



**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



Ústav epidemiologie 3. LF UK

**Jakub Havel**

**Západonilská horečka**  
**West Nile Virus**

*Bakalářská práce*

Svitavy, duben 2008

Autor práce: Jakub Havel

studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Bakalářský studijní obor: Veřejné zdravotnictví

Vedoucí práce: **Doc. MUDr. Daniela Janovská, CSc.**

Pracoviště vedoucího práce: **Ústav epidemiologie 3. LF UK**

Datum a rok obhajoby: 4.6.2008

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracoval/a samostatně a použil/a jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová/ bakalářská práce byla používána ke studijním účelům.

Ve Svitavách dne 14. května 2008

Jakub Havel

**Poděkování:**

Doc. MUDr. Daniele Janovské, Csc., za poskytnutí materiálů a cenné připomínky.

**OBSAH:**

Souhrn: .....	6
Úvod.....	7
Přehled současných poznatků.....	8
1. Historie WNV .....	8
2. Mikrobiologické charakteristiky .....	9
3. Klinické charakteristiky .....	10
4. Epidemiologické charakteristiky .....	11
5. WNV v České republice.....	15
Cíl práce .....	17
Metodika.....	17
WNF v Rumunsku a jižním Rusku 1996 a 1999 .....	17
WNF v Izraeli 2000.....	18
WNF v USA 1999 - 2008.....	20
WNF u koní .....	24
Diskuse .....	26
Závěr.....	28
Literatura .....	29

**Souhrn:**

Západonilská horečka je příkladem tzv. nově se objevujících nález. Jejím původcem je West Nile virus (WNV), komáry přenášený flavivirus z čeledi Flaviviridae. Koluje v přírodních ohniscích, přičemž člověk a kůň jsou náhodným článkem. Výskyt WNV byl zaznamenán v Africe, Eurasii, Evropě, Austrálii (subtyp Kunjin) a od roku 1999 náhle a zcela neočekávaně i v Severní Americe. Epidemie západonilské horečky se vyskytly i v Evropě a několik případů onemocnění bylo zjištěno i v ČR. Většina onemocnění probíhá asymptomaticky, ale v některých případech, zvláště u starých lidí, může WNV vyvolat encefalitis s vysokou smrtností.

**Summary:**

West Nile fever is an example of diseases termed a „new or emerging infections“. It is caused by West Nile virus (WNV), mosquito-borne flavivirus from family Flaviviridae. It circulates in a natural transmission cycle with humans and horses as incidental hosts. The occurrence of West Nile Virus has been reported from Africa, Eurasia, Australia (Kunin subtype) and since 1999 sudden and quite unexpectedly from North America. The epidemics of WNV occurred also in Europe and several cases of illness were found out also in Czech Republic. Most infections are asymptomatic, but in some cases, especially of old people, WNV can cause encephalitis with high mortality.

## Úvod

Západonilská horečka (West Nile fever, WNF) je jednou z tzv. nově se objevujících neboli emergentních nákaz. Původcem WNF je komárem přenášený flavivirus West Nile, který se v posledních dvou desetiletích rozšířil z původních endemických oblastí, vyvolal několik velkých epidemií a v současné době představuje jednu z potenciálních epidemiologických hrozeb. Skutečný význam WNF, ale i ostatních emergentních nákaz pro lidskou populaci ukáže až budoucnost, nepochybně je však důležité neustále prohlubovat naše znalosti o těchto onemocněních a udržovat systém epidemiologické surveillance.

Tato práce je rešerší dosavadních poznatků, při jejichž získávání jsem využíval jak literárních, tak i internetových zdrojů. Jejím cílem je upozornit na potenciální nebezpečí, které by mohl virus západonilské horečky znamenat pro svět včetně České republiky.

## Přehled současných poznatků

### 1. Historie WNV

Virus západonilské horečky (West Nile virus, WNV) byl poprvé izolován v roce 1937 z krve pacientky s horečnatým stavem. Pojmenován byl podle místa nálezu (provincie West Nile, Uganda) [1].

Následně byl zachycen u lidí, ptáků a komárů v Egyptě a brzy byl uznán jako nejrozšířenější flavivirus s geografickou distribucí zahrnující Evropu, Afriku a Eurasii. Byl zaznamenán např. v Alžírsku, Maroku, Botswaně, Středoafričské republice, Pobřeží slonoviny, Kongu, Egyptě, Etiopii, Mozambiku, Nigerii, Jižní Africe, Madagaskaru, Izraeli, Kypru, asijské části Ruska, Kazachstánu, Ázerbájdžánu, Tádžikistánu, Turkmenistánu, Indii, Pákistánu a dalších zemích [1].

Protilátky proti viru West Nile v lidském séru byly navíc objeveny v Arménii, Borneu, Číně, Gruzii, Iráku, Keni, Libanonu, Malajsii, Filipínách, Srí Lance, Súdánu, Sýrii, Thajsku, Tunisku a Turecku. Subtyp Kunjin byl objeven v Austrálii a Jihovýchodní Asii [1].

Na americkém kontinentu byl první výskyt WNV popsán v roce 1999. Zde v oblasti města New York proběhla epidemie těžkých encefalitid, u kterých byl na základě sérologických testů jako etiologické agens zprvu označen virus saintlouiské encefalidity. Podrobnějším studiem izolovaného viru pomocí molekulárně biologických metod však byla prokázána jeho příbuznost s virem západonilské horečky. Virus byl do Spojených států zanesen pravděpodobně z Blízkého východu a v dalších letech postupně expandoval na další území Severní Ameriky [2].

V Evropě byla přítomnost WNV poprvé zaznamenána v roce 1958, kdy byly objeveny specifické protilátky u 2% vyšetřených sér obyvatel Albánie. První evropská izolace viru se uskutečnila v roce 1963 z krve pacientů a komárů v deltě Rýnu a od pacientů a klíšťat *Hyalomma marginatum* v deltě Volhy. Následně byl virus izolován v Portugalsku, Moldavsku, Ukrajině, Maďarsku, Rumunsku a Itálii [1]. Protilátky k WNV byly ovšem prokázány i v dalších evropských zemích: Španělsku, dřívější Jugoslávii, Řecku, Bulharsku, Rakousku a Polsku [3].

Relativně nedávno v Evropě proběhly dvě velké epidemie WNF. V roce 1996 v Bukurešti s 835 suspektními případy postižení CNS a smrtností 4,3 %. V roce 1999 ve dvou oblastech jižního Ruska, kde bylo hlášeno 826 onemocnění a 40 úmrtí [3].

V červnu roku 1972 byl virus WN izolován z komára *Aedes cantans* na lokalitě Malacky-Rakáreň na západním Slovensku a také z tažných ptáků na jihovýchodním Slovensku [4].

V České republice byla lokální cirkulace WNV poprvé doložena roku 1985 průkazem specifických protilátek u 17 mladých vodních ptáků na rybníce Nesyt u Valtic. Toto přírodní ohnisko bylo později potvrzeno vyšetřením 110 domácích kachňat, která byla chována na tomto rybníce přes léto [3].

Po povodni roku 1997 byly protilátky k WNV prokázány také u 2 % z 619 vyšetřených obyvatel Břeclavska, u pěti z těchto séropozitivních osob se předtím objevily klinické příznaky kompatibilní s WNF, z toho u 2 pediatrických pacientů byl zjištěn průkazný vzestup titru protilátek mezi akutním a rekonvalescentním vzorkem séra [3].



Ne nezajímává je i hypotéza, podle které západonilská horečka byla příčinou úmrtí Alexandra Makedonského. S touto teorií přišli dva Američané - epidemiolog John Marr z Virginia Department of Health v Richmondu a odborník na infekční choroby Charles Canisher z Colorado State University ve Fort Collins. Marr a Calisher vycházejí z jedné pasáže v Plutarchově životopisu Alexandra Makedonského, kde se říká, že před branami Babylonu spatřil Alexandr velká hejna havranů, kteří do sebe klovali, až někteří padli mrtvi k zemi. Podle obou Američanů mohli havrani hynout na onemocnění západonilským virem. Tento ptačí druh je totiž k viru obzvláště vnímavý. Když Marr a Calisher zadali do diagnostického počítačového programu GIDEON (Global Infectious Diseases and Epidemiology Network) příznaky Alexandrova onemocnění (plicní infekce, jaterní potíže, třes) a uvedli jako jednu z okolností vzniku choroby výskyt mrtvých ptáků v okolí, určil program jednoznačnou diagnózu .....

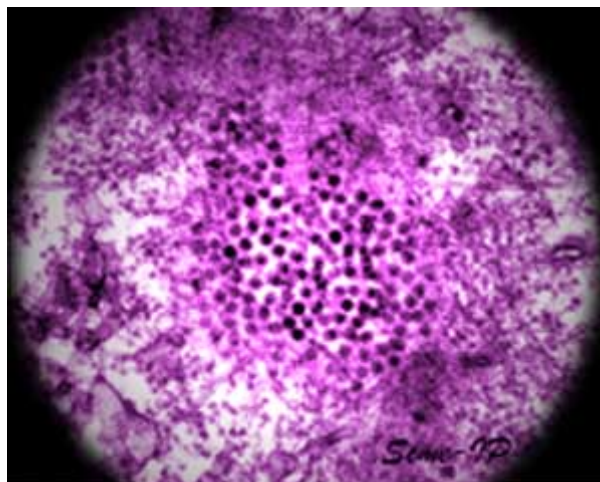
## **2. Mikrobiologické charakteristiky**

### **Taxonomie**

West Nile virus je členem skupiny japonské encefalitidy rodu Flavivirus čeledi Flaviviridae. Kromě WNV (se subtypem Kunjin) do této skupiny patří viry encefalitidy Murray Halley (se subtypem Alfuy), encefalitidy Saint Louis, japonské encefalitidy, Kuontango, Usutu a Yaounde. Všechny jsou přenosné komáry a u člověka vyvolávají hořčnatá, někdy velmi závažná až smrtelná onemocnění člověka [1].

### **Morfologie**

Virion WNV má průměr 45nm a jeho nukleokapsida obsahuje nedělenou jednovláknovou RNA. Velmi významnou součástí virionu je jeho povrchový glykoproteid E, který je účasten při hemaglutinaci, neutralizaci a vazbě viru na hostitelskou buňku. Existují dvě genomické linie (lineages) WNV: kmeny linie I se vyskytují na africkém kontinentu mimo jeho jižní části, na Blízkém východě, v Evropě, Indii, Austrálii (subtyp Kunjin) a USA, kmeny linie II byly izolovány v tropické a jižní Africe a na Madagaskaru [3].



**West Nile virus [31]**

### **Diagnostika**

Humorální protilátky k WNV se objevují v krvi pacientů přibližně od 5. dne po infekci – IgM dříve než IgG. Protilátky typu IgG perzistují dlouhodobě (až několik let), zatímco IgM pouze několik týdnů, výjimečně měsíců. Pro detekci protilátek v krevním séru nebo i mozkomíšním moku pacientů jsou nejčastěji využívány sérologické testy typu ELISA, test inhibice hemaglutinace (HIT), nepřímé fluorescence (IFA) nebo virus neutralizační test (VNT) [3].

Vzhledem k úzké antigenní příbuznosti flavivirů dochází při sérologické diagnostice ke zkříženým reakcím, takže k jejich diferenciaci jsou potřebné specializované testy. Jejich vývin, standardizace a rychlé zavedení je vedlejším důsledkem nedávné aktivity WNV [5].

Velmi vhodným testem je zejména průkaz IgM k WNV v mozkomíšním moku, indikující akutní infekci CNS tímto virem. WNV může být zachycen v krvi pacientů izolačním pokusem obvykle mezi 1. a 8. dnem nemoci. Prolongovaná virémie byla zjištěna především u imunosuprimovaných pacientů [3].

### **Imunizace**

Lidská specifická vakcína proti WNV dosud není dostupná. Její vývoj probíhá již řadu let a ve stadiu klinických zkoušek je jak DNA plastidová vakcína obsahující kódy pro dva klíčové povrchové proteiny WNV, tak i živá atenuovaná rekombinantní vakcína ChimeriVax-WN02 firmy Acambis kombinující geny WNV s geny příbuzného viru žluté horečky [6,7].

V endemických oblastech při přetrvávajícím riziku WNF by bylo možné použít imunizaci vakcínou proti japonské encefalitidě, poskytující zkříženou protekci proti WNV [3].

K imunizaci zvířat, především koní, existují dva typy veterinární vakcíny. Preventivní vakcinace a každoroční přeočkování je v současné době např. v USA doporučeno u všech chovaných koní [8].

## **3. Klinické charakteristiky**

West Nile virus může vyvolávat onemocnění zvířecí i lidská. U zvířat jsou známá především onemocnění koní probíhající jako encefalomyelitida spojená s horečkou, jež mají poměrně vysokou mortalitu. Při inokulaci viru západonilské horečky pokusným zvířatům byly jako vnímavé subjekty popsány laboratorní myši, křečci, opice a ovce. Naopak prasata a psi zůstali vůči infekci rezistentní [2].

U lidí má většina (zhruba 80%) infekcí WN virem asymptomatický průběh, a pouze jedna z přibližně 150 nákaz je provázena meningoencefalitidou. Lidské onemocnění WN virem se obvykle rozvíjí po inkubační době dlouhé 3-6 dnů a nazývá se západonilskou horečkou (West Nile fever). Při výrazném postižení CNS se někdy užívá název západonilská encefalitida (West Nile encephalitis). Pro WNF bývá charakteristický prudký nástup horečky trvající obvykle 3-5 dní, úporné bolesti hlavy, hrdla, kloubů, svalů končetin a zad, očních svalů, konjunktivitida, někdy světloplachost, značná únava, nechutenství, nevolnost až nutkání ke zvracení, bolesti břicha, průjem a neklidem. Na končetinách a na trupu se objevuje exantém. Mezi další projevy patří lymfadenopatie a respirační obtíže [3].

Relativně vzácně (< 15% případů) se objevuje aseptická meningitida až encefalitida spojená se strnutím šíje, zvracením, dezorientací, sníženým vědomím, tremory, abnormálními reflexy, parézami až kómatem. Smrtnost u WNF dosahuje 5 – 10% a ohrožuje zejména pacienty starší

60 let. Rekonvalescence bývá rychlá u dětí, zatímco u dospělých bývá doprovázena dlouhodobou myalgií a slabostí. Trvalé následky nebývají pozorovány [3].

Specifická léčba WNV infekcí neexistuje. Smrtnost WNV encefalitis je obvykle sekundární v důsledku progresivní neuronální dysfunkce, mozkového otoku a respiračního selhání. Základem léčby je podpůrná péče (podpora respirace, léčba záchvatů, prevence a léčba bakteriální superinfekce, žilní tromboembolizace a proleženin). Ribavirin a interferon-alfa ukázaly omezenou účinnost proti WNV u zvířat a in vitro studiích. Retrospektivní analýza v Izraeli neprokázala žádný efekt léčby ribavirinem na úmrtnost [9].

### **Definice případu WNF podle severoamerických směrnic**

#### **Průkazné onemocnění:**

Hořčnaté onemocnění spojené s neurologickými manifestacemi od bolesti hlavy po aseptickou meningitidu nebo encefalitidu, kombinované přinejmenším s jedním z následujících průkazů:

Izolace WNV z tkáně nebo tělesných tekutin pacienta (krev, mozkomíšní mok).

Detekce antigenu WNV nebo RNA viru ve tkáních či tělesných tekutinách pacienta.

Detekce IgM protilátek k WNV v mozkomíšním moku.

Minimálně čtyřnásobný vzestup protilátek k WNV v párových vzorcích krevního séra nebo mozkomíšního moku pacienta, odebraných ve 2-4 týdenním intervalu, prokázaný plak-redukčním neutralizačním testem (PRNT) [3].

#### **Pravděpodobné onemocnění:**

Hořčnaté onemocnění spojené s neurologickými manifestacemi od bolesti hlavy po aseptickou meningitidu nebo encefalitidu, kombinované přinejmenším s jedním z následujících průkazů:

IgM protilátky k WNV v krevním séru pacienta 1-3 týdny od začátku onemocnění.

Vysoký titr specifických protilátek k WNV v séru pacienta v rekonvalescentním stádiu nemoci, potvrzený PRNT [3].

## **4. Epidemiologické charakteristiky**

### **Přírodní ohniska**

West Nile virus cirkuluje v přírodních ohniscích a nákaza se přenáší mezi rezervoárovými zvířaty (hostiteli) prostřednictvím hmyzích vektorů. Člověk je jen náhodným článkem řetězce. K naze lidí dochází především po bodnutí infikovaným hmyzem [2].

V Evropě je cirkulace WNV charakterizována dvěma základními cykly a ekosystémy: :

1. **cyklus exoantropní** (sylvatický, přírodně – ohniskový) zahrnující volně žijící, převážně vodní a mokřadní ptáky jako hostitele a amplifikátory viru, a ornitofilní komáry (*Culex pipiens*, *C. modestus*, *Mansonia richiardii*) jako jeho vektory

2. **cyklus synantropní** (urbánní), zahrnující synantropní a domácí ptáky jako hostitele, a druhy komárů sající jak na ptácích, tak na savcích jako vektory (v Evropě především *C. pipiens molestus*)

Základním cyklem je přírodně – ohniskový. Většina přírodních ohnisek WNV je vázána na mokřadní ekosystémy s dostatečně početnými populacemi vodních ptáků a komárů: např. delta řeky Volhy, nebo Dunaje. V České republice se vyskytuje několik dlouhodobě latentních (neaktivních) ložisek: např. rybník Nesyt a obora Soutok na jižní Moravě. Za podmínek podporujících zvýšenou cirkulaci WNV, tedy příznivého počasí a zvýšených populací jak vodních ptáků, tak komárů, však může dojít k jejich aktivaci[3].

### **Interhumánní přenos**

Při viremii byl popsán i přenos infekce interhumánní při transfuzi krve [10], transplantaci orgánů [11], při kojení nebo transplacentárně z matky na plod [9].

### **Hostitelé WNV**

#### **Ptáci**

Z obratlovců jsou nejvýznamnějšími hostiteli a amplifikátory WNV v přírodě ptáci. U mnoha druhů volně žijících ptáků se objevuje po infekci WNV virémie o délce (3-7 dní) a hladině dostačující k infekci kompetentních komářích vektorů. WNV byl izolován z velkého počtu druhů vodních i suchozemských ptáků v nejrůznějších oblastech Starého světa: Egypt, Izrael, Kypr, Slovensko, jižní Rusko, Ukrajina, Ázerbájdžán, Tádžikistán, Nigérie, Středoafriká republika, Jižní Afrika, Madagaskar.

V Evropě byl WNV izolován z 11 druhů ptáků: Volavka vlasatá (*Ardeola ralloides*), Ibis hnědý (*Plegadis falcinellus*), Čírka modrá (*Anas querquedula*), Lyska černá (*Fulica atra*), Vodouš kropenatý (*Tringa ochropus*), Čejka chocholátá (*Vanellus vanellus*), Racek chechtavý (*Larus ridibundus*), Hrdlička divoká (*Streptopelia tortur*), Vrána obecná (*Corvus corone*), Havran polní (*Corvus frugilegus*), Špaček obecný (*Sturnus vulgarit*), a navíc zachycen z dalších 13 ptáků mimo kontinent Bukáček malý (*Ixobrychus minutu*), Bukač velký (*Botaurus stellaris*), Čáp bílý (*Ciconia ciconia*), Kachna divoká (*Anas platyrhynchos*), Racek bělohlavý (*Larus cachinnans*), Rybák malý (*Sterna albifrons*), Holub domácí (*Columba livia*), Vrána obecná (*Corvus corone*), Straka obecná (*Pica pica*), Kos černý (*Turdus merula*), Brhlík lesní (*Sitta europaea*), Pěnice vlašská (*Sylvia nisoria*) a Konipas bílý (*Motacilla alba*) [3].

Všechny uvedené druhy jsou tažné a mají zimoviště v tropické Africe nebo v oblasti Středozevního moře, s výjimkou holuba a vrány *C. corone* (ta je obvykle potulná, avšak východoevropské populace jsou rovněž tažné). Největší počet ptačích druhů (nejméně 111) jako hostitelů WNV byl zaznamenán v Severní Americe: např. Vrána americká (*Corvus brachyrhynchos*), Sojka chocholátá (*Cyanocitta cristata*), Hýl mexický (*Carpodacus mexicanus*), Vlhovec nachový (*Quiscalus quiscula*) a Vrabec domácí (*Passer domesticus*) [3,12].



*Havran polní (Corvus frugilegus) [31]*

### **Savci**

Izolace WNV z volně žijících savců v Evropě jsou ojedinělé: z hlodavců Myšice lesní (*Apodemus flavicollis*) a Norník rudý (*Clethrionomys glareolus*) v Maďarsku, zajíce *Lepus europaeus* v jižním Rusku.

Jsou ovšem známé izolace WNV z nemocných koní (Francie, Itálie) a lidí (Francie, Rusko, Ukrajina, Rumunsko). Mimoevropské izoláty WNV pocházejí z Myši nilské *Arvicanthis niloticus*, kaloně *Rousettus leschenaulti*, velblouda, lemura, koně, psa a poloopice *Galago senegalensis*. V USA byly popsány záchyty např. ze skunka, netopýra, čipmanka a veverky [3].

### **Obojživelníci a plazi**

Také někteří obojživelníci mohou hostit WNV. Virus byl izolován např. ze skokana *Rana ridibunda* v Tádžikistánu, nebo užovky *Natrix natrix* v Rakousku. Experimentálně byl dokázán také přenos viru mezi mladými americkými aligátory. Je tedy možné, že aligátoři mohou hrát důležitou roli v přenosu WNV v oblastech s velkým výskytem mladých aligátorů [14]. Role obojživelníků a plazů při cirkulaci WNV v mokřadních ekosystémech však zůstává prozatím neobjasněna [3].

## **Vektoři WNV**

### **Komáři**

Hlavními vektory WNV jsou komáři, zejména ornitofilní (ptáky sající) druhy. Doposud byl virus izolován ze 45 druhů komárů 6 rodů (*Culex*, *Aedes*, *Mimomyia*, *Mansonia*, *Anopheles*, *Aedeomyia*) [3].

V Evropě byl WNV izolován z 8 druhů komárů, hlavními vektory jsou *Culex pipiens* a *C. modestus* (komár omezen na biotop rákosin). Ojediněle byl izolován z komárů *Mansonia richiardii*, *Ae. cantans*, *Ae. caspius*, *Ae. excrucians*, *Ae. vexans* a *Anopheles maculipennis* [3,4,14].

V Africe a Izraeli je nejdůležitějším vektorem *C. univittatus* (místy však také *C. poicilipes*, *C. neavei*, *C. decens*, *Ae. albocephalus*, *Mimomyia hospoda* a *M. splendens*). V Asii jsou dominantními vektory *C. quinquefasciatus* a skupina *C. vishnui* [3].



*Culex quinquefasciatus* [31]

V severní Americe byl WNV izolován již z 35 druhů komárů 7 rodů nejčastěji z *C. pipiens*, *C. restuance*, *C. salinarius*, a *C. quinquefasciatus* [3,15].

Úspěšný experimentální přenos WNV komáry byl popsán u řady druhů, zejména rodu *Culex*. Velmi důležitá schopnost transovariálního přenosu WNV (tj. z komáří samičky na potomstvo) byla prokázána u druhů *C. tritaeniorhynchus*, *Ae. aegypti* a *Ae. albopictus* [3].



*Culex pipiens* [31]

### **Klíšťáci a klíšťata**

Ačkoli moskyti jsou primárními vektory, West Nile virus byl opětovně izolován i z klíšťat. Proto byla v USA provedena studie zaměřená na přenos klíšťaty. Konkrétně se zástupcem podřádu klíšťatovitých (*Ixodes ricinus*, Klíště obecné) a klíšťákovitých (*Ornithodoros moubata*). Oba druhy byly infikovány přísátím na infikovaných hostitelích. V organismu klíštěte *Ixodes ricinus* nebyl virus schopen přežít. Naopak v organismu klíšťáka *Ornithodoros moubata* virus přetrval nejméně 132 dní. Klíšťáci *O. moubata* přenesli virus na hlodavce i když jen v malém množství. Navíc virus byl nesystémově přenesen mezi infikovanými a neinfikovanými klíšťáky *O. moubata* během společného krmení na neinfikovaných hostitelích. Ačkoli klíšťata nehrají hlavní roli v přenosu VNW. Některé druhy mohou být potenciálními rezervoáry viru [16].

### **Komáři jako potenciální vektor WNV v ČR**

V podmínkách ČR představují komáři hlavní problém v zátopových oblastech v okolí velkých řek a vodních ploch, zejména v lužních lesích, po každoročním tání sněhu a vzestupu spodních vod a zejména pak po velkých povodních.

Po jarních záplavách se množí časně jarní druhy komárů (snow-melt mosquitoes) jako *Ochlerotatus catans* a *Ochlerotatus Cataphylla*, které se zdržují spíše v lesích v blízkosti líhnišť a do měst nezalétají.

Z hlediska potenciálního přenosu arbovirových infekcí jsou významnější letní záplavové (floodwater mosquitoes), nebo též někdy zvané kalamitní druhy komárů, jako je *Aedes vexans* a *Ochlerotatus sticticus*, které se líhnou na zaplavených lukách i v několika generacích a zalétají do větší vzdálenosti od líhnišť [17].

Druhové zastoupení komářích larev i dospělců komárů z poslední velké kalamity v roce 2006 zdokumentoval Rettich. Larvy komára druhu *Culex pipiens* se začaly objevovat v nevýznamném zastoupení v lokalitách Mělník a Břeclav od května. Významné převládající druhové zastoupení larev komárů rodu *Culex* (*Cx. pipiens*, *Cx. territans* a *Cx. annulata*) bylo zjištěno až v září v lokalitách Mělník a Poděbrady [17].

Jako účinné opatření k likvidaci larev komárů v líhništích byly v podmínkách ČR v roce 2006 poprvé masově aplikovány mikrobiální larvicidní přípravky s *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) VectoBac 12 AS (jako postřik) a VectoBac G (granulát). Jednalo se o výrobky firmy Valent BioSciences Corporation, Illinois (USA), které byly České republice poskytnuty zdarma v rámci pomoci USA. V předchozích komářích kalamitách se s různou mírou úspěšnosti plošně i lokálně používaly neselektivní chemické insekticidy.

Aliance přípravků VectoBac se při kvalifikovaném a dobře načasovaném použití velmi osvědčila, účinnost v ošetřených líhništích komárů se blížila 100 %. Nicméně nikdy není reálně možné zajistit ošetření všech i drobných líhnišť zejména v členitém terénu, která pak mohou představovat významný zdroj výletu komárů [18].

O tom, že epidemiologická závažnost komárů může vzrůstat v souvislosti se současnými změnami klimatu i v podmínkách ČR svědčí poznatky z tradiční oblasti jižní Moravy, kde jsou hlášeny objevy dříve neuváděných druhů komárů, stírají se ostré hranice mezi dobou výskytu tzv. jarních a letních druhů, v obytné zóně se častěji objevují druhy, o kterých se předpokládalo, že se od líhniště příliš nevzdalují a člověk je napadán druhy dříve považovanými za výhradně zoofilní (*Culex pipiens*) [19].

## **5. WNV v České republice**

Cirkulaci WNV v podmínkách ČR indikovaly již dřívější nálezy protilátek u divokých a domácích zvířat v jižních Čechách a na jižní Moravě.

První nález WN viru v ČR a první dokumentované lidské onemocnění touto infekcí ve střední Evropě byly popsány v souvislosti se záplavami v létě 1997.

V červenci 1997 postihly katastrofální záplavy způsobené neobyčejně silnými dešťovými srážkami severní Moravu a Slezsko. Povodně postihly od 13. července také Břeclavsko (Podluží), kde byly zatopeny z části i některé obce (Moravská Nová Ves, Týnec, Lanžhot). Rovněž celá oblast soutoku Moravy s Dyjí se ocitla pod vodou, což vytvořilo optimální podmínky pro masové líhnutí komárů (především rodu *Aedes*) v druhé polovině července a v srpnu. V komářích kalamitou nejpostiženější části Podluží bylo v srpnu provedeno několik leteckých postřiků insekticidem Aqua Reslin Super (permethrin).

Vzhledem k této mimořádné situaci bylo provedeno virologické vyšetření komárů a zároveň sérologické vyšetření obyvatel této oblasti, neboť se zde nachází klasické přírodní ohnisko nákazy virem Ťahyňa (valtické horečky) [4].

Virologickými izolačními pokusy bylo zpracováno ve 117 monospecifických směsích celkem 11 334 samic komárů (9100 *Aedes vexans* v 93 směsích, 917 *A. cinereus* v 16 směsích, 11 *A. cantans*, 1074 *A. sticticus* ve 3 směsích a 232 *Culex pipiens* ve 4 směsích), odchycených

během července až září 1997. Bylo izolováno 6 kmenů viru Ťahyňa (5x v *Aedes vexans*, 1x v *A. cinereus*) a 1 kmen 97-103, který byl určen jako virus West Nile (v *Culex p. pipiens*) [4].

Dále byly získány vzorky krve od 619 osob, které navštívily lékaře v ambulancích anebo byly hospitalizovány z různých důvodů v období mezi 23. červnem a 29. zářím 1997. Párové vzorky krevních sér s odstupem 2-4 týdnů se podařilo odebrat u 72 osob tohoto souboru, většinou dětí s horečnatými stavy. Krevní séra byla vyšetřena na protilátky neutralizující kmen T-16 viru Ťahyňa a kmeny 97-103 a Eg -101 viru West Nile.

Všechny osoby, u nichž byly detekovány protilátky k viru WN, byly dotázány na svůj zdravotní stav v posledních pěti letech a jejich zdravotní záznamy byly konzultovány s příslušnými lékaři. Séra 333 osob z 619 vyšetřených obsahovala protilátky neutralizující virus TAH a v sérech 13 osob byly detekovány protilátky neutralizující virus West Nile [4].

Akutní infekce virem WN byla zjištěna u 2 dětí a u 2 osob starších. U dospělých osob proběhla bezpříznakově, zatímco u obou dětí byly pozorovány symptomy kompatibilní s horečkou West Nile [4].

### **Případ č. 1**

Chlapec ve věku 9 let, horečka okolo 39°C 4 dny, bolesti v krku, hlavy, svalů, výrazná slabost, nechutenství. Nemoc trvala 6 dní, úplná rekonvalescence po dalších 7 dnech.

### **Případ č. 2**

Dívka ve věku 9 let, horečka 38-39°C, bolesti v krku, hlavy, svalů, výrazná únava, nutkání ke zvracení, makulopapulární erytém (včetně zarudlé tváře), mírně zvětšené inguinální mízní uzliny. Nemoc trvala 7 dní, rekonvalescence dalších 10 dnů.

Z ostatních 9 séropozitivních osob s WN protilátkami, avšak bez párových vzorků sér, měla jedna nemocná v létě 1997 velké bolesti hlavy, svalů, dlouhodobou únavnost, nechutenství, bolesti při pohybu očí, makulopapulární erytém a nespavost. Dvě další osoby hlásily „letní horečku“ s bolestmi v krku a lymfadenitidou. Další osoba udala bolesti hrdla bez horečky v létě 1997, jeden nemocný byl podroben v létě 1997 cholecystektomii. Zbývající séropozitivní osoby netrpěly v létě 1997 žádnými zvláštními zdravotními potížemi[4].



## **Cíl práce**

Cílem práce bylo upozornit na význam a důležitost západonilské horečky, onemocnění, které se v posledních letech rozšiřuje z původních endemických lokalit do dalších částí světa. Tato choroba trápí odnepaměti obyvatele Afriky, Středního východu a západní Asie. Teprve rozšíření do Severní Ameriky v roce 1999 znamenalo zvýšení vědeckého zájmu původce nákazy a jeho epidemiologické charakteristiky.

Na základě rešerše z odborné literatury popsat a dokladovat význam WNV jako potenciální globální hrozby pro svět a populaci z hlediska veřejného zdraví.

## **Metodika**

Rešerše z odborné literatury – poznatky z epidemických výskytů WNV infekcí ve světě za poslední dekádu a jejich vyhodnocení.

## **WNF v Rumunsku a jižním Rusku 1996 a 1999**

V Evropě byl první rozsáhlý výskyt onemocnění WN virem zaznamenán v červenci až září 1996 v jihovýchodním Rumunsku v Bukurešti a okolí. Proti předchozím epidemiím způsobeným WN virem v jiných částech světa se epidemie v Rumunsku vyznačovala vysokým podílem postižení CNS a vysokou smrtností.

Dodatečným průzkumem v nemocnicích bylo zjištěno 393 pacientů se sérologickým potvrzením nebo podezřením na WNV, z nichž 352 měla akutní infekci CNS. 17 pacientů starších 50 let zemřelo. Nákaza se vyskytla ve 14 okresech na dolním Dunaji a v Bukurešti. Attack rate byl 12,4/100 000 obyvatel. Počet mírných případů onemocnění nebyl odhadnut. WNV byl prokázán u komárů *Culex pipiens* a protilátky proti WNV byly nalezeny u 41% domestikované drůbeže [20].

Další velká epidemie v oblasti, kde se toto onemocnění vyskytovalo dosud jen sporadicky a nebyla mu věnována pozornost, postihla v červenci až říjnu oblast Volgogradu v jižním Rusku v roce 1999. S diagnózou akutní meningoencefalitis, meningitis nebo akutní virového infekce s horečkou zde bylo hospitalizováno 826 pacientů. Ze sérologicky vyšetřených 318 pacientů 58 % mělo titr anti-WN virus protilátek IgM, svědčící o akutní infekci WNV. Incidence infekce byla věkově specifická, více než 50 % pacientů bylo starších 50 let, zatímco jen 15% bylo mladších 15 let. Též tato epidemie se vyznačovala vysokým podílem postižení CNS a vyšší smrtností, nežli předchozí známé hromadné výskyty západonilské horečky. Z 84 případů akutní aseptické meningoencefalitis skončilo 40 úmrtím, přičemž 30 zemřelých bylo starších 60 let [21].

Poslední průzkum komárů, coby vektorů přenosu infekce WN virem v oblasti Volgogradu, kde se v menším počtu onemocnění WNV objevila i v pozdějších letech po velké epidemii

1999, byl proveden v roce 2003. Bylo odchyceno a vyšetřeno 9 182 komárů 13 druhů. Pozitivní nález WN viru byl zjištěn v srpnu u komárů druhu *Culex pipiens pipiens* a *Culex modestus*. Druh *Cx.p.pipiens* byl přitom dominantním druhem komára nejen venku, ale i ve vnitřním prostředí vícepodlažních domů [14].

O tom, že západonilská horečka může uniknout pozornosti i v relativně vysokém počtu případů onemocnění svědčí zpětné zjištění, že 35 z 56 pacientů ve Volgogradu, kteří prodělali aseptickou meningitidu v roce 1998, mělo vysoký titr WNV IgG protilátek [22].

Některé zachycené WN viry z různých částí světa ukazují vysoký stupeň genetické podobnosti (New York-1999 a Izrael-1998; Volgograd-1999, Rumunsko 1996 – záchyty u komárů, Keňa-1998 a Senegal 1993; Ázerbájdžán 1967 a Rumunsko 1996 - záchyty u lidí). Navíc poslední tři velké epidemie byly způsobeny geneticky podobnými kmeny WN viru (Rumunsko 1996, New York 1999 a Volgograd 1999), což indukuje širokou cirkulaci viru a vývoj potenciálně epidemických kmenů [21].

## **WNV v Izraeli 2000**

V Izraeli je západonilská horečka endemickým onemocněním, známým od padesátých let. První podrobný průzkum epidemického výskytu, postihujícího celou zemi, se zde uskutečnil v souvislosti s velkou epidemií, která proběhla v roce 2000.

Z hlediska historie tohoto onemocnění v této oblasti se někteří vědci domnívají, že WN virové etiologie bylo vzplanutí horečnatého onemocnění s vyrážkou u cca 500 lidí v roce 1941 ještě před vznikem izraelského státu. Tato domněnka se již nedá potvrdit. Ale v případě její platnosti by se jednalo vzhledem k tehdejšímu počtu obyvatel o dosud největší výskyt tohoto onemocnění v Izraeli. Průběh onemocnění byl benigní, nebylo hlášeno žádné postižení CNS ani úmrtí [23].

V padesátých letech byli izraelští vědci první, kteří na základě několika onemocnění charakterizovali klinický obraz západonilské horečky, avšak do konce 20. století bylo toto onemocnění v Izraeli téměř zapomenuto. Občas se vyskytlo u mladých vojáků, bylo léčeno ve vojenských nemocnicích a mělo benigní průběh bez postižení CNS. Z 50.let existuje i několik zpráv o menších vzplanutích infekce WN virem u civilního obyvatelstva. Klinickou závažností zde vybočuje postižení obyvatel 4 domovů pro přestárlé v oblasti Hadera v roce 1957, kde onemocnělo 49 lidí ve věku 66 až 86 let, u třetiny z nich se vyvinula encefalitis a 4 zemřeli [23].

Velká epidemie, která v srpnu až říjnu 2000 postihla území celého státu, byla zcela neočekávaná. Sérologicky bylo potvrzeno 417 případů, 326 bylo hospitalizováno. Onemocnění se vyskytla na území celého státu, nejvíce postižená byla centrální nejlidnatější oblast. Většina případů (81,5 %) sice byla u obyvatel městských lokalit, avšak incidence WNV infekce byla 2,3 x vyšší ve venkovských oblastech (0,14 případů na 1000 obyvatel). Průměrný věk postižených byl 54,5 let s rozmezím 6 měsíců – 95 let.

Incidence na 1000 obyvatel se dramaticky zvyšovala s věkem postižených od 0,01 v 1. dekádě na 0,87 v 9. dekádě života. Celková incidence byla 0,07/1000. Počet úmrtí u sérologicky potvrzených případů byl 35 (8,4%), ve všech případech ve věku nad 50 let. Ve věku nad 60 let byla smrtnost (case-fatality rate) 17,7% [23].

Vektorem WN virové infekce v Izraeli jsou komáři rodu *Culex* (*Cx. pipiens* a *Cx. perexiguus*). Rezervoárem infekce jsou divocí ptáci včetně holubů, čápů a vran. V roce 1997 virus v Izraeli napadl zemědělské chovy hus. Během let 1998 – 1999 se infekce vyskytla u 18 – 20 % chovů a cca 5000 hus bylo usmrceno [23].

Virus izolovaný z mozku mrtvých hus v Izraeli byl genomem téměř identický s virem, který byl izolován při epidemii v New Yorku v roce 1999 a předpokládá se, že byl dosud neznámým způsobem na území USA zavlečen.

Postižením celého státu, počtem hospitalizovaných, postižením všech věkových skupin, závažností onemocnění a vysokou smrtností se epidemie v roce 2000 výrazně odlišovala od předchozích vzplanutí WN virové infekce v Izraeli. Jedním z možných vysvětlení je pokles imunity obyvatel Izraele vůči této infekci. Dřívější sérologické přehledy prokazovaly séropozitivitu v endemických oblastech 48 – 73 % ve srovnání s neendemickými oblastmi 7 – 12 %. Nejpravděpodobnějším vysvětlením, které odpovídá i změně obrazu této infekce v jiných zemích, je ale změna WN viru, která vedla ke zvýšení jeho virulence [23].

Na základě publikovaných zpráv o WNV onemocněních u populace v Izraeli je zřejmé, jaký významný časový vývoj doznalo klinické hodnocení závažnosti onemocnění WNV stejně jako poznání jeho epidemiologických souvislostí.

První detailnější klinická charakteristika západonilské horečky na základě prvních případů výskytu tohoto onemocnění v Izraeli z počátku padesátých let zahrnovala obraz benigního horečnatého onemocnění u mladých dospělých osob. Spojení infekce WN virem s vážným postižením centrálního nervového systému (CNS) a vztah mezi závažností onemocnění a věkem pacientů byl zjištěn při dalším vzplanutí onemocnění u obyvatel 4 domů pro přestárlé v roce 1957 [24].

V dalším období upoutala pozornost i z klinického hlediska dvě vzplanutí infekce WN virem a sice v Rumunsku v roce 1996 s vysokým procentem komplikací z postižení CNS a v USA v New Yorku v roce 1999, kde se jednalo o první hlášený výskyt onemocnění WN na západní polokouli a bylo popsáno několik případů chabé paralýzy [24].

Detailnější charakteristika klinického obrazu a výsledek statistické analýzy potenciálních rizikových faktorů ovlivňujících závažnost tohoto onemocnění byly publikovány na základě dat z hromadného výskytu infekce v Izraeli v roce 2000. Během srpna až října se zde vyskytlo 417 laboratorně potvrzených případů onemocnění, 326 nemocných bylo hospitalizováno a od 323 z 12 různých nemocnic byla získána klinická data k analýze.

Průměrný věk pacientů byl 59 let (s rozmezím 3 – 95 let). Nejčastěji (u 57,9 % pacientů) probíhalo onemocnění pod obrazem encefalitis. Meningitis byla hlavní příznakem v 15,9 % a u 24,4% nemocných se jednalo pouze o horečnaté onemocnění. Stabilním příznakem byla horečka nad 38°C (u 98,3 % pacientů), dále bolesti hlavy, svalů, zimnice, vyrážka a příznaky postižení zažívacího traktu, jako bolesti břicha a průjem. Zemřelo 33 pacientů (14,1%), přičemž mortalita byla vyšší u pacientů starších 70 let (29,3%).

Nezávislými rizikovými faktory ve vztahu k mortalitě byl věk nad 70 let, postižení vědomí a anémie. Potvrdil se časný vzestup titru IgM protilátek a to často již v prvním týdnu od vypuknutí příznaků, který může být využit v časně diagnostice onemocnění [24].

Analýzou tedy byla potvrzena klinická charakteristika západonilské horečky jako vážného onemocnění s významným postižením CNS a vysokou mortalitou, zejména u starších osob. V publikované zprávě je diskutována příčina vysoké mortality u tohoto epidemického výskytu

onemocnění ve srovnání s epidemií v Rumunsku v roce 1996 (14,1% proti 4,3%), při které bylo též vysoké procento postižení CNS.

Nejpravděpodobnějším vysvětlením je dle autorů zprávy rozšíření nového virulentnějšího kmene WN viru. Tuto hypotézu potvrzuje i vyšší mortalita (11,4%) u vzplanutí infekce v New Yorku v roce 1999 a téměř totožný genom virů izolovaných v New Yorku s virem izolovaným v Izraeli v roce 1998. Dalším jevem, svědčícím pro tuto hypotézu, známým teprve z New Yorku a Izraele, který u dřívějších vzplanutí této infekce nebyl popsán, byla úmrtí ptáků způsobená WNV.

K identifikaci původu a cest šíření WN viru přispívá genetická analýza. Detailní studie izolátů WN viru z různých částí světa ukázaly, že jsou existují dva hlavní genetické linie (lineages) viru.

Kmeny WN viru genetické linie 1 byly izolovány v severní, západní a centrální Africe, jižní a východní Evropě, Indii, na Středním východě a v Austrálii (Kunjin virus). Kmeny spadající do genetické linie 2 byly izolovány v západní, centrální a východní Africe a na Madagaskaru. Všechny kmeny WN viru izolované během epidemií v poslední dekádě patří ke genetické linii 1, včetně viru který způsobil epidemii v New Yorku v roce 1999 [25].

Jsou též doklady o tom, že kmeny WN viru v rámci linie 1 cirkulující v Severní Americe jsou odlišné od kmenů cirkulujících v Evropě, ačkoliv infikují stejné druhy komárů. Předpokládá se, že kmen odpovědný za epidemii v New Yorku má původ v Izraeli nebo jinde na Středním východě a že do USA byl zavlečen importem infikovaných ptáků nebo příjezdem infikovaného člověka, pravděpodobně leteckou cestou.

## **WNV v USA 1999 - 2008**

Zcela ojedinělé a dobře dokumentované je rychlé rozšíření WN viru na severoamerickém kontinentu, které pravděpodobně započalo v New Yorku v roce 1999, kdy zde bylo zaznamenáno 62 případů onemocnění včetně 7 úmrtí. Epidemiologické šetření, zahrnující identifikaci lidských a zvířecích případů onemocnění, virus-pozitivních mrtvých ptáků, séropozitivních živých ptáků a virus-pozitivních komárů ukázalo na rozsáhlé rozšíření viru v podmínkách této městské aglomerace.

Jak již bylo uvedeno WN virus sem byl pravděpodobně zanesen dosud neznámým způsobem z Blízkého východu, neboť genom zde izolovaného viru byl téměř identický s WNV izolátem z husy domácí z Izraele z roku 1998.

V následujících letech se virus rychle šířil Spojenými státy. V roce 2001 byla lidská onemocnění WN virem podle údajů CDC zaznamenána již v 10 státech USA, v roce 2002 rozšíření dosáhlo západního pobřeží a vyskytlo se ve 40 státech USA. Zatím vrcholu v počtu dokumentovaných onemocnění bylo v USA dosaženo v roce 2003, kdy bylo zaznamenáno 9862 onemocnění včetně 264 úmrtí na území 46 států USA [26].

Za rok 2007 uvádí CDC v USA 3 623 onemocnění včetně 124 úmrtí. Ve 33 % případů se jednalo o neuroinvasivní průběh onemocnění pod klinickým obrazem encefalitis nebo meningitis, v 65% proběhlo onemocnění jako západonilská horečka, ve 2% nebylo klinicky specifikováno [27]. Ve skutečnosti ovšem většina onemocnění, proběhne asymptomaticky

nebo pod obrazem nespecifického chřipkovitého onemocnění, aniž by bylo diagnostikováno a hlášeno.

V letošním roce 2008 má sezóna WN virových onemocnění v USA neobvykle časný nástup, neboť k 8.4.2008 byly hlášeny již 3 případy a pozitivní nálezy WN virové infekce u ptáků byly hlášeny již v lednu. Přičítá se to mírné zimě, která umožnila přežití komárů, kteří se uplatňují jako přenašeči této infekce a současně i jako známka toho, že západonilská horečka je v USA již endemickým onemocněním [27].

Ve sdělovacích prostředcích se v USA proto již nyní připomínají vhodná opatření k potlačení líhnutí komárů a k prevenci nákazy.

Patří mezi ně především důsledná kontrola všech míst se stojatou vodou a organickou hmotou, kde může docházet k líhnutí komárů. Nejde ani tak o stabilní velké vodní plochy, ale o nejrůznější místa a předměty, jako jsou příkopy, nádržky, jezírka, bazény, fontánky, konve, květináče, houpačky z pneumatik, ptačí krmítka.



*Culex sp. – kladení vajíček [31]*

Mnoho malých amerických měst pořádá úklidové dny k eliminaci těchto příležitostí k líhnutí komárů. Význam mají i úklidové akce kolem komunikací a dálnic, kde se komáři mohou líhnout ve stojaté vodě v odhozených lahvích a obalech. K ošetření míst se stojatou vodou se doporučují biologické larvicidní přípravky s bakterií *Bacillus thuringiensis subspecies israelenses*, které jsou po aplikaci do vody aktivní po dobu 30 dní a hubí komáry i jejich larvy. Samozřejmě jsou sítě proti komárům do oken a dveří, používání repelentů a vhodné oblečení v místech a době výskytu komárů [27].

V USA byl první rozsáhlý průzkum komářích přenašečů nákazy západonilskou horečkou proveden v souvislosti s výskytem encefalitidy způsobené West Nile virem v New Yorku v roce 1999, který byl prvním známým hromadným výskytem tohoto onemocnění na západní polokouli.

Průzkum byl zaměřen na hustotu a druhové složení populace komárů, vyskytujících se v této oblasti a poměr jejich infekčnosti. Odchyt komárů byl prováděn do speciálních mikrolapačů, zmrazené vzorky komárů byly vyšetřovány v Centru pro kontrolu nemocí a prevenci ve Fort Collins v Coloradu [15].

Celkem bylo odchyceno a vyšetřeno 32 814 komárů reprezentujících 25 druhů, z nichž více než polovina náležela k rodu *Culex*, pravděpodobně rodu *Culex pipiens* nebo *Culex restuans* (přesné určení druhů bylo v dodaných vzorcích obtížné). U zbývajících převažovaly záplavové druhy *Aedes vexans* a *Aedes trivittatus*. West Nile virus byl izolován převážně

z druhů rodu *Culex* a pouze v jednom souboru vzorků z komárů druhu *Aedes vexans*. Nejvíce pozitivních nálezů bylo z Queens, kde bylo i nejvíce případů onemocnění [15].

Stupeň infekčnosti komárů rodu *Culex*, vyjádřený jako MIR (minimum infection rate), tj. počet infikovaných na 1000 vyšetřených vzorků, byl vypočten pro jednotlivé obvody a týdny vzorkování. Tento údaj je indikátorem prevalence viru v dané době a lokalitě a intenzity jeho přenosu a může být vztahován k riziku lidských onemocnění. Zjištěný MIR pro infikované komáry rodu *Culex* se pohyboval od 0,7/1000 do 57,1/1000 [15].

V závěrech publikované zprávy je konstatováno, že výsledky tohoto průzkumu poskytly informace o dynamice přenosu West Nile viru v ohniscích nákazy, užitečné pro vývoj systému surveillance tohoto onemocnění. Potvrdily převažující úlohu komárů rodu *Culex*, zejména druhu *Culex pipiens* v přenosu viru. Relativně vysoké hodnoty MIR v oblastech s výskytem lidských onemocnění potvrdily použitelnost surveillance zaměřené na populaci komárů, k odhadu rizika přenosu WN viru na člověka. Zjištěné hodnoty MIR byly v relaci s MIR pro WN virus z jiných lokalit [15].

V návaznosti na první hromadný výskyt encefalitidy způsobené West Nile virem v USA, který v pozdním létě roku 1999 postihl oblast New Yorku a okolí, byl realizován a vyhodnocen systém surveillance zaměřený na mrtvé ptáky.

V roce 1999 sice byla potvrzena infekce WN virem u mrtvých ptáků v krátké době před potvrzením této nákazy u lidí, avšak žádné nálezy infikovaných mrtvých ptáků nepředcházely vypuknutí prvních příznaků lidských onemocnění. Nebylo proto dostatečně potvrzeno, zda lze využít sledování mrtvých ptáků k včasnému varování před zvýšeným rizikem přenosu infekce na lidskou populaci. Ze situace v roce 1999 však bylo zřejmé, že hlášení o nálezech mrtvých ptáků předcházela laboratornímu potvrzení jejich pozitivita na WN virus a že následné testování poskytovalo užitečné informace o časovém a geografickém rozšíření viru [28].

Význam systému surveillance mrtvých ptáků z hlediska detekce geografického rozšíření WN viru a včasného varování před rizikem přenosu nákazy do lidské populace byl proto cíleně vyhodnocen na základě výsledků z dalšího roku 2000.

Systém surveillance mrtvých ptáků, zavedený v oblasti New Yorku po atace onemocnění WN virem v roce 1999, byl v roce 2000 dále zdokonalen a rozšířen jako integrovaný elektronický systém na bázi existující infrastruktury pro elektronicky zabezpečenou výměnu zdravotních informací u lokálních zdravotních institucí a poskytovatelů zdravotní péče [28].

Místní zdravotní úřady zajišťovaly předání nalezených mrtvých ptáků na veterinární vyšetření zahrnující pitvu a otestování pozitivita na WN virus. I když z vyšetření nebyly vyloučeny žádné druhy ptáků, hlavní prioritou měly mrtvé vrány a příbuzné druhy ptáků, které byly nejvíce postiženy při epidemii onemocnění WN virem v této oblasti v roce 1999. Výsledky byly seskupeny do týdenních zpráv a podrobeny analýze.

Během roku 2000 bylo takto hlášeno 71 332 mrtvých nebo nemocných ptáků, z nichž 24,6 % tvořily americké vrány. Z 3 976 testovaných mrtvých ptáků bylo 31,8 % pozitivních na WN virus. Tito pozitivní ptáci zahrnovali 63 druhů, avšak většinou (67%) se jednalo o americké vrány. Pouze 675 ptáků (0,95%) bylo pozorováno živých a nemocných, v ostatních případech se jednalo o nálezy mrtvých ptáků. U většiny pozorovaných nemocných ptáků byly popsány „neurologické příznaky“ [28].

Výsledky systému surveillance byly analyzovány i z hlediska vztahu suspektního nálezu infekce při pitvě mrtvých ptáků a následného potvrzení jejich pozitivitu na WN virus (PPV – overall positive predictive value for pathologic findings).

Za celý rok 2000 byl suspektní nález při pitvě u 39,6 % testovaných mrtvých ptáků a infekce WN virem se u nich následně potvrdila u 52,8 %. Tento index PPV se podstatně zvýšil v druhé polovině roku 2000 po vzniku prvního případu lidského onemocnění v červenci 2000 a sice z 27,9 % v době před vypuknutím lidských onemocnění na 68 % po vzniku prvního onemocnění. Naopak se snížilo procento pozitivitu mrtvých ptáků s negativním pitevním nálezem a sice z 85,3 % v době před vypuknutím lidských onemocnění na 62,1 % po vzniku prvního lidského onemocnění. Nejvíce senzitivním druhem před i po vypuknutí lidských onemocnění byly americké vrány, nejméně senzitivním druhem byl vrabec domácí [28].

Z hlediska časového vývoje předcházela hlášení zvýšeného počtu mrtvých vran o několik měsíců první pozitivní nálezy WN viru u mrtvých ptáků a prudké zvýšení počtu mrtvých ptáků předcházelo o několik týdnů první případ lidského onemocnění v červenci 2000. Pozitivní nález WN viru u mrtvých ptáků předcházel vznik prvních lidských onemocnění o více než 3 měsíce. Bylo proto konstatováno, že systém surveillance mrtvých ptáků se podle vyhodnocení výsledků z roku 2000 v ohrožené oblasti New Yorku a okolí ukázal být užitečný pro včasnou časovou i geografickou detekci rizika onemocnění WN virem a pro plánování edukace veřejnosti a případných opatření k eliminaci přenašečů [28].



**2007 West Nile Virus Activity  
in the United States  
(Reported to CDC as of April 1, 2008)**

State	<u>Encephalitis/ Meningitis</u>	<u>Fever</u>	<u>Other Clinical/Unspecified</u>	<u>Total</u>	<u>Fatalities</u>
Alabama	17	7	0	24	3
Arizona	50	45	2	97	6
Arkansas	13	7	0	20	1
California	154	220	6	380	20
Colorado	99	477	0	576	7
Connecticut	2	2	0	4	0
Delaware	1	0	0	1	0
Florida	3	0	0	3	1
Georgia	23	24	3	50	1
Idaho	10	120	2	132	1
Illinois	57	26	18	101	4
Indiana	14	7	3	24	1
Iowa	12	15	3	30	3
Kansas	14	26	0	40	2

Kentucky	4	0	0	4	0
Louisiana	27	13	0	40	2
Maryland	6	3	1	10	0
Massachusetts	3	3	0	6	0
Michigan	13	1	2	16	4
Minnesota	44	57	0	101	2
Mississippi	50	86	0	136	4
Missouri	61	16	0	77	5
Montana	37	164	1	202	4
Nebraska	21	141	0	162	4
Nevada	2	6	4	12	1
New Jersey	1	0	0	1	0
New Mexico	39	21	0	60	3
New York	16	6	0	22	3
North Carolina	4	4	0	8	0
North Dakota	49	320	0	369	3
Ohio	13	9	1	23	3
Oklahoma	59	46	1	106	8
Oregon	7	19	0	26	0
Pennsylvania	5	4	0	9	0
Rhode Island	0	1	0	1	0
South Carolina	3	2	0	5	0
South Dakota	48	160	0	208	6
Tennessee	5	3	3	11	1
Texas	167	90	0	257	16
Utah	28	42	0	70	2
Virginia	3	1	1	5	0
Wisconsin	7	6	0	13	1
Wyoming	22	147	12	181	2

### **WNF u koní**

WN virus primárně cirkuluje mezi komáry a ptáky. Komáry, sajícími krev jak u ptáků, tak u savců, může být nákaza WN virem přenesena i na různé savce, zejména však koně. WN virová encefalitis byla mimo lidí potvrzena jen u koňů, popř. oslů a mezku. Podobně jako lidé se koně považují za konečný článek v cyklu přenosu nákazy.

Potvrzených zpráv o výskytu tohoto onemocnění však není mnoho. Vysoká prevalence protilátek proti WN viru byla zjištěna u koní v roce 1959 v Egyptě. V roce 1962 se vyskytlo několik suspektních případů ve Francii, v roce 1996 bylo postiženo 94 koní v Maroku, v roce 1998 14 koní v Toskánsku v Itálii, v roce 1998 bylo 18 pozitivních případů v Izraeli a největší



počet prokázaných onemocnění pochází z USA, kde byli koně postiženi již při první epidemii v New Yorku v roce 1999 [29].

V Evropě je opakovaný výskyt WN virové encefalitis u koní známý z jižní Francie z oblasti Národního parku Camarque, kde bylo toto onemocnění zaznamenáno v letech 1962 – 1965. Poté nebylo hlášeno až do září roku 2000, kdy se vyskytly první případy virové encefalitidy u koní a do konce listopadu počet laboratorně potvrzených onemocnění vzrostl na 76. Ohnisko nákazy bylo lokalizováno na poměrně malé území s poloměrem cca 15 km, které se vyznačuje bohatou faunou místních i migrujících ptáků a velkým množstvím komárů. Nálezy mrtvých ptáků ani lidská onemocnění nebyla zaznamenána, pouze u dvou hajných byly zjištěny protilátky pro WN viru [29].

Infekce může proběhnout jako akutní smrtelné onemocnění, avšak většinou je bez klinických příznaků. Smrtnost v případech, kde se vyvinou klinické příznaky je však přibližně 33%. Typické je, že onemocnění koní se objevuje až později po propuknutí nákazy u ptáků a u lidí a tudíž není varujícím projevem hrozící epidemie. Kromě toho nemá specifické příznaky, jako je horečka u lidí [30].

Na rozdíl od lidí je však u koní možnost specifické profylaxe ve formě imunizace. V současné době je v USA veterinární službou doporučeno provádět imunizaci proti WNV u všech koní. K dispozici je jak inaktivovaná multivalentní vakcína, tak živá oslabená vakcína. Primární imunizace se provádí 2 dávkami s 3-6 týdenním odstupem, případně další dávkou k dosažení booster efektu. Na jaře před obdobím vypuknutí WNV infekcí se každý rok přeočkovává [8].

## Diskuse

Západonilská horečka je typickým příkladem nákazy ze skupiny tzv. nově se objevujících infekcí (new or reemerging infections). Cirkulace WNV viru v podmínkách přírodních ohnisek na africkém a euroasijském kontinentě a občasné vzplanutí nákazy u lidí je známá již několik desetiletí.

Soustředěná pozornost epidemiologů a výzkumných pracovišť na tuto nákazu a zavedení systému surveillance v řadě zemí v posledních letech má několik důvodů.

Prvním z nich je rozsah a klinická závažnost posledních epidemických výskytů WN virové encefalitidy z míst jejího dřívějšího výskytu, konkrétně z Rumunska, jižního Ruska a Izraele, které se na rozdíl od dřívějších sporadických výskytů infekce u lidí vyznačovaly epidemickým výskytem, vyšším procentem postižení CNS a významnou smrtností zejména u starší populace a indikují zvýšenou virulenci viru.

V této souvislosti je významné, že se odhaduje, že na každý známý klinický případ západonilské horečky nebo encefalitidy připadá až 150 – 200 případů infekce, která proběhne nerozpoznána, ať již asymptomaticky, nebo pod obrazem nespecifické virové infekce. Při zmíněných epidemiích s řádově stovkami hlášených onemocnění se tedy muselo jednat o desetitisíce infikovaných. V endemických oblastech to prokazují i sérologické průzkumy. Spolu s omezenou možností prevence to vyvolává obavy zejména při představě vzniku a rozšíření kmene WNV s vysokou virulencí.

Dalším významným podnětem k cílené pozornosti vůči tomuto viru je průkaz výjimečné schopnosti WNV, vlastní i jiným flavivirům, k rychlému a masivnímu rozšíření při vzniku vhodných podmínek, jehož pozoruhodnou ukázkou je zcela náhlé a neočekávané proniknutí a expanze WNV na severoamerickém kontinentu během posledních 10 let. Od prvního výskytu s 67 nemocnými v oblasti New Yorku, kam byl virus zavlečen nejspíše nemocnými ptáky došlo během několika let k rozšíření do všech států USA a do části Kanady a v roce 2003, který zatím představoval vrchol epidemického výskytu západonilské encefalitis v USA bylo dle CDC zaznamenáno 9 862 onemocnění a 264 úmrtí.

Kromě toho WNV v USA decimuje i populaci některých druhů ptáků a představuje významné riziko i pro chovy koní (např. v roce 2002 bylo hlášeno onemocnění u 14 358 koní a 4300 koní uhynulo nebo bylo utraceno). WNV byl prokázán již u více než 140 druhů ptáků a kromě koní i u dalších savců.

Obavy, obdobně jako u jiných infekcí, vzbuzuje WNV i v souvislosti s řadou charakteristických faktorů současného života, které vytvářejí příznivé podmínky pro rychlé a rozsáhlé rozšíření virulentních infekcí. Jde o vzrůstající mezinárodní obchod a cestovní ruch, urbanizaci a migraci lidí, změny ve využívání krajiny a způsobu hospodaření a v neposlední řadě i klimatické změny se známkami globálního oteplování a častějším výskytem mimořádných klimatických úkazů typu sucha nebo naopak záplav.

Z hlediska potenciální klinické významnosti WNV infekce je třeba se zmínit i o stárnutí populace a zvyšování procenta imunodeficientních osob.

Nepřímým pozitivním dopadem této zvýšené pozornosti byl vývoj a zavedení rychlých diagnostických technik k sérologické či přímé diagnostice WNV, které umožňují rychlou

reakci v případě vzplanutí epidemie a probíhající vývoj vakcín k aktivní imunizaci, jakožto jediné specifické profylaxi virových infekcí.

V systému surveillance WNV jsou využívány poznatky získané při zkoumání souvislostí z epidemických výskytů západonilské horečky z poslední dekády. Jde zejména o surveillance pozitivitu komárů jako vektorů přenosu nákazy a surveillance mrtvých ptáků, i když je otázkou, zda tento jev není spíše specifický jen pro severoamerický kontinent.

Přes řadu poznatků zůstává pro úplné pochopení cirkulace WNV v prostředí a spolehlivou predikci rizika pro člověka ještě stále řada otázek nezodpovězených.

Západonilská horečka v zásadě patří mezi typické přírodně ohniskové nákazy, v Evropě vázané především na oblasti ústí velkých řek a vodních ploch a vysokým výskytem vodních ptáků a komárů. Je otázkou, zda se zde nákaza udržuje trvale, nebo je sporadicky zavlečena při migraci ptáků z trvalých přírodních ohnisek v teplejších oblastech Středního východu a Afriky.

Poslední velké epidemie v Bukurešti, Volgogradu a New Yorku ovšem vypovídají o tom, že k rozšíření WNV může úspěšně dojít i v jiných podmínkách v urbanizovaném prostředí, kde roli hostitele hrají synantropní a domestikovaní ptáci a kde jsou zřejmě vytvořeny příznivé podmínky pro masivní líhnutí komárů (v New Yorku se uvádí systém svodu dešťových vod se sedimentačními jímkami, v Bukurešti zatopené suterény panelových domů), což silně připomíná podmínky, které u nás v některých městech panovaly za posledních velkých záplav.

Nejasná zatím zřejmě zůstává úloha klimatických faktorů. Zkušenosti z posledních epidemií včetně šíření WNV v USA ukazují na souvislost s velmi suchým a horkým létem, které provázelo většinu případů významného přenosu nákazy do lidské populace. Předpokládá se, že teplota prostředí ovlivňuje množení viru v komárech a tím i zvyšuje pravděpodobnost přenosu nákazy. Je též možné, že k nákaze u člověka je nutná určitá infekční dávka, k jejímuž dosažení v organismu komára napomáhá vyšší teplota prostředí.

Dlouhotrvající sucho též může vést k přesunu ptáků do jiných oblastí a tím nutí komáry rodu *Culex*, kteří preferují sání na ptácích, k přesunu na savce, jakožto náhradní zdroj potravy.

Zkušenosti z USA ovšem nemusí být platné pro hrozbu vzplanutí této infekce v evropských státech, neboť chování WNV na americkém kontinentu je v některých rysech odlišné od dosavadních zjištění v Evropě a zdá se, že jde o odlišné kmeny viru s odlišnými vlastnostmi.

Lze však předpokládat, že o případném problému WNV i u nás budou rozhodovat tři hlavní faktory ovlivňující cirkulaci viru a možnost jeho přenosu na lidskou populaci:

- Podmínky k masivnímu líhnutí komárů a jejich výskyt v místě pobytu lidí
- Rozšíření infekce WNV do zdejší ptačí populace
- Klimatické faktory, zejména ve vztahu k vyšším teplotám a srážkám

Otázkou je, zda by i u nás byl jako varující známka hrozícího rizika zaznamenán úhyn ptáků, stabilně pozorovaný v USA. V dosavadních evropských epidemiích západonilské horečky úhyn ptáků popsán nebyl. Může to však souviset s odlišným chováním vrány americké, která je více vázána na urbanizované prostředí, nežli plachá vrána evropská.

Jisté je, že západonilská horečka se u nás, stejně jako asi v celé evropské populaci vymyká dosavadním zažitým představám o infekčních nemocech.

Pod pojmem infekčních nemocí si u nás představíme nejspíše běžné dětské nemoci, z nichž ty závažné byly úspěšně zvládnuty očkováním, dále nemoci představující běžná a méně závažná rizika každodenního života, jako jsou virózy „z nachlazení“, chřipka a alimentární infekce a pak skupinu závažných až smrtelných infekcí, které však nejsou příliš časté, jako je HIV, meningitis nebo tuberkulóza.

Představa masivního šíření infekce přenášené komáry, proti které zatím neexistuje očkování a která má poměrně vysokou smrtnost, by patrně vyvolala značnou paniku, ke které by jistě přispěla i obvyklá mediální odezva.

Z toho pohledu má velký význam základní informovanost jak klinických lékařů, tak i široké populace o existenci této nákazy, jejíž výskyt nelze vyloučit ani v našich podmínkách. Informace pro klinické lékaře by měly kromě klinického obrazu a včasné diagnostiky v případě vzplanutí infekce pamatovat i na méně známé cesty přenosu při virémii – transfuzí, transplantací orgánů, mateřským lékem a z matky na plod.

Vážnosti potenciální hrozby WNV i pro evropské státy si jsou vědomé i zdravotní orgány Evropská Unie, o čemž svědčí rozhodnutí Komise ze dne 18. prosince 2007, kterým se mění rozhodnutí Evropského parlamentu a Rady č. 2119/98/ES a rozhodnutí 2000/96/ES, která se zabývají zřízením sítě epidemiologického dozoru a kontroly přenosných nemocí ve Společenství. Konstatuje se zde, že v nedávné době se vyskytly nové mikroorganismy, které mohou ohrožovat veřejné zdraví a vedle onemocnění SAR a ptačí chřipky je zde uvedena i nákaza virem západonilské horečky u lidí, o které informuje stále více členských států EU a mimoevropských zemí a která představuje vážné riziko pro veřejné zdraví. Do příloh výše uvedených dokumentů byly proto zařazeny i tyto nákazy.

Informace pro veřejnost je např. v USA zaměřena především na rady k používání repelentů, na vhodné oblečení s dlouhými rukávy a nohavicemi a omezení pobytu venku v době hlavní aktivity komárů, instalace sítí proti hmyzu do oken a dveří, likvidaci stojatých znečištěných vod v okolí domů, jakožto lůhnišť komárů rodu Culex.

## **Závěr**

West Nile virus, způsobující západonilskou horečku, překročil během posledních dvou desetiletí z dosud ne zcela odhalených příčin hranice svých původních endemických oblastí.

Je ukázkou, jak se z nemoci, představující méně významný problém v určité části světa, rychle může stát globální hrozba, poutající pozornost a úsilí odborníků a institucí zabývajících se veřejným zdravím.

Přírodní ohniska této nákazy existují i v České republice a možnost vzniku vhodných podmínek ke vzniku lokálních epidemií západonilské horečky a encefalitidy ani u nás nelze vyloučit.

Je proto pravděpodobně opodstatněné i u nás zařadit západonilskou horečku do systému surveillance virových nákaz s přírodní ohniskovostí, informovat o ní zdravotnickou i laickou veřejnost a zajistit připravenost k účinným opatřením v případě vzniku bezprostřední hrozby šíření infekce, nejspíše formou kvalifikované cílené aplikace prostředků k prevenci množení komárů, jakožto vektorů přenosu nákazy.

## **Literatura**

1. Hubálek Z., Halouzka J.: West Nile Fever – a Reemerging Mosquito- Borne Viral Disease in Europe, *Emerg Infect Dis*, 1999; 5 (5):643-650
2. Lásiková Š., Moravcová L., Pícha D., Horová B.: Virus západonilské horečky (West Nile virus), *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2006, 55(2): 59-62
3. Hubálek Z., Kříž B.: Západonilská horečka, *KMIL*, 2003, 9(2),59-68
4. Hubálek Z., Halouzka J., Juřicová Z., Příkazský Z., Žáková J., Šebesta O.: Surveillance virů přenosných komáry na Břeclavsku v povodňovém roce 1997, *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 1999, 48(3): 91-96
5. Peterson L.R., Roehring J.T.: West Nile Virus : A Reemerging Global Pathogen, *Emerg Infect Dis* 2001, 7 (4): 611-613
6. U.S. Department of Health and Human Services, National Institute of Health (NIH) News: NIAID Begins Clinical Trial of West Nile Virus Vaccine, 2005
7. Monath T.P., Liu J., Thasan N.K. Myers G.A., Nichols R., Deary A., McCarthy K., Johnson C., Ermak T., Shin S., Arroyo J., Guirakhoo F., Kennedy J.S., Ennis F.A., Green S., Bedford P.: A live, attenuated recombinant West Nile virus vaccine, *PNAS*, 2006, 103, 17
8. American Association of Equine Practitioners (AAEP): West Nile Virus Vaccination Guidelines, 2005
9. Michael S.G.: West Nile virus infection, What you need to know about this emerging threat, *Postgraduate Medicine*, 2003, 114,1
10. Goodnough L. T.: Risk of blood transfusion, *Crit Care Med*, 2003, 31, 678-686
11. Kleinchmidt B. K., Marder B. A., Levi M.E. et al.: Naturally acquired West Nile virus encephalomyelitis in transplant recipients: clinical, laboratory, diagnostic, and neuropathological features. *Arch Neurol*, 2004, 64(8):1210-1220
12. Eidson M., Kamer L., Stone W., Hagiwara Y., Schmit K. and The New York State West Nile Virus Avian Surveillance Team: Dead Bird Surveillance as an Early Warning System for West Nile Virus, 1999, *Emerg Infect Dis* 2001, (7): 631-635
13. Klenk K., Snow J., Morgan K., Bowen R., Stephens M., Foster F., Beckett S., Komar N., Gubler D., Bunning M.: Alligators as West Nile Virus Amplifiers, *Emerg Infect Dis*, 2004, 10(12): 2150-2155
14. Fyodorova M.V., Savage H.M., Lopatina J.V., Bulgakova T.A., Ivantinsky A.V., Platonova O.V., Platonova A.E.: Evaluation of Potential West Nile Virus Vectors in Volgograd Region, Russia, 2003 (Diptera: Culicidae): Species Composition, Bloodmeal Host Utilization, and Virus Infection Rates of Mosquitoes, *J of Med Entom* 2006, 43(3):552-563
15. Nasci R.S., White D.J., Stirling H., Oliver J., Daniels T.J., Falco R.C., Campbell S., Crans W.J., Sabate H.M., Lancioti R.S., Moore C.G., Godsley M.S., Gottfried K.L., Mitchell C.J.: West Nile Virus Isolates from Mosquitoes in New York and New Jersey, 1999, *Emerg Infect Dis* 2001, 7,626-630
16. Lawrie Ch.H., Uzcátegui N.Y., Gould E.A. and Nuttall P.A.: Ixodid and Argasid Tick Species and West Nile Virus, *Emerg Infect Dis*, 2004, 10, (4): 653-657
17. Rettich F.: Kalamitní výskyt komárů v poslední době v České republice a jejich likvidace, *Seminář Ektoparaziti člověka*, Praha 2007, Sborník referátů, 39 - 45
18. Chmela J., Mazánek L., Nakládal Z., Pešáková L., Halířová R.: Účinnost letecké aplikace granulovaného larvicidu VectoBac G proti komárům na jaře 2006 v Olomouckém kraji, *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 56, 2007, (2): 78-87

19. Zpráva o činnosti NRL pro monitorování biotických faktorů životního prostředí za rok 2006, Příloha č. 3, Výskyt komárů na Břeclavsku v roce 2006
20. Tsai T.F., Popovici F., Cernescu C., Campbell G.L., Nedelcu N.I.: West Nile virus encephalitis epidemic in southeastern Romania, *Lancet* 1998, 352, 767 – 771
21. Platonov A.E., Shipulin G.A., Shipulina O.Y., Tyutyunnik E.N., Frolochkina T.I., Lanciotti R.S., Yazyshina S., Platonova O.V., Obukhov I.L., Zhukov A.N., Vengerov Y.Y., Pokrovskii V.I.: Outbreak of West Nile Virus Infection, Volgograd Region, Russia, 1999, *Emerg Infect Dis* 2001;7(1):128-32
22. Platonov A.E.: West Nile Encephalitis in Russia 1999-2001, Were We Ready ? Are We Ready ? *Annals of the New York Academy of Science*, 2001, 951: 102-116
23. Weinberger M., Pitlik D.S., Gandacu D., Lang R., Nassar F., Ben-David D., Rubinshtein E., Itzhaki A., Mishal J., Kitzes R., Siegman-Igra Y., Giladi M., Pick N., Mendelson E., Hanna B., Shohat T., Chowers M.: West Nile Fever Outbreak, Izrael, 2000, *Epidemiolog Aspects, Emerg Infect Dis* 2001, (7): 686-691
24. Chowers M., Lang R., Nassar F., Ben-David D., Giladi M., Rubinshtein E., Itzhaki A., Michal J., Siegman-Igra Y., Kitzes R., Pick N., Landau Z., Wolf D., Bin H., Mendelson E., Pitlik S.D., Weinberger M.: Clinical Characteristic of the West Nile Fever Outbreak, Izrael, 2000, *Emerg Infect Dis* 2001, (7): 675-678
25. Scherret J.H., Poidinger M., Mackenzie J.S., Broom A.K., Deubel V., Lipkin W.I., Briese T., Gould E.A., Hall R.A.: The Relationships between West Nile and Kunjin Viruses, *Emerg Infect Dis* 2001, 7,(4): 697-705
26. Center for Disease Control and Prevention (CDC), Division of Vector – Borne Infectious Diseases: West Nile Virus, Statistic, Surveillance, and Control – internetový zdroj
27. International Society for Infectious Disease: ProMED- mail post, WEST NILE VIRUS UPDATE 2008 – WESTERN HEMISPHERE (04) – internetový zdroj
28. Eidson M., Kamer L., Stone W., Hagiwara Y., Schmit K. and The New York State West Nile Virus Avian Surveillance Team: Dead Bird Surveillance as an Early Warning System for West Nile Virus, 1999, *Emerg Infect Dis* 2001 (7):631-635
29. Murgue B., Murri S., Zientara S., Durand B., Durand J.P., Keller H.: West Nile Outbreak in Horses in Southern France, 2000: The Return after 35 Years, *Emerg Infect Dis* 2001, (7): 692-697
30. Trock S.C., Meade B.J., Glaser A.L., Ostlund E.N., Lanciotti R.S., Cropp B.C., Kulasekera V., Kramer L.D., Komar N.: West Nile Virus Outbreak Among Horses in New York State, 1999 a 2000, *Emerg Infect Dis* 2001 (7): 645-747
31. Wikipedia, the free encyclopedia