is (Bakonyi és Erdélyi, 2011; Bakonyi et al., 2013). A 2007-2008-as években tapasztalt esetszám-emelkedési csúcsot követően a következő nagy nyugat-nílusi láz esetszámmal járó szúnyogszezon 2018-ban zajlott Európában. Ebben az évben a korai kezdetű, meleg, csapadékos tavasz kedvezett a szúnyog-gradációnak, következményként hazánkban 91 ló és 17 vadmadár- esetet jelentettek (Zana et al., 2020). Az ezt követő években a vírusaktivitás csökkent, lovakban 1-7, vadmadarakban 2-3 eset jelentésére került sor. Az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék Virologia Munkacsoport, az Eötvös Loránd Kutatási Hálózat Állatorvostudományi Kutatóintézet, valamint az ELKH Ökológiai Kutatóközpont munkatársainak az NKFIH OTKA-120118 projekt (Új diagnosztikai módszerek kifejlesztése és alkalmazása a Kárpát-medencében felbukkanó vagy honos arbovírusok kimutatására és jellemzésére) keretében támogatott együttműködésében végzett vizsgálatokban a 2019-2021. évi szúnyogszezonokban gyűjtött több ezer szúnyogminta egyikében sem mutattuk ki a WNV jelenlétét. Az együttműködés folytatásában a szúnyogmonitoring több területre kiterjesztése, a nagyobb mintaszám vizsgálata és a víruskimutatási módszer további fejlesztése a célunk.

Irodalomjegyzék:

Anderson J.F., Andreadis T.G., Vossbrink C.R., Tirrell S., Wakem E.M., French R.A., Garmendia A.E. & van Kruiningen H.J. (1999): Isolation of West Nile virus from mosquitoes, crows, and a Cooper's hawk in Connecticut. *Science* **286**, p. 2331-2333.

Austgen L.E., Bowen R.A., Bunning M.L., Davis B.S., Mitchell C.J. & Chang G.J. (2004): Experimental infection of cats and dogs with West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* **10**, p. 82-86.

Bakonyi T., Erdélyi K (2011): Increased bird of prey mortality in Hungary due to West Nile virus infection. *Ornis Hungarica* **19**: 1–10.

Bakonyi T, Ivanics E, Erdélyi K, et al. (2006): Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis.*;12(4):618-623.

Bakonyi T., Hubalek Z., Rudolf I. & Nowotny N. (2005): Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* **11**, p. 225-231.

Bakonyi T., Ivanics E., Erdelyi K., Ursu K., Ferenczi E., Weissenbock H. & Nowotny N. (2006): Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis.* **12**, p. 618-623.

Bakonyi, T., Ferenczi, E., Erdélyi, K., Kutasi, O., Csörgő, T., Seidel, B., ... Nowotny, N. (2013): Explosive spread of a neuroinvasive lineage 2 West Nile virus in Central Europe, 2008/2009. *Veterinary Microbiology*, **165**, 61–70.

Banet-Noach C., Simanov L. & Malkinson M. (2003): Direct (non-vector) transmission of West Nile virus in geese. *Avian Pathol.* **32**, p. 489-494.

Beasley DW, Davis CT, Whiteman M, et al. (2004): Molecular determinants of virulence of West Nile virus in North America. *Arch Virol Suppl.*;18:35–41.

Blitvich B.J., Fernandez-Salas I., Contreras-Cordero J.F., Marlenee N.L., Gonzalez-Rojas J.I., Komar N., Gubler D.J., Calisher C.H. & Beaty B.J. (2003): Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Coahuila State, Mexico. *Emerg. Infect. Dis.* **9**, p. 853-856.

Bondre V.P., Jadi R.S., Mishra A.C., Yergolkar P.N. & Arankalle V.A. (2007): West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage. *J Gen Virol.* **88**, p.875-884.

Bowen RA, Nemeth NM. (2007): Experimental infections with West Nile virus. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 20:293–297

Castillo-Olivares J. & Wood J. (2004): West Nile virus infection of horses. *Vet. Res.* **35**, p. 467-483.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2005): West Nile virus activity--United States, 2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* **54**, p. 678-679.

Charrel R.N., Brault A.C., Gallian P., Lemasson J.J., Murgue B., Murri S., Pastorino B., Zeller H., de Chesse R., de Micco P. & de Lamballerie X. (2003): Evolutionary relationship between Old World West Nile virus strains. Evidence for viral gene flow between Africa, the Middle East, and Europe. *Virology* **315**, p. 381-388.

Colpitts TM, Conway MJ, Montgomery RR, Fikrig E. (2012): West Nile Virus: biology, transmission, and human infection. *Clin Microbiol Rev.*;25:635-648.

Costa AN, Capobianchi MR, Ippolito G, Palu G, Barzon L, Piccolo G, et al. (2011): West Nile virus: the Italian national transplant network reaction to an alert in the north-eastern region, Italy 2011. *Euro Surveill.* Oct 13;16(41).

DeBiasi, R.L. (2011): West Nile Virus Neuroinvasive Disease. *Curr Infect Dis Rep* 13, 350–359

Erdélyi K., Ursu K., Ferenczi E., Szeredi L., Rátz F., Skáre J. & Bakonyi T. (2007): Clinical and pathologic features of lineage 2 West Nile virus infections in birds of prey in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 7, p. 181-188.

Erdogan Bamac, O., Cizmecigil, U.Y., Mete, A., Yilmaz, A., Aydin, O., Tali, H.E., Tali, B.H., Yilmaz, S.G., Gurel, A., Turan, N. and Ozsoy, S., (2021): Emergence of West Nile Virus Lineage-2 in Resident Corvids in Istanbul, Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 21, 892-899.

Fall G, Di Paola N, Faye M, Dia M, Freire CCM, Loucoubar C, Zanutto PMA, Faye O, Sall AA. (2017): Biological and phylogenetic characteristics of West African lineages of West Nile virus. *PLoS Negl Trop Dis.* Nov 8;11

Ferenczi E., Rác G., Faludi G., Czeglédi A., Mezey I. & Berencsi G. (2005): Natural foci of viral zoonoses in Hungary. *NATO Science Series.*

Garmendia A.E., van Kruiningen H.J., French R.A., Anderson J.F., Andreadis T.G., Kumar A. & West A.B. (2000): Recovery and identification of West Nile virus from a hawk in winter. *J Clin Microbiol.* 38, p. 3110-3111.

Giladi M., Metzkor-Cotter E., Martin D.A., Siegman-Igra Y., Korczyn A.D., Rosso R., Berger S.A., Campbell G.L. & Lanciotti R.S. (2001): West Nile encephalitis in Israel, 1999: the New York connection. *Emerg. Infect. Dis.* 7, p. 654-658.

Glávits R., Ferenczi E., Ivanics É., Bakonyi T., Mató T., Zarka P. & Palya V. (2005): Occurrence of West Nile Fever in a circovirus infected goose flock in Hungary. *Avian Pathol.* 43, p. 408-414.

Gray TJ, Webb CE. (2014): A review of the epidemiological and clinical aspects of West Nile virus. *Int J Gen Med.* 7,193–203.

Hayes C.G. (1989): West Nile fever. In: *Monath T.P. (ed): The arboviruses: epidemiology and ecology*, vol. V.; CRC Press, Boca Raton, FL, p 59–88.

Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S., Montgomery S.P., O'leary D.R. & Campbell G.L. (2005a): Epidemiology and Transmission Dynamics of West Nile Virus Disease. *Emerg. Infect. Dis.* 11, p. 1167-1173.

Hayes E.B., Sejvar J.J., Zaki S.R., Lanciotti R.S., Bode A.V. & Campbell G.L. (2005b): Virology, Pathology, and Clinical Manifestations of West Nile Virus Disease. *Emerg. Infect. Dis.* 11, p. 1174-1179.

Heinz F.X., Collett M.S., Purcell R.H., Gould E.A., Howard C.R., Houghton M., Moormann R.J., Rice C.M. & Thiel H.J. (2000): Family *Flaviviridae* In: *van Regenmortel M.H.V., Faquet C.M., Bishop D.H.L. (eds): Virus Taxonomy, Seventh International Committee for the Taxonomy of Viruses.* San Diego: Academic Press, p. 859–878.

Hubálek Z. & Halouzka J. (1999): West Nile fever – a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 5, p. 643-650.

Hubálek Z. (2000): European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: could it be relevant for the New World? *Viral. Immunol.* 13, p. 415-426.

Koller M., Gresikova M., Berencsi Gy. & Schablik M. (1969): Hemagglutination inhibition antibodies to arboviruses in the population of Hajdú-Bihar district, Hungary. *Folia Parasitologica* **16**, p. 75-79.

Komar N., Langevin S., Hinten S., Nemeth N., Edwards E., Hettler D., Davis B., Bowen R. & Bunning M. (2003): Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* **9**, p. 311-322.

Kramer L.D. & Bernard K.A. (2001): West Nile virus infection in birds and mammals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **951**, p. 84-93.

Kutasi O., Bakonyi T., Lecollinet S., Biksi I., Ferenczi E., Bahuon C., Sardi S., Zientara S. & Szenci O. (2011): Equine encephalomyelitis outbreak caused by a genetic lineage 2 West Nile virus in Hungary. *J Vet Intern Med.* **25**, p. 586-591.

Lanciotti R.S., Ebel G.D., Deubel V., Kerst A.J., Murri S., Meyer R., Bowen M., McKinney N., Morrill W.E., Crabtree M.B., Kramer L.D. & Roehrig J.T. (2002): Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the Middle East. *Virology* **298**, p. 96-105.

Lawrie CH, Uzcátegui NY, Gould EA, Nuttall PA. (2004): Ixodid and argasid tick species and west nile virus. *Emerg Infect Dis.*;10(4):653-657.

Lichtensteiger CA, Heinz-Taheny K, Osborne TS, Novak RJ, Lewis BA, Firth ML. (2003): West Nile virus encephalitis and myocarditis in wolf and dog. *Emerg Infect Dis.*;9(10):1303-1306.

Melnick J.L., Paul J.R., Riordan J.T., Barnett V.H., Goldblum N. & Zabin E. (1951): Isolation from human sera in Egypt of a virus apparently identical to West Nile virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **77**, p. 661-665.

Mencattelli, G.; Iapaolo, F.; Monaco, F.; Fusco, G.; de Martinis, C.; Portanti, O.; Di Gennaro, A.; Curini, V.; Polci, A.; Berjaoui, S.; et al. (2022): West Nile Virus Lineage 1 in Italy: Newly Introduced or a Re-Occurrence of a Previously Circulating Strain? *Viruses*, **14**, 64.

Molnár E. (1982): Occurrence of tick-borne encephalitis and other arboviruses in Hungary. *Geographia Medica.* **12**, p. 78-120.

Nagy A, Mezei E, Nagy O, Bakonyi T, Csonka N, Kaposi M, Koroknai A, Szomor K, Rigó Z, Molnár Z, Dánielisz Á, Takács M. (2019): Extraordinary increase in West Nile virus cases and first confirmed human Usutu virus infection in Hungary, 2018. *Euro Surveill.* **24**(28):1900038.

Pachler K, Lebl K, Berer D, Rudolf I, Hubalek Z, Nowotny N. (2014): Putative new West Nile virus lineage in *Uranotaenia unguiculata* mosquitoes, Austria, 2013. *Emerg Infect Dis.*, **20**, 2119-2122.

Porter M.B., Long M.T., Getman L.M., Giguere S., MacKay R.J., Lester G.D., Alleman A.R., Wamsley H.L., Franklin R.P., Jacks S., Buergelt C.D. & Detrisac C.J. (2003): West Nile virus encephalomyelitis in horses: 46 cases (2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **222**, p. 1241-1247.

Rice C.M., Strauss E.G. & Strauss J.H. (1986): Structure of the flavivirus genome. In: *Schlesinger S. & Schlesinger M.J. (eds.):* The Togaviridae and Flaviviridae. Plenum Press, New York, p. 279-326.

Rimoldi G, Mete A, Adaska JM, Anderson ML, Symmes KP, Diab S. (2017): West Nile Virus Infection in Sheep. *Vet Pathol. Jan*;54(1):155-158.

Sampson B.A., Ambrosi C., Charlot A., Reiber K., Veress J.F. & Armbrustmacher V. (2000): The pathology of human West Nile Virus infection. *Hum. Pathol.* **31**, p. 527-531.

Smithburn K.C., Hughes T.P., Burke A.W. & Paul J.H. (1940): A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **20**, p. 471.

Soltész Z, Erdélyi K, Bakonyi T, et al. (2017): West Nile virus host-vector-pathogen interactions in a colonial raptor. *Parasit Vectors.* **10**(1):449.

Taylor R.M., Work T.H., Hurlbut H.S. & Rizk F. (1956): A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **5**, p. 579-620.

Valiakos, G. et al., (2013): West Nile Virus: Basic Principles, Replication Mechanism, Immune Response and Important Genetic Determinants of Virulence, in G. Rosas-Acosta (ed.), *Viral Replication*, IntechOpen, London.

Vilibic-Cavlek T, Savic V, Petrovic T, Toplak I, Barbic L, Petric D, Tabain I, Hrnjakovic-Cvijetkovic I, Bogdanic M, Klobucar A, Mrzljak A, Stevanovic V, Dinjar-Kujundzic P, Radmanic L, Monaco F, Listes E and Savini G (2019): Emerging Trends in the Epidemiology of West Nile and Usutu Virus Infections in Southern Europe. *Front. Vet. Sci.* **6**:437.

Vogels CBF, Hartemink N, Koenraadt CJM. (2017): Modelling West Nile virus transmission risk in Europe: effect of temperature and mosquito biotypes on the basic reproduction number. *Sci Rep.* Jul 10;7(1):5022.

Watson J.T., Pertel P.E., Jones R.C., Siston A.M., Paul W.S., Austin C.C. & Gerber S.I. (2004): Clinical characteristics and functional outcomes of West Nile Fever. *Ann. Intern. Med.* **141**, p. 360-365.

Wodak E., Richter S., Bagó Z., Revilla-Fernández S., Weissenböck H., Nowotny N. & Winter P. (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.

Zana B, Erdélyi K, Nagy A, Mezei E, Nagy O, Takács M, Bakonyi T, Forgách P, Korbacska-Kutasi O, Fehér O, Malik P, Ursu K, Kertész P, Kepner A, Martina M, Süli T, Lanszki Z, Tóth GE, Kuczmog A, Somogyi B, Jakab F, Kemenesi G. (2020): Multi-Approach Investigation Regarding the West Nile Virus Situation in Hungary, 2018. *Viruses.* **12**(1):123.

113/2008. (VIII. 30.) FVM rendelet az állatbetegségek bejelentésének rendjéről. <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0800113.fvm>, hivatkozva: 2022. 02. 28.

1/2014. (I. 16.) EMMI rendelet a fertőző betegségek jelentésének rendjéről. <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a1400001.emm>, hivatkozva: 2022. 02. 28.

Humán nyugat-nílusi vírusfertőzések: hazai aktualitások

Szerzők: Nagy Anna¹, Horváth András^{1,2}, Nagy Orsolya¹, Koroknai Anita¹,
Csonka Nikolett¹, Takács Mária¹

¹ Nemzeti Népegészségügyi Központ, Virális Zoonózisok Nemzeti Referencialaboratóriuma;
Budapest

² Állatorvostudományi Egyetem; Budapest

A *Flaviviridae* család *Flavivirus* nemzetségéhez jelenleg 53 vírushajt sorol a Nemzetközi Vírustaxonomiai Bizottság. Ezek közül Magyarországon endémiás a kullancsencephalitis-vírus (TBEV: *tick-borne encephalitis virus*), a nyugat-nílusi vírus (WNV: *West Nile virus*), valamint az Usutu vírus (USUV: *Usutu virus*). Utóbbi két kórokozó a nemzetség Japán-encephalitis vírus szerokomplexéhez tartozik, tehát mind filogenetikailag, mind pedig szerológiaiilag közel állnak egymáshoz (Kuno et al., 1998). Mindkét vírus terjesztésében szúnyog vektorok vesznek részt, elsősorban a *Culex* nemzetséghez tartozó fajok (Colpitts et al., 2012). Az enzootikus ciklusban emellett a madarak szerepe is kiemelkedő, melyek szintén amplifikáló gazdaszervezetek. Az ember és más emlősök (például a ló) véletlenszerűen, az alapvetően ornitofil szúnyogfajok csípése által fertőződhet. Mivel a vírusfertőzés során nem alakul ki kellően magas és hosszantartó viraemia, sem a WNV, sem pedig az USUV átvitele nem lehetséges emberről emberre, szúnyogcsípés révén (Colpitts et al., 2012). Többek között ezért sem alakulnak ki nagyméretű járványok, inkább a sporadikus előfordulás jellemző, a szúnyogok aktivitását lefedő szezonális időszakban. Magyarországon a járványgörbe csúcsa az augusztus – szeptemberi időszakra tehető.

Fontos azonban megjegyezni, hogy WNV kapcsán a viraemiás szakaszban transzfúzióval, transzplantációval is átvihető a fertőzés, de ismertek tranplacentáris, peripartum és szoptatás során bekövetkezett vírustranzmisszióra is esetleírások (Pealer et al., 2003).

Míg igazolt humán USUV fertőzésekkel kapcsolatban kevés esettanulmány ismert, addig a WNV humán kóroki szerepe régóta tanulmányozott. A WNV fertőzések hozzávetőleg 70–80%-a tünetmentesen zajlik (Habarugira et al., 2020). Amennyiben kialakulnak klinikai tünetek, átlagosan 2–14 napos inkubációs idővel számolhatunk, bár a szúnyogcsípés pontos időpontja sokszor nehezen behatárolható. WNV kapcsán jól elkülöníthető két kórforma: az esetek 20–25%-ában az enyhébb kórlefolyással jellemezhető nyugat-nílusi láz (WNF: *West Nile Fever*) alakul ki, míg az esetek nagyjából 1%-ában súlyosabb, neurológiai manifesztáció léphet fel (Colpitts et al., 2012; Habarugira et al., 2020). Utóbbi megnevezése a WNV neuroinvazív tünetegyüttes (WNND: *West Nile neuroinvasive disease*). A WNF kialakulása a páciens életkorával nem

mutat szoros korrelációt. Jellemző tünetek: az általános gyengeség, fejfájás, láz, myalgia, arthralgia, morbilliform és maculopapularis exanthema megjelenése a törzsön és a végtagokon. Előfordulhat hidegrázás, ocularis fájdalom, hányás, hasmenés, valamint lymphadenopathia (Barzon et al., 2015). Ezzel szemben a neurológiai manifesztáció valószínűsége idős korban szignifikánsan megugrik (Barzon et al., 2015). A WNND legtöbbször meningitis, encephalitis vagy acut flaccid paralysis (AFP) formájában zajlik. Gyakran előforduló kísérő tünetek: a hányás, hasmenés, myalgia, arthralgia, ataxia, tremor, myoclonus, dysarthria, és dysphagia (Habarugira et al., 2020). Kiütések megjelenése azonban kevésbé gyakori. A neurológiai kórkép halálozási rátája elérheti a 10%-ot is (Hayes et al., 2005).

A humán WNV fertőzések laboratóriumi diagnosztikáját országos szinten a Nemzeti Népegészségügyi Központ (NNK) Virális Zoonózisok Nemzeti Referencialaboratóriuma (NRL) végzi. A diagnosztikai vizsgálatok alapját az ellenanyagkimutatást célzó szerológiai módszerek adják. Az anti-WNV IgG, IgM és IgA ellenanyagok kimutatása vérsavó és liquor mintákból történik. Diagnosztikai nehézséget jelent ugyanakkor, hogy aktuális WNV fertőzést követően az IgM és IgA ellenanyagok akár hónapokig is detektálhatóak (Roehrig et al., 2003). Továbbá, minden esetben számolni kell a flavivírusokra jellemző szerológiai keresztreaktivitással is (Mansfield et al., 2011), mely a Magyarországhoz hasonló, átfedő endémiás területeken indokoltá teszi az országban előforduló egyéb flavivírusok irányában végzett párhuzamos vizsgálatokat is: tehát az egyidejű WNV, USUV és TBEV ellenanyagkimutatást. A szerológiai vizsgálatok fontos kiegészítője a molekuláris biológiai diagnosztika. A WNV szerológiai vizsgálatokat 2003/2004 óta végzi diagnosztikai céllal az NNK referencialaboratóriuma, míg a PCR vizsgálatok csupán 2014-ben kerültek bevezetésre (Nagy et al., 2016). Ennek oka volt az a sokáig elterjedt elképzelés, miszerint a rendkívül alacsony szintű és rövid ideig tartó viraemia miatt flavivírus fertőzés gyanújakor a víruskimutatás nem járható útja a diagnosztikának. Ez a megközelítés azonban a 2010-es években megdőlni látszott, amikor több laboratórium is sikeresen végzett WNV kimutatást vizeletmintákból. A pozitív nemzetközi tapasztalatokra támaszkodva az NNK referencialaboratóriumában is bevezetésre kerültek a vizsgálatok. Az első sikeres WNV kimutatást 2014-ben végeztük. Azóta a PCR vizsgálatok a diagnosztikai rutin részét képezik: vizelet és alvadásgátolt teljes vérmintákból végezhető el leghatékonyabban a nukleinsav kimutatás. Ma már a WNV és USUV PCR vizsgálatokat is párhuzamosan végezzük, tekintettel a két vírus szoros genetikai rokonságára. A PCR vizsgálatok, amellet, hogy a diagnosztikai kapacitást növelik, járványügyi relevanciával is bírnak, lehetővé téve a szekvencia meghatározást, valamint a pozitív mintákból vírusizolálás elvégzésével jól karakterizált vírustörzsbank létrehozását és fenntartását.

A laboratóriumi is megerősített vagy valószínűsített aktuális, hazai humán WNV fertőzések éves eloszlását az 1. ábra szemlélteti. Az ábrán egy fokozatosan növekvő tendencia rajzolódik ki, melynek háttérében több tényező is szerepet játszhat, úgy, mint például a javuló surveillance vagy a klinikumban dolgozó orvosok fokozott figyelme és a vizsgálatkérések számának növekedése.

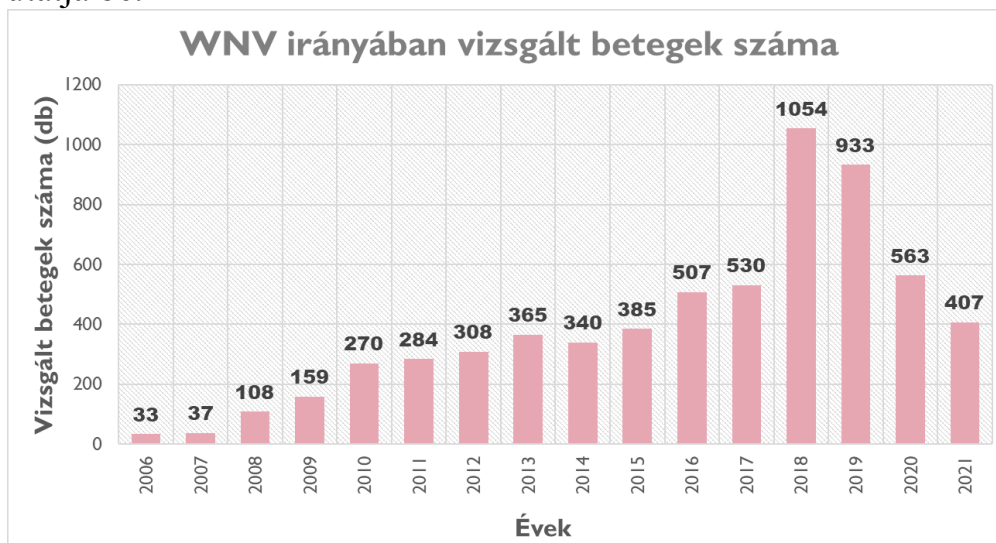
Az esetszámban nagyobb kiugrást 2018-ban tapasztalhattunk (1. ábra), ekkor hazánkban 215 autochton és 10 importált humán WNV fertőzést igazoltunk (Nagy et al., 2019). A 2018-as év Európa-szerte kiemelkedőnek bizonyult, ekkor ugyanis a régióban szignifikánsan több esetet regisztráltak: az Európai Járványügyi és Betegségmegelőzési Központ (ECDC: *European Centre for Disease Control and Prevention*) adatai alapján a 2018-as esetszám (2083) meghaladta az előző 7 év (1832) összes esetszámát, 2017-hez képest pedig 7,2-szeres növekedést jelentett.



1. ábra: Laboratóriumi igazolt humán WNV fertőzések éves eloszlása Magyarországon, 2004 és 2021 között.

Magyarországon 2020-ban és 2021-ben ugyanakkor drasztikus csökkenést láthatunk a laboratóriumi igazolt humán WNV esetek számában (1. ábra). 2020-ban mindösszesen három, míg 2021-ben nyolc esetet jelentettünk. Az esetszám visszaesésének háttérében állhat a vizsgálatkérések számának csökkenése (2. ábra), mely az utóbbi két évben valószínűleg a COVID-19 pandémia egészségügyi ellátórendszerre gyakorolt hatásával áll összefüggésben. A laboratóriumi kivizsgált és diagnosztizált esetek száma közötti korreláció szignifikánsnak tekinthető [$r_s = 0,59249$; $p_{(2\text{-tailed})} = 0,01559$].

A referencialaboratóriumban WNV irányában vizsgált betegek számát a 2. ábra mutatja be.



2. ábra: Az NNK referencialaboratóriumban WNV irányában vizsgált betegek száma 2006 és 2021 között.

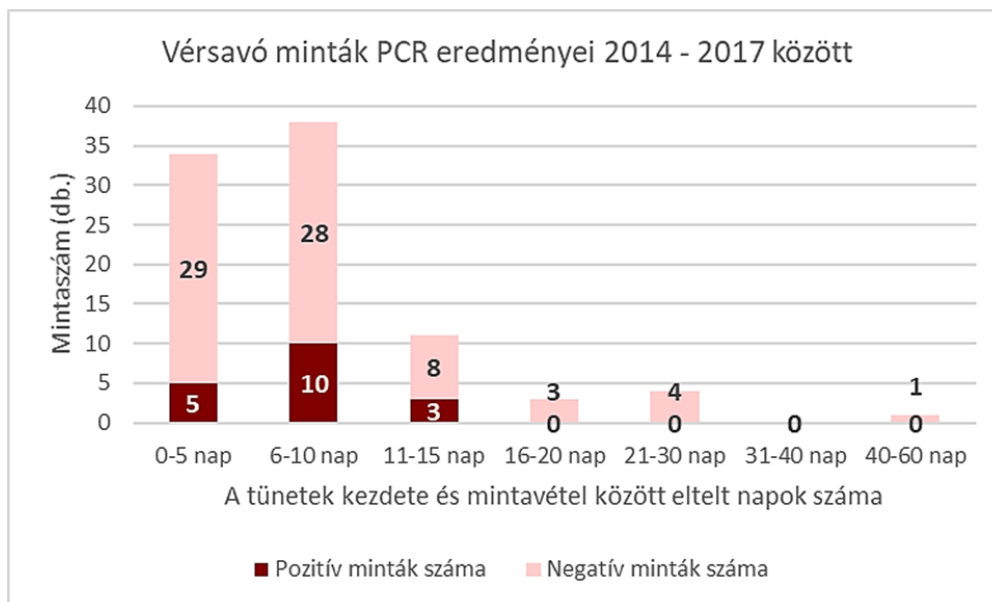
A laboratóriumi diagnosztikára vonatkozó eredményeinket ezért a pandémia előtti időszakra vonatkozóan összegezzük. 2015 és 2017 között összesen 93 igazoltan aktuális WNV fertőzött beteg különböző mintáinak PCR vizsgálatát végeztük el (87 vérsavó, 49 liquor, és 117 vizeletminta). Az eredményeket az 1. táblázat foglalja össze.

	VÉRSAVÓ	LIQUOR	VIZELET	Összesen
PCR-rel vizsgálva	83 betegtől 87 db minta	49 betegtől 49 db minta	77 betegtől 117 db minta	93 beteg
PCR pozitívitas	14 betegtől 16 db minta	2 betegtől 2 db minta	35 betegtől 67 db minta	39 beteg
PCR pozitívitas aránya	16,86% (a minták 18,39%-a)	4,08% (a minták 4,08%-a)	45,45% (a minták 57,26%-a)	41,93%

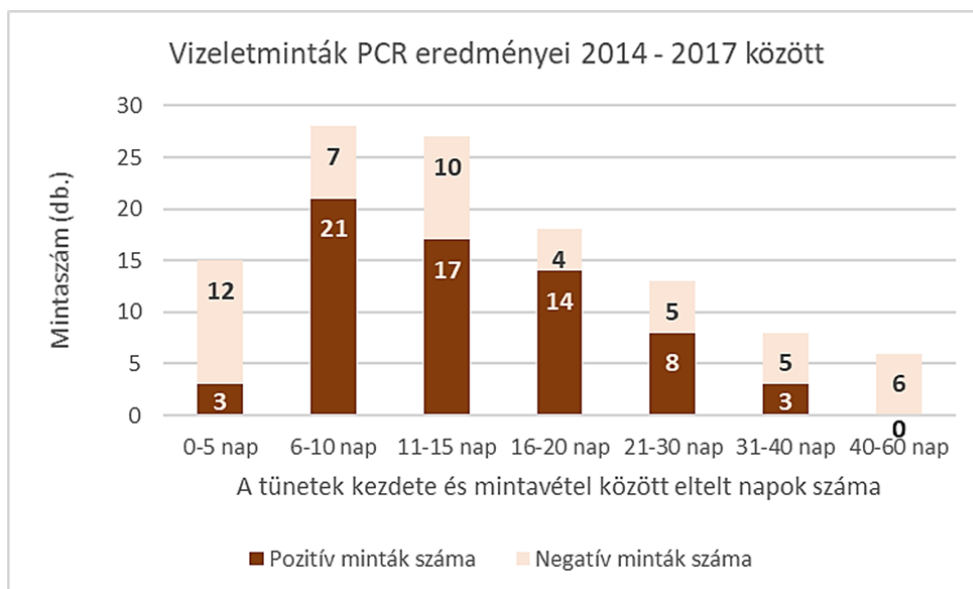
1. táblázat: A 2015 és 2017 között vizsgált akut WNV fertőzésben szenvedő betegek különböző mintatípusainak WNV PCR eredménye.

Az eredmények alapján megállapítottuk, hogy liquor mintákból szinte alig, vérsavóból pedig kis valószínűséggel detektálható a WNV nukleinsava. Ezzel szemben vizeletminták vizsgálatakor meglepően magasnak bizonyult a

pozitivitás aránya (a vizsgált betegek 45,45%-a, a vizsgált összes minta 57,26%-a) (1. táblázat). Követéses vizsgálatok segítségével azt is megállapítottuk, hogy a vizeletmintákból hosszabb ideig kimutatható a WNV, összehasonlítva a vérsavó mintákkal, melyekből csak a tünetek megjelenését követő első héten detektálható a vírus, és a pozitivitás aránya is kisebb (3. és 4. ábrák).



3. ábra: Vérsavó minták WNV PCR pozitivitása a tünetek kezdetétől a mintavételig eltelt idő függvényében. (A minták vizsgálata 2014 és 2017 között történt.)



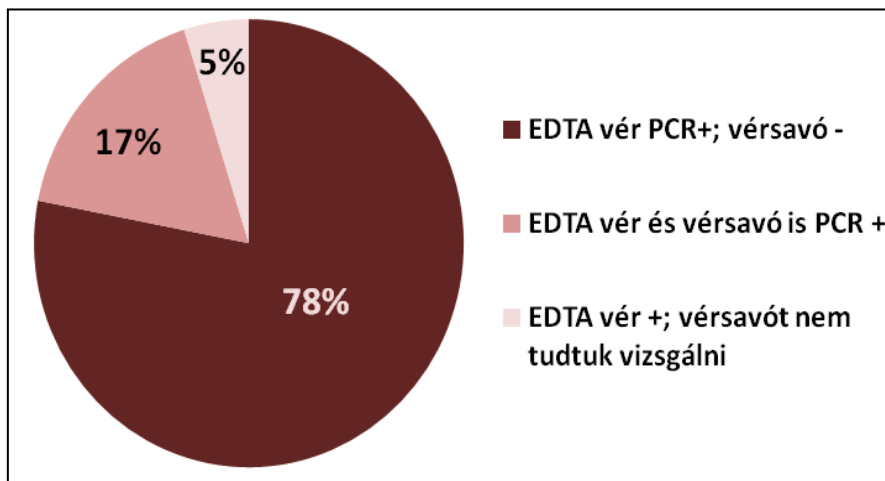
4. ábra: Vizeletminták WNV PCR pozitivitása a tünetek kezdetétől a mintavételig eltelt idő függvényében. (A minták vizsgálata 2014 és 2017 között történt.)

A vizeletminták nem csak a PCR vizsgálatokhoz bizonyultak előnyös mintatípusnak, a vírus izolálása is elvégezhető volt belőlük. A 2018-as szezon rendkívüli esetszáma lehetőséget biztosított további vizsgálatok elvégzéséhez. Ekkor vezette be a referencialaboratórium az alvadásgátolt teljes vérminták WNV PCR vizsgálatát. A vírus a vörösvértestek felszínéhez asszociáltan lehet jelen, ezért az alakos elemeket is tartalmazó teljes vér vizsgálata előnyösebb a vérsavónál. A teljes vér vizsgálatával a betegek 36,45%-ánál kaptunk WNV PCR pozitív eredményt (2. táblázat).

	VÉRSAVÓ	TELJES VÉR	LIQUOR	VIZELET	Összesen
PCR-rel vizsgálva	83 betegtől 87 db minta	2018 előtt nem végeztük	49 betegtől 49 db minta	77 betegtől 117 db minta	93 beteg
PCR pozitivitás	14 betegtől 16 db minta		2 betegtől 2 db minta	35 betegtől 67 db minta	39 beteg
PCR pozitivitás aránya (2015-2017)	16,86% (18,39%)		4,08% (4,08%)	45,45% (57,26%)	41,93%
PCR pozitivitás aránya (2018)	13,65%	36,45% (107 db mintából 39 db PCR+)	Nem végeztük	24,48%	31,92%

2. táblázat: A 2015 és 2017 között, valamint a 2018-ban vizsgált akut WNV fertőzésben szenvedő betegek különböző mintatípusainak WNV PCR eredménye.

Adott beteg, ugyanazon időpontban vett alvadásgátolt teljes vér és natív vérmintájából származó vérsavójának egyidejű PCR vizsgálatával is azt tapasztaltuk, hogy a teljes vér sokkal hatékonyabban használható mintatípus: a betegek 78%-ánál a teljes vérből kimutatható volt a WNV RNS-e, míg ezzel párhuzamosan a vérsavó minta negatív eredményt adott (5. ábra).



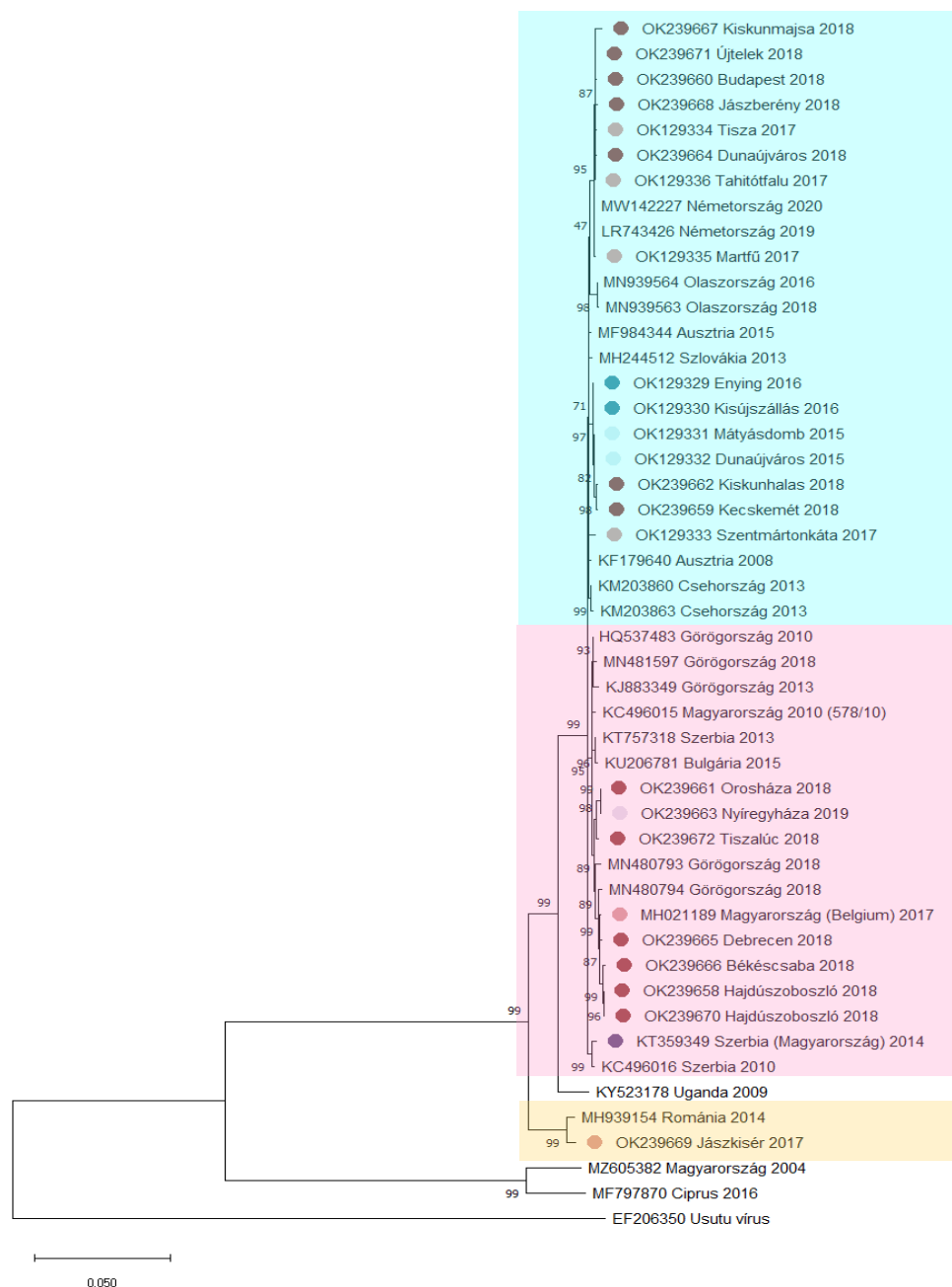
5. ábra: A teljes vér és vérsavó minták WNV PCR vizsgálati eredményei. (Adott betegtől az egy időpontban vett alvadásgátolt teljes vér és natív vérmintából származó vérsavó mintát hasonlítottuk össze.)

Az elmúlt évek tapasztalatait összegezve **a teljes vér és vizeletminták együttes vizsgálata jelentősen növeli a PCR pozitivitás arányát**, ezért mára a diagnosztikai vizsgálatok elengedhetetlen részévé vált e mintatípusok bekérése és vizsgálata. A WNV PCR pozitív mintákból 2014 óta végzünk szekvencia meghatározást is, a 11 kilobázis nagyságú vírusgenom kb. 400 nukleotid hosszúságú szakaszának Sanger-módszerrel történő szekvenálásával, amely alapján meghatározható a vírus genetikai leszármazási vonala (lineage). Eddigi eredményeink alapján az elmúlt években lineage-2 WNV cirkulációt igazoltunk az országban. (A kelet-közép európai régióban e genetikai leszármazási vonal terjedt el). A lineage-re vonatkozó eredményeket az NNK Járványügyi és Infekciókontroll Főosztályának epidemiológus munkatársai rendszeresen jelentik az ECDC felé.

2021-ben lehetőségünk nyílt a WNV szekvenálások módszertani fejlesztésre, melynek keretében áttértünk az új-generációs szekvenálási módszerrel (NGS: next generation sequencing) történő teljes genom meghatározásra. Az NGS-t Illumina MiSeq platformon végeztük, melynek előnye, hogy a szekvenálás során nagyon nagy mennyiségű *read* keletkezik, lehetővé téve a nagy lefedettségből adódó „mély szekvenálást”. A módszer nagy pontosságú (>99,9%) és nagy áteresztőképességű. **Célkitűzésünk 15 WNV izolátum és 13 PCR pozitív klinikai minta (5 teljes vér és 8 vizelet) teljes genom meghatározása volt.** A vizsgálat retrospektívnek tekinthető, mivel a minták a 2015 és 2019 közötti időszakból származtak. A 28 mintából végül 23 minta amplitikon alapú teljes genom szekvenálását végeztük el sikeresen, melynek előkészítéséhez saját tervezésű primereket és PCR protokollt állítottunk be. Összességében a WNV teljes genom szekvenálás közvetlenül klinikai mintákból végezve nagyobb kihívást jelentett, mivel e

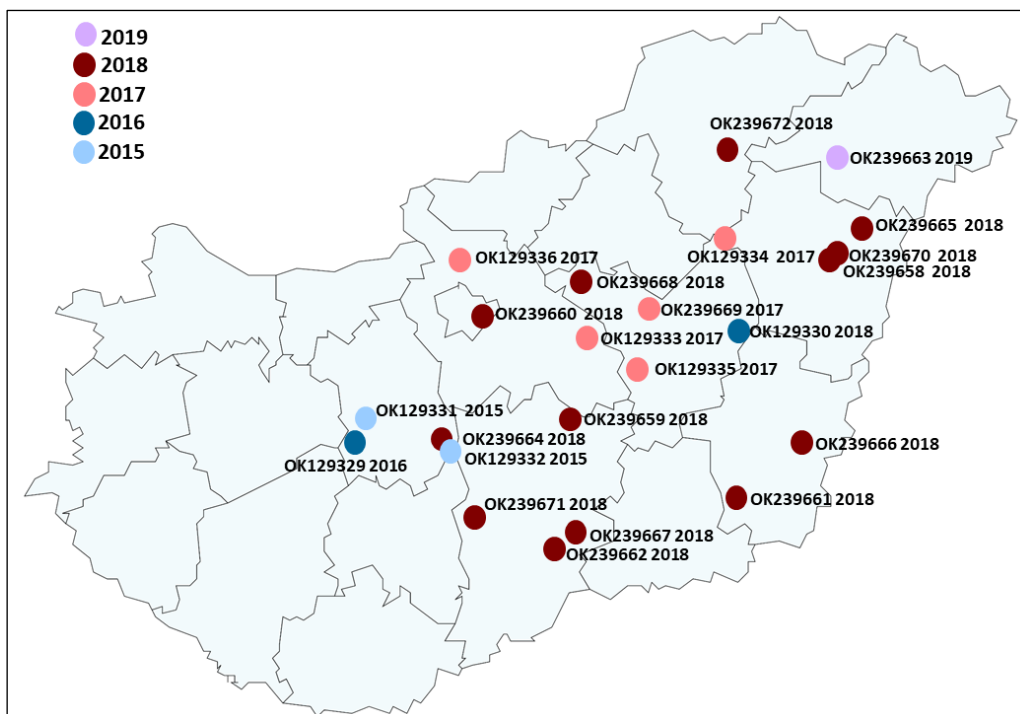
mintatípusok PCR pozitivitása gyengébb az izolátumokhoz képest és valószínűleg sok esetben a virális RNS is kevésbé intakt.

A 23 WNV teljes genom felhasználásával filogenetikai vizsgálatot is végeztünk, melynek eredményét a 6. ábra szemlélteti.



6. ábra: Tamura-Nei modell szerint Maximum-likelihood módszerrel készült filogenetikai fa (a bootstrap ismétlések száma 1000-szeres). A különböző évekből származó hazai WNV mintákat kör jelzi, az alábbi jelölések szerint: 2014: sötétkék; 2015: világoskék; 2016: sötétzöld; 2017: rózsaszín, 2018: bordó; 2019: világos zöld. (A 2014-ből származó minta szerbiai import esetből származik, melynek teljes genom szekvenálását korábban az MTA Állatorvostudományi Kutatóintézettel együttműködésben végeztük el.)

A filogenetikai vizsgálat alapján a Magyarországon 2014 és 2019 közötti időszakban vizsgált lineage-2 WNV törzsek egy monofiletikus csoportot alkotnak, azonban ezen belül három különböző klád különíthető el. A 6. ábrán kékkel jelöltük a közép/délnyugat-európai kládot, rózsaszínnel a balkáni kládot, valamint sárgával az ún. kelet-európai 1-es kládot (6. ábra). Utóbbihoz kifejezetten a Duna-deltájában izolált WNV törzsek tartoznak. A 2017-ben Jászkisérről származó minta egy 2014-es romániai vírustörzsszel mutatta a legnagyobb hasonlóságot (6. ábra). A különböző évekből származó minták eloszlása az egyes kládok között egyenletesnek tekinthető, amelyből arra következtethetünk, hogy a különböző WNV törzsek egyidejű cirkulációja jellemző az országban. Mindezt a 2018-as járvány kontextusába helyezve, valószínűsíthető, hogy a jelentős mértékű esetszám növekedés hátterében inkább ökológiai tényezők játszottak szerepet, mintsem egy új variáns megjelenése a régióban. A teljes genom karakterizált minták földrajzi eloszlását a 7. ábra szemlélteti. A minták a középső, keleti és déli országrészből származnak, mely régió endémiásnak tekinthető, mind a WNV incidenciát, mind pedig a szeroprevalenciát tekintve.



7. ábra: A 2015 és 2019 közötti WNV törzsek földrajzi eloszlása.

Ahogy a retrospektíve végzett vizsgálatunk eredményei is rámutatnak: az NGS teljesgenom szekvenálásnak kiemelkedő szerepe van a klinikai és járványügyi virológiában. Amellett, hogy a filogenetikai vizsgálatok során még pontosabb képet kaphatunk az országban előforduló vírustörzsekről és a járványügyi összefüggésekről, a referencialaboratóriumban fenntartott izolátumok teljes genom meghatározása feltétele az európai törzsközpontba (European Virus Archive) történő beküldésnek is. Az NGS gyakorlati haszna



miatt célunk e vizsgálatok folytatása a Virális Zoonózisok Nemzeti Referencialaboratóriumában.

Köszönetnyilvánítás:

A teljesgenom szekvenálásban nyújtott minden szakmai segítségért és tanácsért szeretnénk köszönetünket kifejezni az NNK Mikrobiológia Referencia Laboratóriumi Főosztály munkatársainak: Dr Tóth Ákosnak, Henczkó Juditnak, Magyar Nórának, és Ungvári Erikának.

Irodalomjegyzék:

Barzon L, Pacenti M, Ulbert S, Palù G. Latest developments and challenges in the diagnosis of human West Nile virus infection. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2015;13(3):327–42.

Colpitts TM, Conway MJ, Montgomery RR, Fikrig E. West Nile virus: Biology, transmission, and human infection. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(4):635–48.

Habarugira G, Suen WW, Hobson-Peters J, Hall RA, Bielefeldt-Ohmann H. West Nile virus: An update on pathobiology, epidemiology, diagnostics, control and “One health” implications. *Pathogens.* 2020;9(7):1–51.

Hayes EB, Sejvar JJ, Zaki SR, Lanciotti RS, Bode AV., Campbell GL. Virology, pathology, and clinical manifestations of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(8):1174–9.

Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J Virol.* 1998;72(1):73–83.

Nagy A, Bán E, Nagy O, Ferenczi E, Farkas Á, et al. Detection and sequencing of West Nile virus RNA from human urine and serum samples during the 2014 seasonal period. *Arch Virol.* 2016;161(7):1797–806.

Nagy A, Mezei E, Nagy O, Bakonyi T, Csonka N, Kaposi M, et al. Extraordinary increase in West Nile virus cases and first confirmed human Usutu virus infection in Hungary, 2018. *Eurosurveill.* 2019;24(28).

Mansfield KL, Horton DL, Johnson N, Li L, Barrett ADT, Smith DJ, et al. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. *J Gen Virol.* 2011;92(12):2821–9.

Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, Lanciotti RS, Page PL, Stramer SL, et al. Transmission of West Nile Virus through Blood Transfusion in the United States in 2002. 2003;1236–45.

Roehrig JT, Nash D, Maldin B, Labowitz A, Martin D a, Lanciotti RS, et al. Persistence of Serum Immunoglobulin M Antibody in Confirmed West Nile Virus Encephalitis Cases. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(3):376.