

ZIKA VIRUS - NASTAVAK TRENDA ŠIRENJA EMERGENTNIH ARBOVIRUSA ILI GLOBALNA JAVNOZDRAVSTVENA PRIJETNJA

TATJANA VILIBIĆ-ČAVLEK^{1,2}, IRENA TABAIN¹, ANA KLOBUČAR³, GORANKA PETROVIĆ¹, VLADIMIR STEVANOVIĆ⁴, VLADIMIR SAVIĆ⁵, PAVLE JELIČIĆ¹, ANDREA BABIĆ-ERCEG¹, NENAD PANDAK⁶ i LJUBO BARBIĆ⁴

¹Hrvatski zavod za javno zdravstvo, ²Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet, ³Nastavni zavod za javno zdravstvo "Dr Andrija Štampar", ⁴Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, ⁵Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, ⁶Opća bolnica "Dr Josip Benčević", Slavonski Brod, Hrvatska

Zika virus (ZIKV) izoliran je 1947. godine iz majmuna na području šume Zika u Ugandi. Do 2007. godine virus se održavao u enzootskom ciklusu na području Afrike uz sporadične humane slučajeve. Nakon epidemije 2007. godine na mikronezijskom otoku Yap bilježe se epidemije na pacifičkim otocima, a 2015. godine virus je unesen u Brazil odakle se proširio Srednjom i Južnom Amerikom. U prirodnom se ciklusu ZIKV održava između majmuna i različitih vrsta komaraca roda *Aedes*. U urbanom su ciklusu rezervoar ljudi, a vektori komarci *Ae. aegypti* i *Ae. albopictus*. Interhumani prijenos moguć je transfuzijom krvi, presatkom organa, spolnim putem te sa zaražene majke na dijete transplacentno/tijekom poroda. U većine zaraženih osoba (~80 %), ZIKV infekcija prolazi asimptomatski. Klinički se infekcija u >95 % oboljelih očituje kao blaga bolest praćena subfebrilnom temperaturom, osipom, mialgijom, artralgijom te konjunktivitisom. Infekcija nastala tijekom trudnoće može rezultirati spontanim pobačajem ili kongenitalnim malformacijama (mikrocefalija). Najčešće opisana neurološka komplikacija je Guillain-Barreov sindrom. Dijagnostika se potvrđuje detekcijom ZIKV RNA ili ZIKV protutijela. Zbog mogućih križnih reakcija s ostalim flavivirusima, inicijalno reaktivne rezultate testa ELISA potrebno je potvrditi neutralizacijskim testovima. Na području Hrvatske do sada je testirano ukupno 106 povratnika iz endemskih područja, od kojih je u tri potvrđena klinički manifestna ZIKV infekcija.

Ključne riječi: Zika virus, epidemiologija, klinička slika, dijagnostika, prevencija

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

POVIJESNI PREGLED

Zika virus (ZIKV) izoliran je 1947. godine iz krvi febrilnog *rhesus* majmuna (*Macaca mulata*) zaraženog u šumi Zika na području Ugande (1). Sljedeće je godine virus izoliran iz komaraca *Aedes (Stegomyia) africanus* uhvaćenih u istoj šumi (2), a 1954. godine iz oboljele djevojčice u Nigeriji (3). Izvan Afrike ZIKV je prvi put izoliran 1969. godine iz komaraca *Ae. aegypti* u Maleziji (4), a prvi humani slučajevi zabilježeni su 1977. godine na indonezijskom otoku Javi (5). Do 2007. godine virus se održavao u enzootskom ciklusu na području Afrike. Iako su seroepidemiološke studije

ukazivale na kruženje virusa u Africi i Aziji, opisano je svega 14 sporadičnih slučajeva humane ZIKV infekcije (5-8). Nakon epidemije 2007. godine na otoku Yap u Mikroneziji (9), zabilježeno je nekoliko epidemija na pacifičkim otocima (10,11), a 2015. godine je ZIKV unesen u Brazil odakle se proširio Srednjom i Južnom Amerikom (12). Tijekom epidemije u Francuskoj Polineziji prvi je puta opažena učestalija pojava Guillain-Barreovog sindroma (GBS) nakon preboljele ZIKV infekcije (13,14), dok je tijekom epidemije u Brazilu zabilježena povećana učestalost kongenitalnih malformacija (mikrocefalija) (15).

STRUKTURA I BIOLOŠKA SVOJSTVA ZIKA VIRUSA

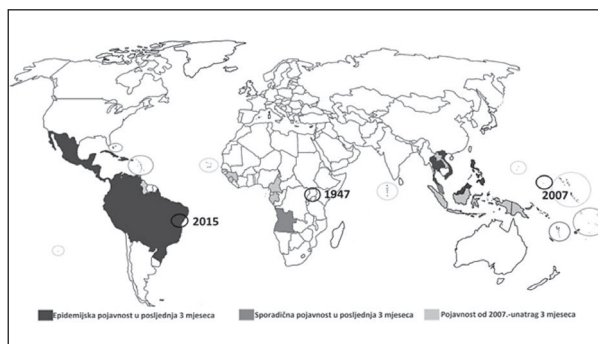
ZIKV je mali, ovijeni virus koji pripada porodici *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus*, serokompleksu Spondweni. Genom ZIKV čini jednolančana (+) RNA koja sadrži jedno veliko otvoreno područje kodiranja (engl. *open reading frame*; ORF) i dvije kratke nekodirajuće regije na 3' i 5' kraju. Nakon ulaska u stanicu virusni genom se veže za ribosome i prevodi u poliprotein koji se posttranslacijski cijepa na tri strukturna (C, prM/M, E) i 7 nestrukturnih proteina (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) (16). Za razliku od ostalih flavivirusa koji se umnožavaju u citoplazmi, antigen ZIKV dokazan je i u jezgri inficiranih stanica (17). Filogenetskom analizom ORF-a opisane su dvije genetske linije ZIKV (afrička i azijska) (18), a analizom NS5 gena tri genetske linije (istočnoafrička, zapadnoafrička i azijska) (9). Afrička je linija slabije virulencije od azijske (19). Strukturna analiza ZIKV pokazala je da E protein vrlo nalikuje onom u neurovirulentnim virusima Zapadnog Nila (VZN) i japanskog encefalitisa (JEV), dok ostali proteini pokazuju sličnost s proteinima virusa dengue (DENV). Nadalje, opaženo je da struktura ZIKV ostaje sačuvana na 40° C za razliku od termolabilnog DENV. Krioelektronskom mikroskopijom uočena je kompaktnija površinska struktura čime se objašnjava sposobnost preživljavanja ZIKV u nepovoljnijoj okolini (sjemena tekućina, slina, urin) (20). Virus se može inaktivirati djelovanjem 70 % etanola i izopropanola, 1 % hipoklorita, 2 % paraformaldehida, 2 % glutaraldehida te temperature $\geq 60^\circ$ C. Osušeni virus u okolini zadržava infektivnost duže od tri dana (21).

EPIDEMIOLOGIJA VIRUSNE INFEKCIJE ZIKA

U prirodi se ZIKV održava u enzootskom/epizootskom silvatičkom ciklusu između majmuna i različitih vrsta komaraca roda *Aedes* (dokazan je u više od 20 vrsta komaraca). U urbanom su ciklusu glavni rezervoar virusa ljudi, a vektori komarci *Ae. aegypti*, no mogu ga prenositi i komarci *Ae. albopictus*, što je potvrđeno tijekom epidemije u Gabonu i Senegalu 2007. godine (22,23). Protutijela na ZIKV dokazana su u različitim vrstama životinja (glodavci, šišmiši, zebre, slonovi, antilope, vodenkonji, ovce i koze), ali njihova uloga kao rezervoara do sada nije potvrđena (8). Osim uobičajenog prijenosa ZIKV putem komaraca dokazan je i prijenos spolnim putem (24,25). Najčešće je do prijenosa došlo sa zaraženih muškaraca na žene, no opisan je i prijenos s muškarca na muškarca te vjerojatan prijenos sa žene na muškarca (26-28). Tijekom viremicične faze virus se može prenijeti transfuzijom krvi i krvnih pripravaka (29-31), a moguć je i prijenos putem pre-

satka organa (32). Zaražene trudnice mogu prenijeti virus na plod transplacentno ili tijekom poroda (33). ZIKV je dokazan i u slini te majčinom mlijeku, no prijenos slinom i dojenjem do sada nije opisan (34). Opisan je i jedan slučaj ZIKV infekcije nakon ugriza majmuna (35).

Nakon 2007. godine epidemiološka situacija se mijenja te se ZIKV širi izvan uobičajenog endemskog područja (sl. 1). Prva je velika epidemija u urbanom području opisana 2007. godine na otoku Yap u Mikroneziji kada je klinički simptomatska ZIKV infekcija zabilježena u 185 osoba, a u ~73 % stanovnika dokazana su ZIKV protutijela (9,36). Tijekom 2013. i 2014. godine nastavljeno je širenje virusa pacifičkim otocima (10,11,37). Procjenjuje se da je na području Francuske Polinezije više od 30.000 stanovnika (~11,5 % populacije) bilo inficirano ZIKV (37). U Novoj Kaledoniji potvrđeno je 1.400 slučajeva (~0,8 % populacije), a dokazana su i dva slučaja koinfekcije ZIKV i DENV (38). Manja je epidemija (905 slučajeva) opisana na Cookovom otočju od kojih je ZIKV infekcija potvrđena u 49 (10) te na Uskršnjem otoku (Čile) s 50 oboljelih osoba (39). U ožujku 2015. godine opisani su prvi slučajevi ZIKV infekcije u Brazilu, nakon čega se virus brzo proširio po američkom kontinentu (40). Epidemijsko širenje azijske genetske linije ZIKV povezuje se s mutacijama virusa (10,18,41). Usporedbom sojeva virusa pre-epidemijske (Malezija, 1966) i epidemijske azijske linije, dokazana je supstitucija 24 aminokiseline na genima: prM-2, E-3, NS2A-1, NS3-3, NS4B-7 te NS5-8, dok je usporedbom sojeva virusa pre-epidemijske afričke i azijske linije dokazana supstitucija čak 75 aminokiseline: C-5, prM-9, E-10, NS1-4, NS2A-5, NS2B-2, NS3-9, NS4A-1 NS4B-9 te NS5-21. Petnaest je supstitucija nađeno samo u epidemijskim sojevima ZIKV (18,41).



Sl. 1. Zemljopisna područja s dokazanim autohtonim prijenosom Zika virusne infekcije

Do siječnja 2017. godine autohtoni slučajevi ZIKV infekcije zabilježeni su u 71 državi svijeta (sl. 1). Kongenitalne infekcije (mikrocefalija i ostali poremećaji središnjeg živčanog sustava; SŽS) povezane sa ZIKV infekcijom zabilježene su u 29 država, a povećana učestalost GBS u 21 državi (42).

U Europi je prvi slučaj importirane ZIKV infekcije zabilježen 2013. godine (43) nakon čega se slučajevi kontinuirano bilježe (44-46). U zemljama Europske unije prijavljeno je 2.130 unesenih slučajeva u 21 zemlji, od čega je 116 slučajeva zabilježeno u trudnica (42).

U Hrvatskoj je do sada testirano ukupno 106 putnika povratnika iz endemskih područja (podatci Referentnog centra Ministarstva zdravstva za dijagnostiku i praćenje virusnih zoonoza, Hrvatski zavod za javno zdravstvo). Unesena klinički manifestna ZIKV infekcija potvrđena je u tri osobe (47).

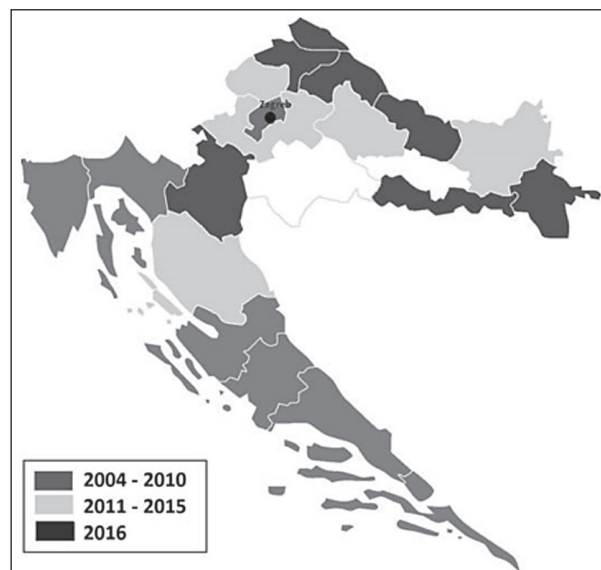
VEKTORI ZIKA VIRUSA

Više je vrsta komaraca roda *Aedes* koji se navode kao vektori tijekom epidemija ZIKV infekcije u svijetu. Vektorom ZIKV u epidemiji na otoku Yap 2007. godine smatra se komarac *Ae. hensilli* (48), a na otocima Francuske Polinezije 2013. godine uz vrstu *Ae. aegypti* kao glavnog vektora, manje značajan vektor navodi se *Ae. polynesiensis* (49). Epidemija 2007. godine u urbanom području u Gabonu povezuje se s tigrastim komarcem, *Ae. albopictus* (22).

Kapacitet vektora za prijenos infekcije određuju brojni faktori kao što su sposobnost vektora za prijenos virusa, gustoća populacije komaraca, sklonost hranjenja vektora na domaćinu, učestalost hranjenja i preživljavanje populacije komaraca. O vektorskoj sposobnosti različitih vrsta komaraca u prijenosu ZIKV objavljeno je svega nekoliko studija (23,50,51). Dosadašnje pojave epidemija infekcije ZIKV i provedene studije pokazuju da je u urbanim područjima glavni vektor ZIKV *Ae. aegypti*, a zbog visoke antropofilnosti; *Ae. albopictus* ima sekundarnu ulogu kao vektor (22,23).

Komarac *Ae. aegypti* invazivna je i jedna od najproširenijih vrsta komaraca u svijetu. Premda je na području Europe mjestimično bila prisutna u prvoj polovici 20. stoljeća (mediteranske zemlje), danas je u Europi proširena i udomaćena samo na otoku Madeira i dijelovima južne Rusije i Gruzije (područja uz istočnu obalu Crnog mora). Tigrasti komarac, *Ae. albopictus* najinvazivnija je vrsta u svijetu. Njeno je širenje u posljednjih nekoliko desetljeća ubrzano zbog globalizacije općenito, a najčešći i najpoznatiji put prijenosa u nova područja je trgovina rabljenim gumama (automobilskim i drugim vrstama guma) u koje ženka ove vrste polaže jaja (52). Na području jugoistočne Europe tigrasti komarac je udomaćena vrsta. Od prvog nalaza u Hrvatskoj 2004. godine u Zagrebu (53) do danas tigrasti komarac se udomaćio u priobalju (od sjeverne Istre do dubrovačkog priobalja) i na otocima (54-56). U kontinentalnoj Hrvatskoj udomaćen je u većem

dijelu grada Zagreba (57) te u pojedinim dijelovima Zagrebačke županije, a posljednjih nekoliko godina mjestimični nalazi zabilježeni su u većini županija kontinentalne Hrvatske (sl. 2).



Sl. 2. Rasprostranjenost tigrastog komarca, *Ae. albopictus* na području Hrvatske (2004.-2016. godine)

Ae. albopictus najčešće se razvija u naseljenim područjima, u leglima koje stvara čovjek (umjetna legla): različite posude u okolišu koje zadržavaju kišnicu, posude u vrtovima s vodom za zalijevanje, odbačeni predmeti, plitice za cvijeće, gume na otvorenome, vaze na grobljima, začepljeni oluci, ulični slivnici u kojima stoji voda te brojni drugi predmeti koji zadržavaju vodu. Stoga je edukacija građana o leglima tigrastog komarca i sprječavanju njegova razvoja iznimno važna (57).

PATOGENEZA VIRUSNE INFEKCIJE ZIKA

Patogenetski mehanizmi ZIKV infekcije još uvijek nisu u potpunosti razjašnjeni. Nakon inokulacije virusa u kožu ubodom ženke komarca, ZIKV se primarno umnaža u keratinocitima i dendritičkim stanicama. Kao mogući receptori za ZIKV dokazani su DC-SIGN (obitelj integrina), AXL i Tyro-3 (obitelj tirozin kinaza) te u manjoj mjeri, TIM-1 (obitelj fosfatidil serinskih receptora). Iako TIM-1 nije dovoljan za započinjanje infekcije, čini se da može pospješiti ulazak ZIKV u stanicu jer omogućuje vezanje većeg broja virusnih čestica na površinu stanice te time olakšava interakciju s AXL receptorom koji omogućuje ulazak virusa u stanicu (58). Nakon primarnog umnožavanja ZIKV migrira u limfne čvorove te potom u krv. Za sada nije

poznato imaju li asimptomatske osobe nižu viremiju od bolesnika s klinički manifestnom infekcijom. Nedavno objavljena istraživanja pokazala su da klinička slika infekcije ZIKV može biti teža u osoba koje su prethodno preboljele neku flavivirusnu infekciju kao što je slučaj i s DENV (59,60). Neurotropizam ZIKV uočen je još 1952. godine u pokusima na miševima (1), što je potvrđeno i 1971. godine nalazom patoloških promjena i virusnih inkluzija u mozgu miševa (neuron, stanice glije) nakon intracerebralne inokulacije virusa (61). Nedavnim je istraživanjima dokazana neurotropnost ZIKV u imunokompromitiranih miševa i nakon supkutane inokulacije virusa (62).

KLINIČKA SLIKA VIRUSNE INFEKCIJE ZIKA

Inkubacija infekcije ZIKV traje 3-12 dana. Infekcija u većine zaraženih (~80 %) prolazi asimptomski. Klinički simptomatska infekcija se u >95 % oboljelih očituje kao blaga bolest koja prolazi spontano unutar tjedan dana. Najčešće je praćena subfebrilnom temperaturom (62-65 %), mialgijom i artralgijom (48-65 %), glavoboljom (45-58 %), ospicom (90-95 %) te konjunktivitisom (38-55 %). Rjeđe se pojavljuju retrobulbarni bolovi, bolovi u abdomenu, mučnina, proljev te edem nogu (63).

Osp je makulozan ili makulopapulozan i pojavljuje se najprije na glavi i na trupu te zatim širi na ekstremitete, dok su dlanovi i tabani rijetko zahvaćeni. Može biti praćen svrbežom i deskvamacijom. Ponekad su prisutne blaže hemoragijske manifestacije u obliku petehija. Regresija kožnih promjena započinje nakon 2-3 dana, a potpuno nestaju tijekom tjedan dana (64). Artritis/artralgiya obično zahvaća zglobove šaka i stopala.

Još uvijek nije poznato je li klinička slika ZIKV infekcije teža u imunokompromitiranih te starijih osoba kao što je slučaj s drugim flavivirusima kao npr. VZN i Usutu virusom (USUV), jer su u ovim populacijskim skupinama opisani samo sporadični slučajevi. Jedan je slučaj zabilježen u HIV-pozitivne osobe s blagom kliničkom slikom i potpunim oporavkom (65), a opisan je i jedan slučaj fatalne ZIKV infekcije u 15-godišnje djevojčice s anemijom srpastih stanica (66). Opisano je i nekoliko slučajeva neuroinvasive infekcije ZIKV (meningoencefalitis, mijelitis) (67,68), kao i slučajeva infekcije s atipičnom kliničkom slikom: trombocitopenijom i potkožnim krvarenjima (69) te jakim abdominalnim grčevima (70).

Zika infekcija u trudnoći

Za sada nema dokaza da je infekcija ZIKV u trudnoći povezana s težom kliničkom slikom u trudnice, dugo-

trajnim utjecajem na fertilnu sposobnost ili štetnim utjecajima na fetus u sljedećim trudnoćama (71). Infekcija nastala tijekom trudnoće može rezultirati spontanom pobačajem ili kongenitalnim malformacijama (72,73). Povezanost infekcije ZIKV s mikrocefalijom kao najtežom posljedicom kongenitalne infekcije uočena je za vrijeme epidemije u Brazilu. Rizik za nastanak mikrocefalije iznosi 1-13 % u slučaju ZIKV infekcije majke u prvom tromjesečju trudnoće (74). Osim mikrocefalije često su prisutna i druga oštećenja središnjeg živčanog sustava fetusa (intracerebralne kalcifikacije, ventrikulomegalija, pahigirija) (75). Nedavno objavljeno istraživanje analiziralo je nalaze kompjutorizirane tomografije djece s mikrocefalijom. Najčešći patološki nalaz bili su točkasti kalcifikati u frontalnim i parijetalnim režnjevima, bazalnim ganglijima i talamusu, ventrikulomegalija te cerebelarna hipoplazija (76). Promjene na očima povezane sa ZIKV infekcijom uključuju korioretinalnu atrofiju (za razliku od korioretinitisa uzrokovanog ostalim TORCH uzročnicima), nakupljanje pigmenta u makularnom području i oštećenja optičkog živca (77). Uz navedeno, opisani su i slučajevi hidranencefalije te fetalnog hidropsa nastalih kao posljedica infekcije ZIKV (78).

Povezanost ZIKV s nastankom mikrocefalije nedvojbeno je potvrđena, no ciljne stanice ZIKV kao i mehanizam nastanka mikrocefalije još uvijek nisu razjašnjeni (79,80). Eksperimenti *in vitro* pokazali su da ZIKV dovodi do infekcije humanih kortikalnih prekursora neurona što uzrokuje poremećaj regulacije transkripcije i smrt stanice (81). Kao druga mogućnost nastanka mikrocefalije tijekom infekcije ZIKV navodi se upalni odgovor posteljice zbog kojeg je smanjena produkcija neuropeptida i faktora rasta potrebnih za normalan razvoj mozga (82).

Guillain-Barreov sindrom

Učestalija pojava GBS nakon ZIKV infekcije prvi je puta uočena tijekom epidemije u Francuskoj Polineziji 2013. godine, kada su zabilježena 42 slučaja. Od ukupnog broja oboljelih, 88 % je imalo simptome ZIKV infekcije (uz dokazana neutralizacijska protutijela), koja je prethodila pojavi neuroloških simptoma (13,14). Najčešći klinički simptomi bili su mišićna slabost (74 %) uz nemogućnost hoda (55 %) te pareza facijalnog živca (66 %), a u 29 % bolesnika bila je neophodna mehanička ventilacija (14,83). Kao mogući patofiziološki mehanizmi GBS navode se: a) imunopatologija uzrokovana antigenom mimikrijom sa staničnim proteinima, b) promjene virusnih sekvenci s posljedičnim povećanim tropizmom za periferni živčani sustav; c) ranija DENV infekcija ili koinfekcija s DENV (84,85). Smrtnost u akutnoj fazi GBS-a iznosi oko 5 % (3,5-12 %) (13).

DIJAGNOSTIKA VIRUSNE INFEKCIJE ZIKA

Dijagnostika ZIKV uključuje izravne (izolacija, molekularna dijagnostika, detekcija antigena) te neizravne metode (serološka dijagnostika) (tablica 1) (86). Zbog mogućih seroloških križnih reakcija s drugim flavivirusima, unutar prvih 7 dana od početka bolesti preporuča se učiniti RT-PCR. ZIKV/ZIKV RNA može se dokazati u krvi, urinu, slini, sjemenjaku, plodnoj vodi, tkivu posteljice te tkivu mozga. Virus je u krvi prisutan do 5 dana, slini 5-7 dana (87), urinu najmanje 14 dana (88), a u sjemenjaku je dokazan i nakon 2 mjeseca od početka bolesti (najduže razdoblje u kojem je dokazana ZIKV RNA iznosilo je 188 dana)(89).

Tablica 1.

Klinički uzorci i metode koje se koriste u dijagnostici virusa Zika

Klinički uzorak	Metoda	Vrijeme uzimanja	Pohrana uzorka	Napomena
Krv (serum)	RT-PCR / izolacija	≤ 5 dana		
Urin	RT-PCR / izolacija	≤ 14 dana		Viši titar virusa nego u krvi
Sjemenjaka tekućina	RT-PCR / izolacija	≤ 6 mjeseci* / ≤ 2 mjeseca	≤ 48 sati: 2-8°C 48 sati-7 dana: -20°C	Viši titar virusa nego u krvi
Plodna voda	RT-PCR / izolacija		≥ 7 dana: -70°C	
Slina	RT-PCR / izolacija	≤ 7 dana		
Tkivo mozga	RT-PCR / izolacija			
Tkivo posteljice	RT-PCR / izolacija			
Serum	Serologija (IgM/IgG)	≥ 5 dana	≤ 10 dana: 2-8°C ≥ 10 dana: -20°C	Križne reakcije s drugim flavivirusima

*Najdulje razdoblje detekcije ZIKV RNA iznosilo je 188 dana

ZIKV se može izdvojiti u staničnim kulturama bubrega majmuna (Vero, LLC-MK₂) te bubrega svinje (PS-C₁) (63). Za izolaciju se najčešće rabi stanična kultura Vero u kojoj virus stvara citopatski učinak u obliku vakuolizacije citoplazme, žarišne degeneracije i piknoze (90).

U molekularnoj se dijagnostici koriste "pan-flavi" početnice koje detektiraju genom flavirusa te specifične početnice koje detektiraju ZIKV RNA. Većina molekularnih testova rabi početnice usmjerene na NS5 gen ili 3' NCR koji su visoko postojane regije genoma ZIKV (91). Nadalje, ZIKV je uspješno detektiran početnicama kojima je ciljna sekvenca E gen (92), NS-1 te NS-3 (93).

U serološkoj dijagnostici primjenjuju se imunoenzimni test (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*;

ELISA) te indirektni imunofluorescentni test (engl. *indirect immunofluorescence assay*; IFA) kojima je moguće odrediti ZIKV IgM i IgG protutijela. Zbog križnih reakcija s drugim flavivirusima unutar iste ili druge seroskupine (DENV, VZN, JEV), svaki je reaktivni rezultat potrebno potvrditi neutralizacijskim testovima (virus neutralizacijski test; VNT, neutralizacijski test redukcije plakova; PRNT). Križne su reakcije učestalije u osoba koje su prethodno preboljele neku flavivirusnu infekciju, posebno DENV (9). Iako su križne reakcije moguće i u neutralizacijskim testovima, homologni titar protutijela obično je najmanje četverostruko veći od heterolognog titra (94,95). Rijetko se pojavljuje i križna-reaktivnost s alfavirusima (CHIKV) (63).

Europski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (engl. *European Centre for Disease Prevention and Control*; ECDC) predložio je kriterije za laboratorijsku dijagnostiku ZIKV:

- vjerojatna infekcija: ZIKV IgM protutijela uz epidemiološku poveznicu-kontakt s potvrđenim slučajem, boravak u području s dokazanom transmisijom virusa unutar dva tjedna prije početka simptoma;
- potvrđena infekcija: prisutnost ZIKV RNA/antigena u serumu ili drugim uzorcima (slina, tkiva, urin, krv) ili ZIKV IgM protutijela te ZIKV PRNT titar ≥20 ili ZIKV PRNT titar ≥4 puta u odnosu na titar drugih flavivirusa (42).

DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA VIRUSNE INFEKCIJE ZIKA

U diferencijalnu dijagnozu ZIKV infekcije treba uključiti dengue i chikungunya groznicu zbog sličnih kliničkih simptoma (tablica 2), zemljopisne rasprostranjenosti te mogućih koinfekcija (96,97). Nedavno objavljeno istraživanje u Nigeriji pokazalo je da je osip znatno češće prisutan u ZIKV-pozitivnih bolesnika (91,4 %) u odnosu na DENV i CHIKV-pozitivne bolesnike (50,0 % odnosno 56,3 %). Osim toga, bolesnici sa ZIKV infekcijom su rjeđe bili febrilni >38° C (7,4 %) u odnosu na bolesnike s DENV (28,6 %) i CHIKV infekcijom (33,7 %) (98). Od ostalih uzročnika, svakako treba uzeti u obzir ostale viruse koji uzrokuju osipne bolesti kao što su VZN, virus morbila, rubele, parvovirus B19, enterovirusi, adenovirusi te bakterije (BHS- grupe A, rikecije).

Tablica 2.
 Kliničke značajke infekcija uzrokovanih virusom dengue,
 Zika i chikungunya (96)

Simptom	DENV	ZIKV	CHIKV
Vrućica	+++	++	+++
	(>38°C)	(≤38°C)	(>38°C)
Glavobolja	++	+	++
Osip	+	+++	++
Mialgija	++	+	+
Artralgija	+	++	+++
Konjunktivitis	-*	++	-*
Edemi	-	++	-
Krvarenja	+	**	-

DENV=dengue virus; ZIKV=Zika virus; CHIKV=chikungunya virus;
 *rijetka pojava; **do sada je opisan jedan slučaj

TERAPIJA VIRUSNE INFEKCIJE ZIKA

Terapija ZIKV infekcije je simptomatska (analgetici, antipiretici). Do isključenja dengue ne preporuča se uzimati aspirin i nesteroidne protuupalne lijekove zbog rizika od hemoragijskih manifestacija. Do sada je objavljeno nekoliko istraživanja o učinku antivirusnih lijekova na umnožavanje ZIKV u staničnim kulturama. Analizom učinka različitih modifikacija nukleozidnih analoga uočeno je da metilirani nukleozidi dovode do inhibicije replikacije ZIKV *in vitro* (99). Nadalje, nedavno objavljeno istraživanje pokazalo je inhibitorski učinak sofosbuvira (ovisan o dozi) na replikaciju ZIKV u staničnoj kulturi bubrega hrčka (BHK-21) i humanog neuroblastoma (SH-Sy5y) djelujući na aktivnost RNA polimeraze (100,101). Nanchangmicin, produkt *Streptomyces nanchangensis*, koji pokazuje antibakterijsko djelovanje *in vitro*, također je pokazao učinak na ZIKV sprječavajući ulazak virusa u stanicu (102).

PREVENCIJA VIRUSNE INFEKCIJE ZIKA

S obzirom na nepostojanje specifične mjere prevencije infekcije ZIKV cjepivom ili lijekovima za sada su najvažnije mjere prevencije izbjegavanje putovanja u područja s prisutnom zarazom, nadzor nad putnicima iz tih krajeva, osobna zaštita od uboda komaraca i suzbijanje komaraca. S epidemiološkog gledišta jedina doista učinkovita mjera je sustavna preventivna dezinskcija s ciljem da se populacija komaraca kao vektora svede na minimum (103). Navedena sustavna preventivna dezinskcija u Hrvatskoj je zakonski propisana za sve jedinice lokalne uprave i samouprave.

S obzirom da je na području Hrvatske udomaćen komarac *Ae. albopictus* kao potencijalni vektor ZIKV uspostavljen je sustav rane detekcije infekcije ZIKV, što uz praćenje lokalnog prijenosa virusa omogućuje pravovremeno i usmjereno provođenje mjera prevencije i suzbijanja širenja ZIKV na području Hrvatske. Medicinsko osoblje treba biti informirano o postojećoj epidemiji infekcije ZIKV u svijetu kako bi se što ranije otkrili importirani slučajevi i tako spriječilo daljnje širenje virusa. Budući da su importirane infekcije dokazane i u Hrvatskoj, važno je da liječnici kod svakog febrilnog pacijenta koji je boravio u rizičnim područjima uključe u dijagnostiku i ZIKV, ali i ostale emergentne arbovirusne bolesti koje se mogu prezentirati sličnom kliničkom slikom kao infekcija DENV te CHIKV (42).

Putnicima koji putuju u područja s aktivnim prijenosom ZIKV savjetuje se primjena mjera osobne zaštite u cilju izbjegavanja uboda komaraca tijekom cijelog dana, a posebno od izlaska do zalaska sunca kada su komarci koji prenose ZIKV najaktivniji: upotreba repelenata (npr. na bazi DEET-a 30-50 % ili ikaridina); nošenje odjeće dugih rukava i dugih hlača; spavanje ili odmaranje u klimatiziranim prostorima ili prostorima primjereno zaštićenima mrežama protiv komaraca na prozorima i vratima. Ako to nije moguće, preporuča se koristiti mrežu protiv komaraca za krevet (po mogućnosti tretiranu insekticidom dugotrajnog djelovanja). Trudnicama i ženama koje planiraju skorbu trudnoću preporuča se odgoda puta u rizično područje (42).

Pojava osobe s infekcijom ZIKV ili samo sumnja na tu infekciju zahtijeva provedbu mjere hitnog adulticidnog suzbijanja komaraca u neposrednoj blizini inficirane osobe kako bi se smanjenjem broja komaraca kao vektora smanjila mogućnost daljnjeg širenja ZIKV. Navedenu mjeru provode uglavnom zavodi za javno zdravstvo i do sada se pokazala učinkovitom u sprječavanju daljnjeg širenja bolesti koje se prenose komarcima (103).

ZAKLJUČAK

Uzimajući u obzir sve do sada poznate podatke o infekciji ZIKV nameće se pitanje radi li se doista o novoj i neočekivanoj globalnoj javnozdravstvenoj prijetnji, kao što je u jednom trenutku objavila i Svjetska zdravstvena organizacija. Naime, posljednjih godina na svjetskoj razini svjedoci smo pojave i širenja niza emergentnih arbovirusa od kojih su mnogi zabilježeni i u Hrvatskoj. Primjerice, u posljednjem su desetljeću na području Hrvatske zabilježene authtone infekcije uzrokovane DENV i USUV (104-107), pojava i endemizacija VZN (108-110) kao i importirani slučajevi infekcije ZIKV i CHIKV (47). Dodavši tome i širenje

emergentnih arbovirusa značajnih za veterinarsku medicinu poput virusa bolesti plavog jezika odnosno izvjesnu prijetnju od infekcija virusom bolesti kvrgeve kože, više je nego jasno da širenje ZIKV zasigurno nije neočekivani izdvojeni događaj nego potvrda jasno uočljivog trenda širenja emergentnih arbovirusnih infekcija. Ovaj je trend uvjetovan sociodemografskim i klimatskim promjenama, globalizacijom te drugim faktorima koje donosi moderno doba. Stoga je pojava i širenje nekih novih arbovirusnih infekcija vrlo izvjesno i u predstojećem razdoblju, kako na globalnoj razini tako i u Hrvatskoj, što zahtijeva nastavak i intenziviranje multidisciplinske suradnje u skladu s inicijativom “Jedno zdravlje”.

Serološko testiranje putnika povratnika iz endemskih područja učinjeno je u okviru projekta HRZZ IP-2016-06-7456: “Prevalencija i molekularna epidemiologija emergentnih i re-emergentnih neuroinvazivnih arbovirusnih infekcija na području Hrvatske” (voditeljica: doc. dr. sc. Tatjana Vilibić-Čavlek).

L I T E R A T U R A

1. Dick GW, Kitchen SF, Haddock AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1952; 46: 509-20.
2. Dick GW. Zika virus. II. Pathogenicity and physical properties. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1952; 46: 521-34.
3. Macnamara FN. Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1954; 48: 139-45.
4. Marchette NJ, Garcia R, Rudnick A. Isolation of Zika virus from *Aedes aegypti* mosquitoes in Malaysia. *Am J Trop Med Hyg* 1969; 18: 411-5.
5. Olson JG, Ksiazek TG, Suhandiman, Triwibowo R. Zika virus, a cause of fever in central Java, Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1981; 75: 389-93.
6. Moore DL, Causey OR, Carey DE i sur. Arthropod borne viral infections of man in Nigeria, 1964-1970. *Ann Trop Med Parasitol* 1975; 69: 49-64.
7. Fagbami AH. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. *J Hyg (Lond)* 1979; 83: 213-9.
8. Darwish MA, Hoogstraal H, Roberts TJ, Ahmed IP, Omar F. A seroepidemiological survey for certain arboviruses (Togaviridae) in Pakistan. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983; 77: 442-5.
9. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ i sur. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 1232-5.
10. Musso D, Nilles EJ, Cao-Lormeau VM. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20: 595-6.
11. Roth A, Mercier A, Lepers C i sur. Concurrent outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections - an unprecedented epidemic wave of mosquito-borne viruses in the Pacific 2012-2014. *Euro Surveill* 2014; 19(41) pii: 20929.
12. Chen LH, Hamer DH. Zika Virus: Rapid spread in the Western Hemisphere. *Ann Intern Med* 2016; doi: 10.7326/M16-0150.
13. Oehler E, Watrin L, Larre P i sur. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome-case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill* 2014; 19(9). pii: 20720.
14. Cao-Lormeau VM, Blake A, Mons S i sur. Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *Lancet* 2016; pii: S0140-6736(16)00562-6.
15. Nunes ML, Carlini CR2, Marinovic D i sur. Microcephaly and Zika virus: a clinical and epidemiological analysis of the current outbreak in Brazil. *J Pediatr (Rio J)* 2016; pii: S0021-7557(16)30001-8.
16. Kuno G, Chang GJ. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. *Arch Virol* 2007; 152: 687-96.
17. Buckley A, Gould EA. Detection of virus-specific antigen in the nuclei or nucleoli of cells infected with Zika or Langkat virus. *J Gen Virol* 1988; 69: 1913-20.
18. Haddock AD, Schuh AJ, Yasuda CY i sur. Genetic characterization of Zika virus strains: geographic expansion of the Asian lineage. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6: e1477.
19. Lanciotti RS, Lambert AJ, Holodny M, Saavedra S, del Carmen Castillo Signor L. Phylogeny of Zika virus in Western Hemisphere, 2015. *Emerg Infect Dis* 2016; 22.
20. Kostyuchenko VA, Lim EX, Zhang S i sur. Structure of the thermally stable Zika virus. *Nature* 2016; doi: 10.1038/nature 17994.
21. Müller JA, Harms M, Schubert A i sur. Inactivation and environmental stability of Zika virus. *Emerg Infect Dis* 2016; 22(9): 1685-7.
22. Grard G, Caron M, Mombo IM i sur. Zika virus in Gabon (Central Africa)-2007: a new threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8(2): e2681.
23. Wong PS, Li MZ, Chong CS, Ng LC, Tan CH. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse): a potential vector of Zika virus in Singapore. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7(8): e2348.
24. Foy BD, Kobylinski KC, Chilson Foy JL, i sur. Probable nonvector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 880-2.
25. D’Ortenzio E, Matheron S, de Lamballerie X i sur. Evidence of sexual transmission of Zika virus. *N Engl J Med* 2016; doi: 10.1056/NEJMc1604449.
26. Russell K, Hills SL, Oster AM i sur. Male-to-female sexual transmission of Zika virus-United States, January-April 2016. *Clin Infect Dis* 2017; 64(2): 211-13.
27. Deckard DT, Chung WM, Brooks JT i sur. Male-to-male sexual transmission of Zika virus-Texas, January 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016; 65(14): 372-4.

28. Davidson A, Slavinski S, Komoto K, Rakeman J, Weiss D. Suspected female-to-male sexual transmission of Zika virus - New York City, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016; 65(28): 716-7.
29. Musso D, Nhan T, Robin E i sur. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill* 2014; 19(14) pii: 20761.
30. Franchini M, Velati C. Blood safety and zoonotic emerging pathogens: now it's the turn of Zika virus! *Blood Transfus* 2016; 14(2): 93-4.
31. Marano G, Pupella S, Vaglio S, Liunbruno GM, Grazzini G. Zika virus and the never-ending story of emerging pathogens and transfusion medicine. *Blood Transfus* 2016; 14: 95-100.
32. Rodriguez-Morales AJ, Bandeira AC, Franco-Paredes C. The expanding spectrum of modes of transmission of Zika virus: a global concern. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2016; 15(1): 13.
33. Besnard M, Lastere S, Teissier A, Cao-Lormeau V, Musso D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill* 2014; 19(13) pii: 20751.
34. Dupont-Rouzeyrol M, Biron A, O'Connor O, Huguon E, Descloux E. Infectious Zika viral particles in breastmilk. *Lancet* 2016; 387(10023): 1051.
35. Leung GH, Baird RW, Druce J, Anstey NM. Zika virus infection in Australia following a monkey bite in Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2015; 46: 460-4.
36. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT i sur. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* 2009; 360(24): 2536-43.
37. Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A i sur. Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerg Infect Dis* 2014; 20(6): 1085-6.
38. Dupont-Rouzeyrol M, O'Connor O, Calvez E i sur. Co-infection with Zika and dengue viruses in 2 patients, New Caledonia, 2014. *Emerg Infect Dis* 2015; 21: 381-2.
39. Tognarelli J, Ulloa S, Villagra E i sur. A report on the outbreak of Zika virus on Easter Island, South Pacific, 2014. *Arch Virol* 2016; 161: 665-8.
40. Kindhauser MK, Allen T, Frank V, Santhana RS, Dye C. Zika: the origin and spread of a mosquito-borne virus. *Bull World Health Org* 2016; 94(9): 675-86C.
41. Zhu Z, Chan JF, Tee KM i sur. Comparative genomic analysis of pre-epidemic and epidemic Zika virus strains for virological factors potentially associated with the rapidly expanding epidemic. *Emerg Microbes Infect* 2016; 5: e22.
42. European Centre for Disease Control. Dostupno na URL adresi: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/zika_virus_infection/Pages/index.aspx, Datum pristupa informaciji: 13. studeni 2017.
43. Tappe D, Rissland J, Gabriel M i sur. First case of laboratory-confirmed Zika virus infection imported into Europe, November 2013. *Euro Surveill* 2014; 19(4) pii: 20685.
44. Tappe D, Nachtigall S, Kapaun A, Schnitzler P, Günther S, Schmidt-Chanasit J. Acute Zika virus infection after travel to Malaysian Borneo, September 2014. *Emerg Infect Dis* 2015; 21(5): 911-3.
45. Zammarchi L, Stella G, Mantella A i sur. Zika virus infections imported to Italy: clinical, immunological and virological findings, and public health implications. *J Clin Virol* 2015; 63: 32-5.
46. Gyurech D, Schilling J, Schmidt-Chanasit J, Cassinotti P, Kaeppeli F, Dobec M. False positive dengue NS1 antigen test in a traveller with an acute Zika virus infection imported into Switzerland. *Swiss Med Wkly* 2016; 146: w14296.
47. Vilibić-Čavlek T, Betica-Radic Lj, Venturi G i sur. First detection of Zika virus infection in a Croatian traveler returning from Brazil, 2016. *J Infect Dev Ctries* 2017; 11(8): 662-7.
48. Ledermann JP, Guillaumont L, Yug L i sur. *Aedes hensilli* as a potential vector of chikungunya and Zika viruses. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8(10): e3188.
49. Loos S, Mallet HP, Leparç Goffart I, Gauthier V, Cardoso T, Herida M. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med Mal Infect* 2014; 44(7): 302-7.
50. Li MI, Wong PS, Ng LC, Tan CH. Oral susceptibility of Singapore *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) to Zika virus. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6(8): e1792.
51. Chouin-Carneiro T, Vega-Rua A, Vazeille M i sur. Differential susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika virus. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10(3): e0004543.
52. European Centre for Disease Control. Mosquito maps. Dostupno na URL adresi: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps.aspx. Datum pristupa informaciji: 13. studeni 2017.
53. Klobučar A, Merdic E, Benic N, Baklaic Z, Krcmar S. First record of *Aedes albopictus* in Croatia. *J Am Mosq Control Assoc* 2006; 22(1): 147-8.
54. Benic N, Merdic E, Zitko T, Landeka N, Krajcar D, Klobučar A. Istraživanje rasprostranjenosti komaraca *Aedes albopictus* na hrvatskoj obali. U: Korunic J, ur. Zbornik radova 20. seminara o djelatnosti dezinfekcije, dezinskcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda, Zagreb: Korunic d.o.o., 2008, 141-8.
55. Merdić E, Žitko T, Zahirović Ž, Vručina I. Brodovi kao sredstvo širenja komarca vrste *Aedes albopictus* iz Italije na hrvatske otoke. U: Korunic J, ur. Zbornik radova 21. seminara o djelatnosti dezinfekcije, dezinskcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda, Zagreb: Korunic d.o.o., 2009, 243-50.
56. Zitko T, Merdic E. Seasonal and spatial oviposition activity of *Aedes albopictus* (Diptera: *Culicidae*) in Adriatic Croatia. *J Med Entomol* 2014; 51(4): 760-8.
57. Klobučar A, Benic N, Krajcar D i sur.. An overview of mosquitoes and emerging arboviral infections in the Zagreb area, Croatia. *J Infect Dev Ctries* 2016; 10(12): 1286-93.
58. Hamel R, Dejarnac O, Wichit S i sur. Biology of Zika virus infection in human skin cells. *J Virol* 2015; 89(17): 8880-96.

59. Castanha PM, Nascimento EJ, Cynthia B. Dengue virus (DENV)-specific antibodies enhance Brazilian Zika virus (ZIKV) infection. *J Infect Dis* 2016; pii: jiw638.
60. Paul LM, Carlin ER, Jenkins MM i sur. Dengue virus antibodies enhance Zika virus infection. *Clin Transl Immunology* 2016; 5(12): e117.
61. Bell TM, Field EJ, Narang HK. Zika virus infection of the central nervous system of mice. *Arch Gesamte Virusforsch* 1971; 35(2): 183-93.
62. Dowall SD, Graham VA, Rayner E i sur. A susceptible mouse model for Zika virus infection. *bioRxiv* 2016; doi:<http://dx.doi.org/10.1101/042358>
63. Musso D, Gubler DJ. Zika Virus. *Clin Microbiol Rev* 2016; 29(3): 487-524.
64. Farahnik B, Beroukhim K, Blattner CM, Young J. Cutaneous manifestations of the Zika virus. *J Am Acad Dermatol* 2016; pii: S0190-9622(16)01502-4.
65. Calvet GA, Filippis AM, Mendonça MC i sur. First detection of autochthonous Zika virus transmission in a HIV-infected patient in Rio de Janeiro, Brazil. *J Clin Virol* 2016; 74: 1-3.
66. Arzuza-Ortega L, Polo A, Pérez-Tatis G i sur. Fatal sickle cell disease and Zika virus infection in girl from Colombia. *Emerg Infect Dis* 2016; 22(5): 925-7.
67. Cardeaux G, Maquart M, Bedet A i sur. Zika virus associated with meningoencephalitis. *N Engl J Med* 2016; doi: 10.1056/NEJMc1602964.
68. Mécharles S, Herrmann C, Poullain P i sur. Acute myelitis due to Zika virus infection. *Lancet* 2016; pii: S0140-6736(16)00644-9.
69. Karimi O, Goorhuis A, Schinkel J i sur. Thrombocytopenia and subcutaneous bleedings in a patient with Zika virus infection. *Lancet* 2016; 387(10022): 939-40.
70. Cardona-Cardona AF, Rodríguez Morales AJ. Severe abdominal pain in a patient with Zika infection: A case in Risaralda, Colombia. *J Infect Public Health* 2016; pii: S1876-0341(16)30006-5.
71. Marrs C, Olson G, Saade G i sur. Zika virus and pregnancy: A review of the literature and clinical considerations. *Am J Perinatol* 2016; doi: dx.doi.org/10.1055/s-0036-1580089.
72. Costa F, Sarno M, Khouri R i sur. Emergence of congenital Zika syndrome: Viewpoint from the front lines. *Ann Intern Med* 2016; doi: 10.7326/M16-0332.
73. Ladhani SN, O'Connor C, Kirkbride H, Brooks T, Morgan D. Outbreak of Zika virus disease in the Americas and the association with microcephaly, congenital malformations and Guillain-Barré syndrome. *Arch Dis Child* 2016; pii: [archdischild-2016-310590](http://dx.doi.org/10.1136/archdischild-2016-310590).
74. Johansson MA, Mier-y-Teran-Romero L, Reefhuis J, Gilboa SM, Hills SL. Zika and the risk of microcephaly. *N Engl J Med* 2016; 375(1): 1-4.
75. Driggers RW, Ho CY, Korhonen EM i sur. Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. *N Engl J Med* 2016; doi: 10.1056/NEJMoa1601824.
76. Hazin AN, Poretti A, Cruz DD i sur. Computed tomographic findings in microcephaly associated with Zika virus. *N Engl J Med* 2016; doi: 10.1056/NEJMc1603617.
77. Ventura CV, Maia M, Ventura BV i sur. Ophthalmological findings in infants with microcephaly and presumable intra-uterus Zika virus infection. *Arq Bras Oftalmol* 2016; 79(1): 1-3.
78. Sarno M, Sacramento GA, Khouri R i sur. Zika virus infection and stillbirths: A case of hydrops fetalis, hydranencephaly and fetal demise. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10(2): e0004517.
79. Mlakar J, Korva M, Tul N i sur. Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med* 2016; 374(10): 951-8.
80. Rubin EJ, Greene MF, Baden LR. Zika virus and microcephaly. *N Engl J Med* 2016; 374(10): 984-5.
81. Tang H, Hammack C, Ogden SC i sur. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. *Cell Stem Cell* 2016; pii: S1934-5909(16)00106-5.
82. Mor G. Placental inflammatory response to Zika virus may affect fetal brain development. *Am J Reprod Immunol* 2016; 75(4): 421-2.
83. Watrin L, Ghawché F, Larre P, Neau JP, Mathis S, Fournier E. Guillain-Barré syndrome (42 cases) occurring during a Zika virus outbreak in French Polynesia. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(14): e3257.
84. Lazear HM, Diamond MS. Zika virus: New clinical syndromes and its emergence in the Western hemisphere. *J Virol* 2016; pii: JVI.00252-16.
85. Carod-Artal FJ, Wichmann O, Farrar J, Gascón J. Neurological complications of dengue virus infection. *Lancet Neurol* 2013; 12(9): 906-19.
86. Niedrig M, Nitsche A, Donoso-Mantke O. Arthropode-borne viruses. U: Jerome KR, ur. Lennette's laboratory diagnosis of viral infections. 4th ed. New York: Informa Healthcare, 2010, 450-7.
87. Musso D, Roche C, Nhan TX, Robin E, Teissier A, Cao-Lormeau VM. Detection of Zika virus in saliva. *J Clin Virol* 2015; 68: 53-5.
88. Gourinat AC, O'Connor O, Calvez E, Goarant C, Dupont-Rouzeyrol M. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis* 2015; 21(1): 84-6.
89. Moreira J, Peixoto TM, Machado de Siqueira A, Lamas CC. Sexually acquired Zika virus: a systematic review. *Clin Microbiol Infect* 2017; pii: S1198-743X(16)30659-0.
90. Barr KV, Anderson BD, Long MT. Working with Zika and Usutu viruses in vitro. *bioRxiv* 2016; doi: <http://dx.doi.org/10.1101/040139>.
91. Lanciotti RS. Molecular amplification assays for the detection of flaviviruses. *Adv Virus Res* 2003; 61: 67-99.
92. Gaunt MW, Gould EA. Rapid subgroup identification of the flaviviruses using degenerate primer E-gene RT-PCR and site specific restriction enzyme analysis. *J Virol Methods* 2005; 128: 113-27.

93. Chow VT, Seah CL, Chan YC. Use of NS3 consensus primers for the polymerase chain reaction amplification and sequencing of dengue viruses and other flaviviruses. *Arch Virol* 1993; 133: 157-70.
94. Sonnleitner ST, Simeoni J, Baumgartner R i sur. The spreading of flaviviruses over the continental divide: a challenge for serologic diagnostics. *J Med Microb Diagn* 2013; S3: 002.
95. Mögling R, Zeller H, Revez J, Koopmans M; ZIKV reference laboratory group, Reusken C. Status, quality and specific needs of Zika virus (ZIKV) diagnostic capacity and capability in National Reference Laboratories for arboviruses in 30 EU/EEA countries, May 2016. *Euro Surveill* 2017; 22(36). pii: 30609.
96. Atif M, Azeem M, Sarwar MR, Bashir A. Zika virus disease: a current review of the literature. *Infection* 2016; 44(6): 695-705.
97. Cardoso CW, Paploski I, Kikuti M, Rodrigues MS, Silva MM, Campos GS. Outbreak of exanthematous illness associated with Zika, chikungunya, and dengue viruses, Salvador, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2015; 21: 2274-6.
98. Waggoner JJ, Gresh L, Vargas MJ i sur. Viremia and clinical presentation in Nicaraguan patients infected with Zika virus, chikungunya virus, and dengue virus. *Clin Infect Dis* 2016; pii: ciw589.
99. Eyer L, Nencka R, Huvarová I i sur. Nucleoside inhibitors of Zika virus. *J Infect Dis* 2016; 214(5): 707-11.
100. Sacramento CQ, de Melo GR, de Freitas CS i sur. The clinically approved antiviral drug sofosbuvir inhibits Zika virus replication. *Sci Rep* 2017; 7:40920.
101. Bullard-Feibelman KM, Govero 2, Zhu Z i sur. The FDA-approved drug sofosbuvir inhibits Zika virus infection. *Antiviral Res* 2017; 137: 134-40.
102. Rausch K, Hackett BA, Weinbren NL i sur. Screening bioactives reveals nanchangmycin as a broad spectrum antiviral active against Zika virus. *Cell Rep* 2017; 18(3): 804-15.
103. Jelicic P, Janev Holcer N, Capak K, Poljak V. Zika virus -nova zdravstvena prijetnja. U: Korunic J, ur. Zbornik radova 29. seminara o djelatnosti dezinfekcije, dezinfekcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda, Zagreb: Korunic d.o.o., 2016, str. 3-36.
104. Gjenero-Margan I, Aleraj B, Krajcar D i sur. Autochthonous dengue fever in Croatia, August-September 2010. *Euro Surveill* 2011; 16(9). pii: 19805.
105. Kurolt IC, Betica-Radić L, Daković-Rode O i sur. Molecular characterization of dengue virus 1 from autochthonous dengue fever cases in Croatia. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19(3): E163-5.
106. Vilibic-Cavlek T, Kaic B, Barbic L i sur. First evidence of simultaneous occurrence of West Nile virus and Usutu virus neuroinvasive disease in humans in Croatia during the 2013 outbreak. *Infection* 2014; 42(4): 689-95.
107. Santini M, Vilibic-Cavlek T, Barsic B i sur. First cases of human Usutu virus neuroinvasive infection in Croatia, August-September 2013: clinical and laboratory features. *J Neurovirology* 2015; 21(1): 92-7.
108. Pem-Novosel I, Vilibic-Cavlek T, Gjenero-Margan I i sur. First outbreak of West Nile virus neuroinvasive disease in humans, Croatia, 2012. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2014; 14(1): 82-4.
109. Kurolt IC, Krajinović V, Topić A, Kuzman I, Baršić B, Markotić A. First molecular analysis of West Nile virus during the 2013 outbreak in Croatia. *Virus Res* 2014; 189: 63-6.
110. Barbić L, Listeš E, Katić S i sur. Spreading of West Nile virus infection in Croatia. *Vet Microbiol* 2012; 159(3-4): 504-8.

SUMMARY

ZIKA VIRUS – A NEWLY EMERGING ARBOVIRUS OR GLOBAL PUBLIC HEALTH THREAT

T. VILIBIĆ-ČAVLEK^{1,2}, I. TABAIN¹, A. KLOBUČAR³, G. PETROVIĆ¹, V. STEVANOVIĆ⁴, V. SAVIĆ⁵,
P. JELIČIĆ¹, A. BABIĆ-ERCEG¹, N. PANDAK⁶ and LJ. BARBIĆ⁴

¹Croatian National Institute of Public Health, ²University of Zagreb, School of Medicine, ³Dr Andrija Štampar Teaching Institute of Public Health, ⁴University of Zagreb, Veterinary Faculty, ⁵Croatian Veterinary Institute, Zagreb and ⁶Dr Josip Benčević General Hospital, Slavonski Brod, Croatia

Zika virus (ZIKV) was isolated in 1947 from a febrile *rhesus* monkey in the Zika forest, Uganda, and subsequently (1948) from *Aedes africanus* mosquitoes in the same region. First human cases were reported in 1952 in Uganda and Tanzania. Until 2007, ZIKV was maintained in enzootic cycle within Africa with only sporadic human cases reported. After the outbreak on the Yap Island (Federated States of Micronesia) in 2007, several outbreaks were reported on the Pacific Islands (French Polynesia, New Caledonia, Cook Islands, Easter Island). In 2015, ZIKV was introduced in Brazil with further spreading across Central and South America. Comparing the pre-epidemic Asian and African lineage strains with the epidemic ZIKV strains, several amino acid substitutions were only present in the epidemic strains which could be associated with changes in virulence and the rapid spread of the virus. In a sylvatic cycle, ZIKV is transmitted between monkeys and different mosquito species of the genus *Aedes*. In an urban cycle, the virus is transmitted between humans through the bite of infected *Aedes aegypti* and less efficient, *Aedes albopictus* mosquitoes. Some other modes of inter-human transmission have been demonstrated, including sexual transmission, blood transfusion/organ transplantation, transplacental and perinatal transmission. Although ZIKV RNA has been detected in breastmilk, transmission through breastfeeding has not been reported. The majority of infections (~80%) are asymptomatic. The main symptoms associated with ZIKV infection include fever, rash, myalgia, arthralgia and conjunctivitis. However, meningitis, encephalitis and myelitis have also been reported. Guillain-Barre syndrome is the most commonly reported neurological complication. ZIKV infection during pregnancy can result in spontaneous abortion or congenital ZIKV syndrome. The congenital abnormalities associated with maternal ZIKV infection include microcephaly, intracerebral calcifications, ventriculomegaly and chorioretinal atrophy. Diagnosis of ZIKV includes direct (viral isolation, RT-PCR) and indirect (serology) methods. ZIKV RNA can be detected in blood, urine, saliva, semen and amniotic fluid. Since cross-reactive antibodies with other flaviviruses are commonly observed, especially with dengue virus, initially reactive results should be confirmed using neutralization tests. Due to similar clinical symptoms and geographical distribution, dengue and chikungunya should be included in the differential diagnosis of ZIKV infection. Many importations of ZIKV infections have been reported in European countries since 2013. In Croatia, 106 travelers returning from endemic areas were tested so far. Clinically manifest ZIKV infection was serologically confirmed in three patients.

Key words: Zika virus, epidemiology, clinical picture, diagnosis, prevention