

Ospice – javnozdravstveni izazov

Measles – the public health challenge

Sunčanica Ljubin-Sternak^{1*}, Tatjana Vilibić-Čavlek², Mirjana-Lana Kosanović-Ličina³,
Jelena Ivančić-Jelečki⁴, Bernard Kaić⁵

¹ Odjel za molekularnu mikrobiologiju,
Nastavni zavod za javno zdravstvo
„Dr. Andrija Štampar“ i Medicinski fakultet
Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

² Odjel za virologiju, Hrvatski zavod za javno
zdravstvo i Medicinski fakultet Sveučilišta u
Zagrebu, Zagreb

³ Odjel za epidemiologiju zaraznih bolesti,
Nastavni zavod za javno zdravstvo
„Dr. Andrija Štampar“, Zagreb

⁴ Centar za istraživanje i prijenos znanja
u biotehnologiji Sveučilišta u Zagrebu i
Znanstveni centar izvrsnosti za virusnu
imunologiju i cjepiva, Zagreb

⁵ Služba za epidemiologiju zaraznih bolesti,
Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb

Sažetak. Ospice su virusna bolest čije su glavne značajke vrlo visoka kontagioznost, pojava karakterističnog osipa, prolazna supresija imunološkog sustava i relativno česte komplikacije vezane uz dišni i središnji živčani sustav. Pronalaskom učinkovitog cjepiva i njegovom uporabom incidencija ove bolesti u svijetu značajno se smanjila, a u Sjedinjenim Američkim Državama 2000. godine proglašena je eliminacija ospica. U Europi se u posljednjih 6 godina incidencija smanjila za 90 %, ali se povremene epidemije još uvijek detektiraju. U nerazvijenom dijelu svijeta ospice su još uvijek jedan od vodećih uzročnika smrti u djece, a u razvijenom dijelu svijeta ospice se javljaju u necijepljenih osoba mlađe i srednje životne dobi i predstavljaju javnozdravstveni izazov na globalnoj razini. U Hrvatskoj je obavezno cijepljenje uvedeno 1969. godine. Posljednjih 20-ak godina godišnje se detektira desetak slučajeva s povremenim manjim epidemijama uzrokovanim importiranim virusima. Veća epidemija s ukupno 220 prijavljenih slučajeva zabilježena je 2014./2015. godine. Detekcija kliničkih slučajeva, epidemiološki nadzor i laboratorijska potvrda ospica, koja uključuje genotipizaciju virusa, ključni su postupci pri otkrivanju izvora infekcije i praćenju puta prijenosa. Eradikacija ove bolesti može se postići jedino, konzistentnom primjenom dviju doza cjepiva.

Ključne riječi: cijepljenje; epidemije; genotipovi; Hrvatska; ospice

Abstract. Measles is a very contagious viral disease characterized with appearance of rash, transient immunosuppression and relatively frequent complications related to respiratory tract and central nervous system. Development of an effective vaccine and vaccination has significantly reduced measles incidence all over the world, with elimination of measles declared in the United States in 2000. In Europe, during last six years the incidence decreased by 90 %, but occasional outbreaks are still detected. In the developing world, measles is still one of the leading causes of death in children, while in the developed countries measles occur in unvaccinated young and middle-aged persons, representing a public health challenge globally. In Croatia, the mandatory vaccination was introduced in 1969. During last 20 years approximately ten cases have been detected annually, with occasional small outbreaks caused by imported viruses. Large outbreak with a total of 220 reported cases has been recorded in 2014/2015. Detection of clinical cases, epidemiological surveillance and laboratory confirmation of measles including genotyping, are crucial steps in tracing the source of infection and monitoring transmission. Eradication of measles can be achieved only by a consistent vaccination with two doses schedule regimen.

Key words: Croatia; disease outbreaks; genotype; measles, vaccination

***Dopisni autor:**

Izv. prof. Sunčanica Ljubin-Sternak,
prim. dr. med.
Odjel za molekularnu mikrobiologiju,
Služba za kliničku mikrobiologiju
Nastavni zavod za javno zdravstvo
„Dr. Andrija Štampar“
Mirogojska 16, 10 000 Zagreb
e-mail: sljsternak@stampar.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

POVIJESNI PREGLED

Abu Becr, perzijski liječnik poznatiji kao Rhazes od Bagdada prvi je u 9. stoljeću opisao sindrom sličan ospicama koji je smatrao modifikacijom boginja¹. Povremene epidemije bolesti koje su nalikovale ospicama opisivane su u Europi i na Dalekom istoku od 6. do 12. stoljeća, a smatra se da su se ospice proširile u Francusku preko Piri-neja za vrijeme invazije Saracena u 8. stoljeću. Iznenađujuće, novija istraživanja pokazuju da su ospice relativno nova bolest u povijesti ljudskog roda koja je najvjerojatnije nastala prilagodnom životinjskog virusa na ljude tijekom 11. i 12. stoljeća, u okruženju u kojem su ljudi živjeli u tije-snom kontaktu sa životinjama². Kako je virus ospica filogenetski najbliži virusu goveđe kuge, smatra se pretkom ljudskog virusa³, iako su visokosrodne sekvencije utvrđene i u nekih drugih paramiksovirusa goveda i šišmiša⁴.

U europskoj literaturi ospice nazivaju morbilli (lat. *morbilli* = mala bolest) kako bi ih razlikovali od kuge uzrokovane bakterijom *Yersinia pestis* koju su nazivali bolest (lat. *morbus* = bolest) i uključivale su nekoliko bolesti kojima je glavni simptom bio makulopapulozni osip. Sanvages je 1763. ospice nazvao rubeola (lat. *rubeolus* = crvenkast), što je dovelo do konfuzije u nomenkla-turi između ospica i rubeole koja traje do današnjeg dana¹.

Škotski liječnik Francis Home dokazao je 1757. godine da je bolest infektivnog podrijetla te da je uzročnik prisutan u krvi. Tijekom pokušaja imunizacije imunu osobu je zarazio krvlju pacijenta koji je bio u ranom stadiju bolesti^{1,5}.

Temelje epidemiologije ospica (visoka kontagioznost, 14-dnevni inkubacijski period, prijenos respiratornim putem i doživotan imunitet nakon preboljele bolesti) postavio je danski liječnik Peter Panum za vrijeme epidemije 1846. godine na Farskim otocima⁶.

Enders i Peebles 1954. godine izolirali su virus u staničnoj kulturi iz krvi dječaka Davida Edmonstona oboljelog tijekom epidemije u Bostonu⁷. Uzgoj virusa u kokošjem embriju i u staničnoj kulturi omogućio je razvoj cjepiva. Enders je sa suradnicima razvio Edmonston-B soj koji je osnova prvog licenciranog cjepiva 1963. godine u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD). Istodobno su ruski

znanstvenici razvili soj Lenjingrad 16⁸-parentalni soj iz kojeg se proizvodilo cjepivo za zemlje tadašnjeg istočnog bloka. Hrvatski znanstvenici razvili su vlastiti cjepni soj Edmonston-Zagreb koji se koristio u proizvodnji cjepiva u Imunološkom zavodu⁹.

GRAĐA I OSOBINE VIRUSA

Virus ospica je pleomorfni, ovijeni virus veličine 100 do 300 nm. Genom čini nesegmentirana jednolančana ribonukleinska kiselina (RNK) negativ-

Na globalnoj razini ospice su još uvijek jedan od vodećih uzroka smrtnosti u djece. U zemljama s niskom prevalencijom od ospica obolijevaju necijepljene osobe mlađe i srednje životne dobi.

nog usmjerenja. Sastoji se od 6 strukturalnih gena organiziranih u slijedu 3'-N,P,M,F,H,L-5' koji kodiraju 8 proteina (3 produkta kodirana su P cistronom)¹⁰. RNK s nukleoproteinom (N) čini nukleokapsidu spiralne simetrije uz koju su vezanifosfoprotein (P) i polimeraza (L) koja ima aktivnost transkriptaze. Protein matriksa (M) povezuje nukleokapsidu s ovojnicom na čijoj površini strše glikoproteinski izdanci hemaglutinin (H) i fuzijski protein (F). H i F proteini su transmembranski glikoproteini odgovorni za fuziju virusa sa stanicom domaćina. F protein se sintetizira kao inaktivni prekursor (F₀), glikozilira i trimerizira u endoplazmatskom retikulumu, a u Golgijevom tijelu proteolitički cijepa na F₁ i F₂ podjedinice koje su povezane disulfidnom vezom te u takvoj formi dospijeva na površinu stanice kao zreli protein koji je sposoban posredovati fuziju virusa sa staničnom membranom¹¹. H glikoprotein veže se na receptore stanice domaćina, ima svojstvo hemaglutinacije i protiv njega se stvaraju neutralizirajuća protutijela. Poznata su tri stanična receptora s kojima H glikoprotein virus ospica ulazi u reakciju: a) CD46 membranski protein koji ima regulatornu ulogu u sustavu komplementa i služi kao receptor većini vakcinalnih sojeva^{12,13}; b) CD150 ili hSLAM (engl. *human signaling lymphocyteactivation marker*) koji je izražen u aktiviranim stanicama imunog sustava: B i T limfocitima, dendritičkim stanicama, makrofagima, trombocitima i matičnim krvo-

tvornim stanicama, a veže divlje i vakcinalne sojeve virusa^{14,15}; i c) nektin -4 ili PVRL-4 (engl. *poliovirus receptor-like 4*) prisutan na epitelnim stanicama koji je receptor za divlje tipove¹⁷.

Iako virus ospice ima samo jedan serotip, antigene i genetičke razlike detektirane su između divljih i vakcinalnih sojeva. Najveće razlike zabilježene su u genima koji kodiraju N i H proteine. Na temelju sekvencije posljednja 450 nukleotida N gena ustanovljena je standardna nomenklatura prema kojoj je genotip osnovna taksonomska jedinica kojom se služimo u molekularnoj epidemiologiji¹⁰. Do danas su opisana 24 genotipa koji su razvrstani u 8 genetskih podskupina ili klada (grč. κλαδος – *klados* = grana) imenovanih velikim slovima – A, B, C, D, E, F, G i H. Najveći broj genotipova, njih jedanaest, nalazi se u podskupini D (D1-D11), zatim slijede podskupine B i G s po tri genotipa (B1-B3; G1-G3), podskupine C i H s po 2 genotipa (C1, C2, H1, H2), dok se u podskupinama A, E i F nalazi po jedan genotip^{18,19}.

EPIDEMIOLOGIJA

Ospice se prenose aerosolom, velikim kapljicama sekreta i kontaminiranim predmetima. To je vrlo kontagiozna bolest – vjerojatnost da će osjetljiva osoba koja je bila u bliskom kontaktu s oboljelom osobom biti inficirana je 99 %. Oboljela osoba zarazna je 5 dana prije i 4 dana poslije izbijanja osipa¹.

Čovjek je jedini izvor zaraze, nema životinjskog rezervoara, a ne postoji niti epidemiološki značajna latentna ili perzistentna infekcija. Održavanje virusa u populaciji zahtijeva kontinuirani priljev osjetljivih osoba, što otežava činjenica da se nakon preboljenja bolesti stvara doživotan imunitet. Najčešće su starije osobe u populaciji imune na infekciju, pa su endemske ospice primarno bolest dječje dobi. U prevakcinalnoj eri, više od 90 % osoba inficiralo se virusom ospice prije 10. godine života. Ako je broj osoba koji živi na nekom području premalen i nema novih osjetljivih pojedinaca, virus se neće održati u populaciji. Kritičan broj populacije u kojoj se virus može endemski održavati iznosi 250.000 do 500.000 stanovnika²⁰.

U necijepljene populacije ospice se pojavljuju epidemijski s interepidemijskim razdobljima od 2

do 5 godina. Ovi periodi se smanjuju kako gustoća populacije i broj osjetljivih osoba raste. Epidemije najčešće počinju u velikim gradovima i šire se na seoska područja. U zemljama s umjerenom klimom javljaju se češće zimi i u rano proljeće. U cijepljenoj populaciji intervali između epidemija se produžuju, a dovoljno visok postotak procijepljenih osoba može prekinuti endemski prijenos virusa¹. Dobna raspodjela oboljelih određena je imunitetom pojedinice grupe u populaciji bez obzira je li imunitet stečen cijepljenjem ili nakon preboljele bolesti, pa se u cijepljenim populacijama ospice sve češće javljaju u neimunih osoba odrasle dobi. Ipak i u populaciji s visokim stupnjem procijepljenosti mogu se povremeno pojaviti lokalizirane epidemije koje su uzrokovane sojevima uvezenim s endemskih područja. Rizik od epidemija uzrokovanih uvezenim sojevima povećan je u zajednicama koje odbijaju cijepljenje zbog religijskih ili filozofskih uvjerenja²¹.

Metode molekularne epidemiologije i identifikacija određenog genotipa izuzetno je važna za otkrivanje i praćenje puteva prijenosa te omogućuje razlikovanje endemski prisutnih sojeva na nekom području od onih koji su uvezeni s nekog drugog područja. U tablici 1 preuređenoj prema Roti i suradnicima prikazana je globalna distribucija endemskih i uvezenih genotipova za pojedina područja na temelju trogodišnjeg praćenja (2007. – 2009.)¹⁸.

Tri su ključna kriterija za moguću eradikaciju neke bolesti uključivo i ospice: a) da je čovjek jedini rezervoar bolesti, b) da postoji pouzdan i točan test za dijagnostiku infekcije i c) da je moguća učinkovita intervencija (cjepivo)²². Da bi se postigla eliminacija ospice na nekom području potrebno je postići i održavati visok stupanj procijepljenosti uz pomoć protokola koji propisuje dvije doze cjepiva, budući da nakon prve doze neka djeca ne razviju protektivna protutijela. Nužnost protokola s dvije doze cjepiva pokazala je i nedavno opisana epidemija zdravstvenih radnika u Kini koji su bili cijepljeni samo s jednom dozom cjepiva²³.

Visok stupanj procijepljenosti u SAD-u rezultirao je prekidom endemskog prijenosa još 1994. godine²⁴, a eliminacija ospice u SAD-u proglašena je 2000. godine^{25,26}. Na temelju ovog pozitivnog iskustva 2010. godine Savjetodavno tijelo za ospice Svjetske zdravstvene organizacije (engl. WHO

Tablica 1. Raspodjela genotipova virusa ospice detektiranih od 2007. do 2009. godine prema regijama i zemljama (preuređeno prema ref. 18)

Regija	Zemlja	Endemski genotipovi	Uvezeni genotipovi
Afrička	Dr Kongo	B3, B2	-
	Zambija	B2, B3	-
	Etiopija	B3	-
	Nigerija	B3	-
	Obala Bjelokosti	B3	-
	Južna Afrika	B3	D8
Američka	Kanada	-	D4, D5, D8
	Sjedinjene Američke Države	-	B3, D4, D5, D8, H1
	Argentina	-	D8
	Jamajka	-	D4
	Venezuela	-	B3
	Čile	-	D4
	Peru	-	D4
Istočna mediteranska	Afganistan i Pakistan	D4	-
	Egipat	D4	-
	Iran	D4	H1
	Sirija	D4	-
	Maroko	D8	D4
	Oman	D8	B3, D4, D5
	Kuvajt	B3	D5, D8
	Libija	B3	-
	Sudan	B3, D4	-
Europska	Austrija	-	D4, D5, D8, H1, B3
	Belgija	-	D4, D5, D9, D8
	Bosna i Hercegovina	-	D4
	Bugarska	D4	D4, H1
	Hrvatska	-	D4
	Francuska	-	B3, D4, D5, D8, D9, H1
	Njemačka	-	B3, D4, D5, D8, D9, H1
	Kazahstan	D6	-
	Nizozemska	-	B3, D4, D5, D8, D9
	Norveška	-	D5
	Rusija	D6	B3, D4, D5, D8, D9, H1
	Španjolska	-	D4, D5, D9
	Srbija	-	D4, D9
	Švicarska	D5	B3, D4
	Velika Britanija i Sjeverna Irska	D4	B3, D4, D5, D8, D9
	Turska	-	D4
Jugoistočna azijska	Indija	D4, D8	-
	Tajland	D5, D9, G2	-
	Indonezija	G2, G3, D9	-
	Sjeverna Koreja	H1	-
Zapadna pacifička	Australija	-	D4, D8, H1, D9, D5
	Kina	H1	D4, D9, d11
	Vijetnam	H1	-
	Novi Zeland	-	B3, H1, D4
	Malezija	D9, G3	-
	Japan	D5, H1	D4, D8, D9

Global advisory measles group) zaključuje da je eradikacija ospica moguća na globalnoj razini te se započinje s pojačanim aktivnostima u svrhu postizanja tog cilja²⁷. Cijepljenje na globalnoj razini rezultira padom smrtnosti uzrokovane ospicama za 79 % između 2000. i 2015. godine²⁸. Iako je i u europskoj regiji napredak očit (30.265 registriranih slučajeva ospica u Europi u 2010. godini vs. 2.605 slučajeva ospica u 2015. godini) ospice i dalje ostaju javnozdravstveni problem, osobito u nekim zemljama Europe. U razdoblju od studenog 2015. do listopada 2016. u Europi se bilježi 3.037 slučajeva; najveći broj zabilježen je u Rumunjskoj (1.011), Italiji (728), Velikoj Britaniji (569) i Njemačkoj (235)²⁹. Ospice u Europi nisu više bolest samo djece već i mlađe odrasle dobi (40 % slučajeva zabilježeno je u djece mlađe od 5 godina, a 29 % u osoba s 20 i više godina). Većina slučajeva ospica zabilježena je u necijepljenih osoba (81 %), a ostatak u osoba koje su cijepljene samo jednom dozom cjepiva (8 %) ili ne postoje podaci o cijepljenju (8 %). Kod oboljelih od ospica samo 3 % bilo je cijepljeno s dvije doze²⁹.

KLINIČKA SLIKA I KOMPLIKACIJE OSPICA

Inkubacija ospica traje 10 – 12 dana. Bolest započinje prodromalnim stadijem koji traje 3 – 4 dana i očituje se povišenom temperaturom te znakovima kataralne upale dišnih puteva i konjunktiva (hunjavica, suženje očiju, grlobolja, suhi kašalj). Drugog ili trećeg dana od početka bolesti na bukalnoj sluznici se pojavljuju tzv. Koplikove pjege, enantem lokaliziran nasuprot gornjim kutnjacima. Koplikove pjege su patognomonične za ospice, a mogu se naći u oko 60 – 70 % oboljelih. Četvrti ili peti dan, kada temperatura i kataralni simptomi dosegnu vrhunac, javlja se makulopapulozan osip koji često konfluira. Pojavljuje se karakterističnim redosljedom, najprije na čelu i iza uški, a zatim po licu, vratu, trupu i ekstremitetima. S izbijanjem osipa, temperatura i kataralni simptomi počinju jenjavati. Osip blijedi istim redosljedom kao što je izbijao, a na koži još tjedan dana zaostaju blijedosmeđe mrlje. Nekomplicirane ospice traju između 7 – 10 dana³⁰.

Mitigirane (modificirane) ospice javljaju se u pacijenata koji su u inkubaciji zaštićeni gama-glo-

bulinima te starije dojenčadi s još prisutnim majčinim protutijelima. Od ovog oblika mogu oboljeti i osobe koje su cijepljene, ali im se titar protutijela smanjio. Klinička slika bolesti je blaža i kraće traje³¹.

Ospice u imunodeficientnih osoba (npr. kod oboljelih od sindroma stečene imunodeficijencije, tijekom primanja immunosupresivne terapije) mogu se očitovati kao vrlo teška bolest, obično bez osipa uz nastanak pneumonije ili encefalitisa^{32,33}. U slučaju malnutricije i drugih kroničnih iscrpljujućih bolesti ospice mogu također imati neuobičajen i nepovoljan tijek³⁴.

Atipične ospice opisane su u osoba koje su cijepljene inaktiviranim cjepivom te nakon toga bile zaražene divljim sojem virusa ospica. Nakon nespecifične prodromalne faze pojavljuje se nekarakterističan osip, edemi ekstremiteta, hepatitis i intersticijska pneumonija. Bolest je težeg tijeka, a zabilježeni su i smrtni slučajevi. Danas se ovakvi oblici bolesti opisuju iznimno rijetko³⁵.

Hemoragične ospice očituju se teškim kliničkim tijekom s visokom temperaturom, pomućenjem svijesti te lividnim osipom. U najtežim se oblicima pojavljuju brojna krvarenja po koži i sluznicama (*purpura fulminans*) uz smrtni ishod³⁶.

Komplikacije ospica uključuju infekcije dišnog sustava i središnjeg živčanog sustava (SŽS). U kataralnoj fazi može nastati laringitis, traheitis i intersticijska pneumonija. U osipnoj su fazi česte sekundarne bakterijske infekcije pa može doći do upale srednjeg uha ili pneumonije uzrokovane bakterijama *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* i *Haemophilus influenzae*. Rijetko može nastati miokarditis. Neurološke se komplikacije očituju kao encefalitis koji može biti akutnog i kroničnog tijeka³⁷.

Akutni diseminirani encefalomijelitis javlja se u 1/1.000 oboljelih. Zapčinje 5 – 6 dana nakon pojave osipa naglim porastom temperature, poremećajem svijesti, epileptičkim napadajima i multifokalnim neurološkim ispadima. Smrtnost iznosi oko 20 %^{38,39}.

Encefalitis inkluzijskih tjelešaca pojavljuje se u imunokompromitiranih osoba 2 – 6 mjeseci nakon preboljelih ospica. Prognoza je vrlo loša s visokom smrtnošću (76 %), dok u preživjelih zaostaju trajne neurološke posljedice^{33,40}.

Subakutni sklerozirajući panencefalitis (SSPE) je kronična, progresivna, degenerativna bolest SŽS-a. Većinom se pojavljuje u dječaka (3 : 1), posebno u onih koji su preboljeli ospice u dobi do 2 godine. Točan patogenetski mehanizam SSPE-a nije poznat. Inkubacija iznosi 5 – 10 godina. Početak je postupan s propadanjem intelektualnih funkcija i promjenom ponašanja, a zatim se pojavljuju miokloni napadi, smetnje vida, pareze kranijalnih živaca i poremećaj svijesti koji dovode do kome i smrtnog ishoda^{41,42}.

DIJAGNOSTIKA OSPICA

Izravna dijagnostika

Uzorci za uspješnu izravnu dijagnostiku moraju se uzeti rano, u akutnoj fazi infekcije kada je virus prisutan u visokim koncentracijama (npr. u krvi 2 – 4 dana prije i poslije pojave osipa) i transportirati u uvjetima koji će očuvati infektivnost ovog labilnog virusa. Uzroci pogodni za izolaciju i detekciju antigena su sljedeći: krv (osobito mononukleari koji se iz heparinizirane krvi izdvajaju sedimentacijom u gradijentu gustoće), serum, obrisak konjunktive, obrisak, aspirati i ispirak grla i nazofarinksa, urin, te u posebnim okolnostima biopat mozga i kože^{10,43}. Uzorke se ne smije smrzavati, nego transportirati na 4 °C te dostaviti u laboratorij unutar 48 sati, obriske i biopate obavezno transportirati u transportnom mediju. Za dugotrajnu pohranu uzorke čuvati na -70 °C¹⁰.

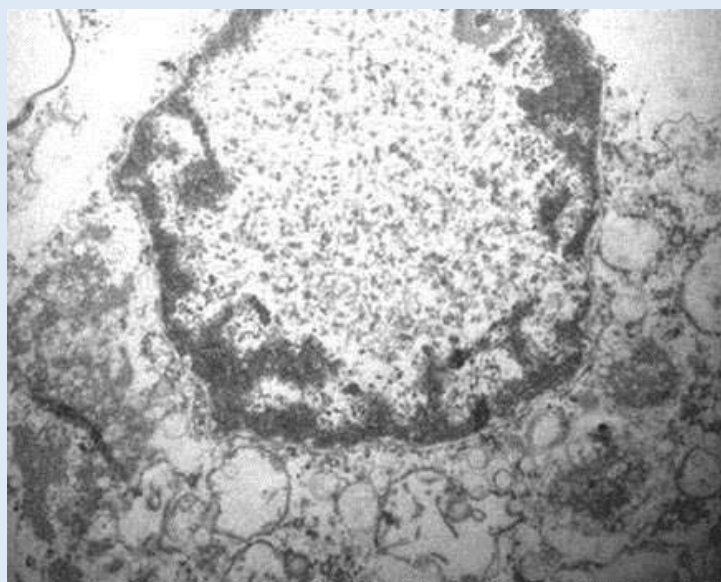
Mikroskopskim pregledom limfatičnog tkiva ili sekreta bojenih hematoksilin-eozinom pomoću svjetlosnog mikroskopa vide se multinuklearne divovske stanice kao i intracitoplazmatske i intranuklearne virusne inkluzije. Elektronska mikroskopija izvodi se u posebnim slučajevima kao što je biopat mozga kod SSPE-a gdje se mogu se uočiti virusne nukleokapside bez ovojnice (slika 1). Metoda izravne ili neizravne imunofluorescencije u kojoj koristimo monoklonska protutijela na nukleoprotein virusa ospica vrlo je specifična i koristi se za dokaz antigena virusa u kliničkom uzorku i za potvrdu umnažanja virusa u staničnoj kulturi⁴³.

Molekularne metode detekcije virusa uključuju klasičnu lančanu reakciju posredovanu polimerazom i reverznom transkriptazom (RT-PCR), te RT-

PCR u izravnom vremenu (engl. *real-time*) kojom se virus može kvantificirati. Uz serološke metode, kvantitativni *real-time* RT-PCR danas se smatra jednom od metoda za potvrdu infekcije kod sumnje na ospice⁴⁴. Detekcija virusa molekularnim metodama osobito je korisna u slučajevima kada nije moguća izolacija, kada je teško interpretirati serološke nalaze zbog nedavnog cijepljenja i kada je potrebna genotipizacija u svrhu razlučivanja cjepnog od divljeg soja virusa.

Izolacija virusa izvodila se tradicionalno u primarnim staničnim kulturama bubrega majmuna i Vero stanicama, a posljednjih desetak godina u limfoblastoidnim B stanicama transformiranim Epstein-Barr virusom (B95a) koja je 10.000 puta osjetljivija od prethodno korištenih staničnih linija, acitopatični učinak u obliku sincicija je lako uočljiv⁴³. Zbog potencijalne opasnosti za laboratorijske radnike ona je zamijenjena Vero/SLAM staničnom linijom koja na svojoj površini eksprimira CD150 molekulu⁴⁵. Iste je osjetljivosti kao i B95a, prednost joj je da nije trajno inficirana virusom, a nedostatak poseban uzgoj s dodatkom genocina, što komplicira i poskupljuje postupak izolacije. Izolacija virusa potvrđuje se monoklonskim protutijelima u testu neizravne imunofluorescencije⁴³.

Genotipizacija, koja se izvodi sekvenciranjem najmanje 450 posljednjih nukleotida N proteina viru-



Slika 1. Virus ospica dokazan u moždanom tkivu pacijenta sa SSPE-om (elektronska mikroskopija)

sa ospica i filogenetska analiza metode su kojima razlučujemo divlji od cjepnog soja, identificiramo mogući izvor epidemije i pratimo put prijenosa. Stoga su metode molekularne karakterizacije nezamjenjiv alat pri praćenju napredovanja eradikacije virusa⁴⁶.

Hrvatska je zemlja s visokim cjepnim obuhvatom. Uzrok povremenih epidemija je importacija virusa s endemskih područja.

Serologija

Detekcija IgM protutijela imunoenzimnim testom (ELISA, engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*) metoda je izbora za potvrdu klinički suspektnih ospica. Serum za serološke pretrage na IgM protutijela treba uzeti unutar 7 do 10 dana od početka osipa i obično je dovoljan jedan uzorak, no optimalno je uzeti parni uzorak seruma kako bi se mogla pratiti dinamika protutijela. Serum se može pohraniti na -20 °C.

Kao alternativa serumu, za detekciju protutijela mogu se uzeti slina i kapljica krvi osušene na filtarskom papiru^{43,47}. Tijekom transporta uzorka slinno potrebno je očuvati hladan lanac dok to nije potrebno za osušenu krv. Za razliku od uzorka osušene krvi koji može poslužiti i za molekularnu detekciju i karakterizaciju virusa (ne i za izolaciju!), uzorku slinno često se dodaju razni stabilizatori IgM protutijela koji inhibiraju enzime za amplifikaciju nukleinskih kiselina⁴⁸. Nadalje, vrlo mala invazivnost tijekom uzimanja kapljice krvi ubodom prsta umjesto vene punkcije čini ovu metodu posebno privlačnom⁴⁹.

Detekcija IgM ELISA testom jednostavna je i brza metoda, rezultati su dostupni unutar jednog dana, a otkrivaju akutnu infekciju i do 4 tjedna od pojave osipa. Velik je broj komercijalno dostupnih IgM ELISA testova, a izvode se neizravnom i metodom hvatanja IgM (engl. *capture*) protutijela. Iako se metoda hvatanja smatrala nešto osjetljivijom, usporedne studije nekoliko komercijalnih testova pokazale su podjednaku osjetljivosti i specifičnosti⁵⁰.

U fazi eliminacije ospica kada su slučajevi ospica sve rjeđi, cjepni obuhvat sve veći, a klinička dija-

gnoza sve teža, detekcija IgM protutijela postaje manje pouzdana, pa se dodatno uključuju i druge serološke metode kao što su detekcija i test avidnosti IgG protutijela te molekularne metode⁵¹.

Neutralizacijski test redukcije plakova (PRNT, engl. *plaque-reduction neutralization test*) detektira neutralizirajuća protutijela i specifičniji je i osjetljiviji od ELISA testova⁵². No, test je vrlo zahtjevan za izvedbu, potreban je parni serum, a rezultati su dostupni tek za 7 – 10 dana te se izvodi samo u referentnim laboratorijima. Opisan je i fluorescentni mikroneutralizacijski PRNT test za determinaciju imunog statusa koji se izvodi s vrlo malim količinama seruma pa je pogodan za obradu velikog broja uzoraka⁵³.

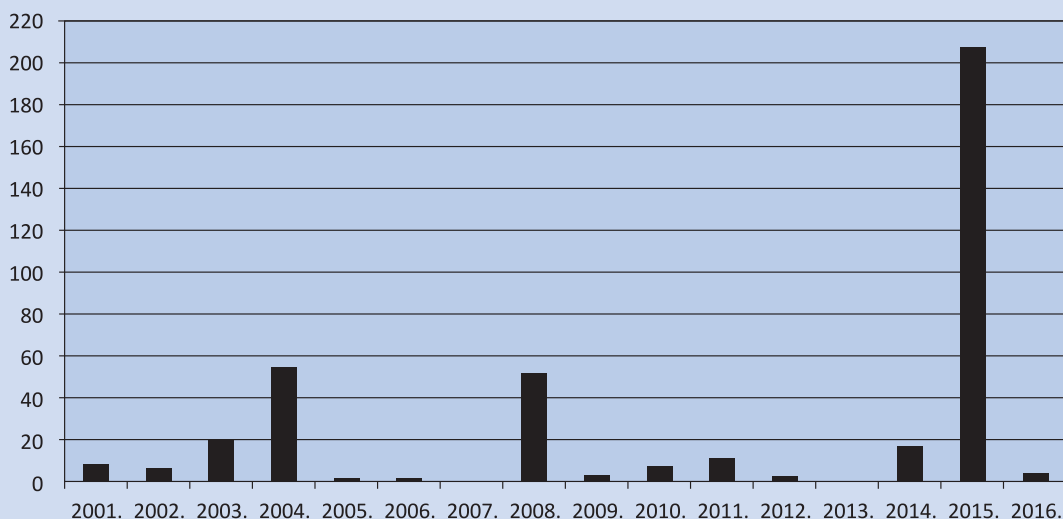
EMERGENCIJA OSPICA U HRVATSKOJ

Prije uvođenja obvezatne imunizacije 1969. godine, godišnje se prijavljivalo između 5.000 – 20.000 slučajeva ospica (podaci Referentnog centra za epidemiologiju Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske). Iako pokazuje tendenciju smanjenja u posljednjih pet godina, cjepni obuhvat u Hrvatskoj vrlo je visok (tablica 3). U posljednja se dva desetljeća bilježi 10 – 20 slučajeva ospica godišnje, uz tri epidemije vezane uz importirane slučajeve ospica (slika 2). Dvije manje epidemije zabilježene su 2003./2004. godine u Zagrebu i okolici te 2008. godine na području Zagreba i Slavenskog Broda⁵⁴⁻⁵⁶.

Krajem 2014. godine zabilježena je veća epidemija ospica (ukupno 220 prijavljenih slučajeva) koja je trajala do ljeta 2015. godine. Prvi je slučaj importiran iz Berlina početkom prosinca 2014. godine, a do ožujka 2015. godine dokazano je 17 grupiranja povezanih slučajeva (2 – 15 slučajeva po grupi). Obolijevali su većinom necijepljeni pripadnici romskih zajednica sa sporadičnim prijenosom bolesti na neromsko stanovništvo (necijepljene ili nepotpuno cijepljene osobe). Najveći je broj oboljelih bio s područja Zagreba i Zagrebačke županije, no slučajevi su zabilježeni u ukupno 11 županija.

U međuepidemijskim razdobljima zabilježeni su tek sporadični importirani slučajevi ospica bez daljnjeg širenja na kontakte.

Na području Hrvatske opisano je pet slučajeva SSPE (tablica 2)^{57,58}. Svi su pacijenti bili cijepljeni



Slika 2. Broj prijavljenih slučajeva ospica na području Hrvatske (2001. – 2016. godine)

Tablica 2. Slučajevi SSPE-a dokazani na području Hrvatske

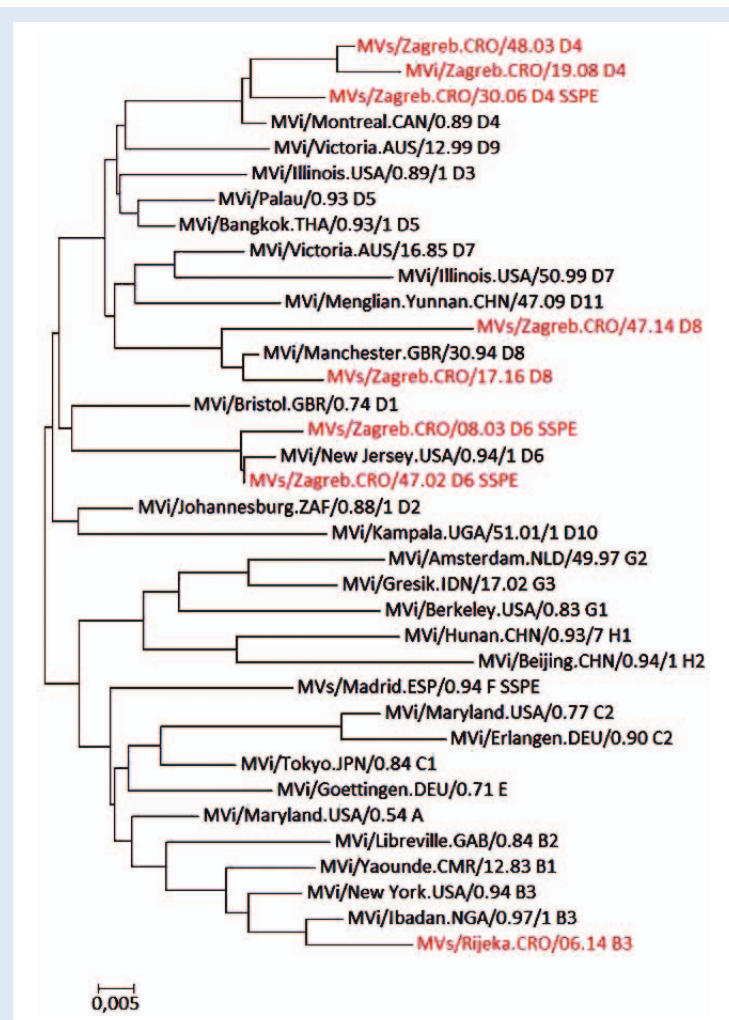
Spol	Godina rođenja	Cijepljenje MMR (dob)	Morbili (dob)	Početak SSPE-a	Dob u vrijeme dijagnoze	Trajanje SSPE-a
Ž	1984.	7 god.	18 mj.	1994.	10 god.	18 god.
Ž	1997.	13 mj.	6 mj.	2002.	4 god. 7 mj.	4 mj.
M	1994.	20 mj./6 god.	7. mj.	2002.	7 god. 6 mj.	8 mj.
M	1990.	12 mj./11. god.	-	2002.	11 god. 3 mj.	15 mj.
M	1997.	12 mj./-	-	2002.	4 god. 11 mj.	14 mj.

Tablica 3. Cjepni obuhvat u Hrvatskoj

Godina	Mo-Pa-Ru I doza (%)	Mo-Pa-Ru II doza (%)
2001.	93,6	97,5
2002.	94,7	98,4
2003.	94,5	98,2
2004.	95,7	98,2
2005.	95,5	97,8
2006.	95,4	98,2
2007.	96,1	98,1
2008.	95,5	97,9
2009.	95,0	98,0
2010.	96,0	97,8
2011.	95,8	97,9
2012.	94,8	97,0
2013.	93,9	97,1
2014.	93,7	96,8
2015.	92,9	95,9

protiv ospica. Dva pacijenta imala su epidemiološki podatak o morbiliformnom osipu (neprepoznate ospice) u dobi od 6 odnosno 7 mjeseci, dok su u jedne bolesnice ospice dijagnosticirane na temelju kliničke slike u dobi od 18 mjeseci. U dva je pacijenta početak SSPE-a zabilježen nakon preboljelih varicella. Tijek SSPE-a je u svih bio fatalan. Bolest je potvrđena nalazom visokog titra protutijela na virus ospica u serumu i likvoru, a u dva pacijenta i nalazom virusa u moždanom tkivu (slika 1).

Genetskom karakterizacijom divljih i SSPE sojeva ospica na području Hrvatske dokazani su genotipovi D4 (epidemije 2003. i 2008. godine), B3 (jedan importirani slučaj u 2014. godini) te D8 (epidemija 2014./2015. godine, jedan slučaj u 2016. godini). SSPE su uzrokovali sojevi genotipa D4 i B6 (slika 3)^{59,60,61}.



Slika 3. Genetska karakterizacija sojeva virusa ospica na području Hrvatske (2001. – 2016. godine) (preuređeno prema ref. 61)

ZAKLJUČAK

Eradikacija ospica globalni je javnozdravstveni izazov kako u razvijenom, tako i u nerazvijenom dijelu svijeta. Da bi se eliminacija postigla potrebno je uspostaviti i održati visok cjepni obuhvat s dvije doze cjepiva. Kao glavni problem u nerazvijenim dijelovima svijeta navode se logistička podrška i kontinuirana dostupnost cjepiva po prihvatljivoj cijeni kao i adekvatni uvjeti pohrane cjepiva⁴. Nedostatak obrazovanja o ozbiljnosti bolesti, neutemeljeno povezivanje raznih stanja i bolesti s cijepljenjem kao i nepovjerenje u zdravstveni sustav i institucije imaju velik utjecaj na cijepljenje u razvijenom dijelu svijeta⁴. Iako se incidencija ospica u Europi smanjila za 90 % u posljednjih šest godina, još uvijek se bilježi nekoliko tisuća slučajeva godišnje s najvećom incidencijom

u 2016. godini u Rumunjskoj, Italiji, Velikoj Britaniji, Belgiji, Poljskoj, Litvi, Irskoj i Njemačkoj. Očekivano, većina infekcija javlja se u necijepljenih i nepotpuno cijepljenih osoba. Eradikacija virusa goveđe kuge – najbližeg srodnika virusu ospica – koja je proglašena 2011. godine⁶² govori u prilog mišljenju da konzistentna i uporna javnozdravstvena politika može rezultirati eradikacijom uzročnika ospica.

Izjava o sukobu interesa: autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

1. Griffin DE. Measles Virus. In: Knipe DM, Howley PM (eds). *Fields Virology*. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2013;1042–69.
2. Furuse Y, Suzuki A, Oshitani H. Origin of measles virus: divergence from rinderpest virus between the 11th and 12th centuries. *Virology* 2010;7:52.
3. Barrett T. Morbillivirus infections, with special emphasis on morbilliviruses of carnivores. *Vet Microbiol* 1999;69: 3–13.
4. Ludlow M, McQuaid S, Milner D, de Swart RL, Duprex WP. Pathological consequences of systemic measles virus infection. *J Pathol* 2015;235:253–65.
5. Measles (Rubeola) [Internet]. GA, USA: Centers for Disease Control and Prevention, 2014[cited 2016 Dec 28]. Available from: <https://www.cdc.gov/measles/about/history.html>.
6. Panum P. Observations made during the epidemic of measles on the Faeroe Island in the year 1846. *Med Classics* 1938;3:829–86.
7. Enders JF, Peebles TC. Propagation in tissue cultures of cytopathic agents from patients with measles. *Prod Soc Exp Biol Med* 1954;86:277–86.
8. [No authors listed]. Live attenuated measles vaccine. *EPI News* 1980;2:6.
9. Bennett JV, Cutts FT, Katz SL. Edmonston-Zagreb measles vaccine: A good vaccine with an image problem. *Pediatrics* 1999;104:1123–4.
10. Bellini WJ, Icenogle JP. Measles and Rubella viruses. In: Jorgensen JH, PHaller MA, Carroll KC, Funke G, Lamdry ML, Richter SS, Warnock DW (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington: ASM Press, 2015;1519–35.
11. Alkhatib G, Richardson C, Shen SH. Intracellular processing, glycosylation, and cell-surface expression of the measles virus fusion protein (F) encoded by a recombinant adenovirus. *Virology* 1990;175:262–70.
12. Nanche D, Varior-Krishnan G, Cervoni F, Wild TF, Rossi B, Rabourdin-Combe C et al. Human membrane cofactor protein (CD46) acts as a cellular receptor for measles virus. *J Virol* 1993;67:6025–32.
13. Riley-Vargas RC, Gill DB, Kemper C, Liszewski MK, Atkinson JP. CD46: expanding beyond complement regulation. *Trends Immunol* 2004;25:496–503.
14. Tatsuo H, Ono N, Tanaka K, Yanagi Y. SLAM (CDw150) is a cellular receptor for measles virus. *Nature* 2000;406: 893–7.

15. Calpe S, Wang N, Romero X, Berger SB, Lanyi A, Engel P et al. The SLAM and SAP gene families control innate and adaptive immune responses. *Adv Immunol* 2008; 97:177–250.
16. Noyce RS, Bondre DG, Ha MN, Lin LT, Sisson G, Tsao MS et al. Tumor cell marker PVRL4 (Nectin 4) is an epithelial cell receptor for measles virus. *PLoS Pathog* 2011;7: e1002240.
17. Muhlebach MD, Mateo M, Sinn PL, Prüfer S, Uhlig KM, Leonard VH et al. Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for measles virus. *Nature* 2011; 480:530–3.
18. Rota PA, Brown K, Mankertz A, Santibanez S, Shulga S, Muller CP et al. Global distribution of measles genotypes and measles molecular epidemiology. *J Infect Dis* 2011; 204:S514–23.
19. World Health Organization. Measles virus nomenclature update: 2012. *Wkly Epidemiol Rec* 2012;87:73–81.
20. Black FL. Measles endemicity in insular populations: critical community size and its evolutionary implications. *J Theor Biol* 1966;11:207–11.
21. Feikin DR, Lezotte DC, Hamman RF, Salmon DA, Chen RT, Hoffman RE. Individual and community risks of measles and pertussis associated with personal exemptions to immunization. *JAMA* 2000;284:3145–50.
22. Nathanson N, Moss WJ. Epidemiology. In: Knipe DM, Howley PM (eds). *Fields Virology*. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2013;314–37.
23. Zhang Z, Zhao Y, Yang L, Lu C, Meng Y, Guan X et al. Measles Outbreak among Previously Immunized Adult Healthcare Workers, China, 2015. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2016;2016:1742530.
24. Rota PA, Rota JS, Redd SB, Papania MJ, Bellini WJ. Genetic analysis of measles viruses isolated in the United States between 1989 and 2001: absence of an endemic genotype since 1994. *J Infect Dis* 2004;189: S160–4.
25. Orenstein WA, Papania MJ, Wharton ME. Measles elimination in the United States. *J Infect Dis* 2004;189 Suppl 1:S1–3.
26. Papania MJ, Wallace GS, Rota PA, Icenogle JP, Fiebelkorn AP, Armstrong GL et al. Elimination of endemic measles, rubella, and congenital rubella syndrome from the Western hemisphere: the US experience. *JAMA Pediatr* 2014;168:148–55.
27. World Health Organization (WHO). *Global Measles and Rubella Strategic Plan: 2012-2020*. WHO: Geneva, 2012;1–43.
28. Measles factsheet [Internet]. Geneva: World Health Organization (WHO), c2005-2017 [cited 2017 Jan 20]. Available from: <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs286/en/>.
29. ECDC.europa.eu [Internet]. Measles surveillance data. Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control, c2017 [cited 2017 Jan 20]. Available from: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/measles/epidemiological_data/Pages/annual_epidemiological_reports.aspx.
30. Rota P, Moss WJ, Takeda M, de Swart RL, Thompson KM, Goodson JL. Measles. *Nat Rev Dis Primers* 2016;2: 16049.
31. Mitchell P, Turner N, Jennings L, Dong H. Previous vaccination modifies both the clinical disease and immunological features in children with measles. *J Prim Health Care* 2013;5:93–8.
32. Liu Y, Sun LY, Zhu ZJ, Lin W, Qu W, Zeng ZG. Measles virus infection in pediatric liver transplantation recipients. *Transplant Proc* 2015;47:2715–8.
33. Baldolli A, Dargère S, Cardineau E, Vabret A, Dina J, de La Blanchardière A et al. Measles inclusion-body encephalitis (MIBE) in an immunocompromised patient. *J Clin Virol* 2016;81:43–6.
34. Qaisar I, Ahmad A, Ahmad F, Ullah Mazhar A. Comparison of measles complications in well-nourished and mal-nourished children. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2009;21:30–2.
35. Melenotte C, Cassir N, Tessonier L, Brouqui P. Atypical measles syndrome in adults: still around. *BMJ Case Rep* 2015;2015.
36. Ibrahim A. Purpura fulminans associated with hemiparesis following measles infection in a Nigerian girl: A case report. *J Family Med Prim Care* 2013;2:393–5.
37. Li J, Zhao Y, Liu Z, Zhang T, Liu C, Liu X. Clinical report of serious complications associated with measles pneumonia in children hospitalized at Shengjing hospital, China. *J Infect Dev Ctries* 2015;9:1139–46.
38. Chowdhary J, Ashraf SM, Khajuria K. Measles with acute disseminated encephalomyelitis (ADEM). *Indian Pediatr* 2009;46:72–4.
39. Fisher DL, Defres S, Solomon T. Measles-induced encephalitis. *QJM* 2015;108:177–82.
40. Griffin DE. Measles virus and the nervous system. *Handb Clin Neurol* 2014;123:577–90.
41. Garg RK. Subacute sclerosing panencephalitis. *Postgrad Med J* 2002;78:63–70.
42. Gadoth N. Subacute sclerosing pan-encephalitis (SSPE) – Past and present, pathogenesis of encephalitis [Internet]. In: Dr. Daisuke Hayasaka (ed.), InTech, 2011; [cited 2017 Jan 18]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/pathogenesis-of-encephalitis/subacute-sclerosing-pan-14>.
43. World Health Organization. *Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection*. Geneva: WHO Document Production Services, 2007.
44. Centers for Disease Control and Prevention. *Measles. In: Manual for the Surveillance of Vaccine Preventable Diseases*. US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, 2013.
45. Ono N, Tatsuo H, Hidaka Y, Aoki T, Minagawa H, Yanagi Y. Measles viruses on throat swabs from measles patients use signaling lymphocytic activation molecule (CDw150) but not CD46 as a cellular receptor. *J Virol* 2001;75:4399–401.
46. Rota PA, Brown KE, Hübschen JM, Muller CP, Icenogle J et al. Improving global virologic surveillance for measles and rubella. *J Infect Dis* 2011;204 Suppl 1:S506–13.
47. Uzicanin A, Lubega I, Nanuynja M, Mercader S, Rota P, Bellini W et al. Dried blood spots on filter paper as an alternative specimen for measles diagnostics: detection of measles immunoglobulin M antibody by a commercial enzyme immunoassay. *J Infect Dis* 2011;204 Suppl 1:S564–9.
48. De Swart RL, Nur Y, Abdallah A, Kruining H, El Mubarak HS, Ibrahim SA et al. Combination of reverse transcriptase PCR analysis and immunoglobulin M detection on filter paper blood samples allows diagnostic and epide-

- miological studies of measles. *J Clin Microbiol* 2001;39:270–3.
49. Wassilak SG, Bernier RH, Herrmann KL, Orenstein WA, Bart KJ, Amler R. Measles seroconfirmation using dried capillary blood specimens in filter paper. *Pediatr Infect Dis* 1984;3:117–21.
 50. Ratnam S, Tippl G, Head C, Fauvel M, Fearon M, Ward BJ. Performance of indirect immunoglobulin M (IgM) serology tests and IgM capture assays for laboratory diagnosis of measles. *J Clin Microbiol* 2000;38:99–104.
 51. Dina J, Creveuil C, Gouarin S, Viron F, Hebert A, Freymuth F et al. Performance Evaluation of the VIDAS® Measles IgG Assay and Its Diagnostic Value for Measuring IgG Antibody Avidity in Measles Virus Infection. *Viruses* 2016;8.
 52. Cohen BJ, Doblas D, Andrews N. Comparison of plaque reduction neutralisation test (PRNT) and measles virus-specific IgG ELISA for assessing immunogenicity of measles vaccination. *Vaccine* 2008;26:6392–7.
 53. Haralambieva IH, Ovsyannikova IG, Vierkant RA, Poland GA. Development of a novel efficient fluorescence-based plaque reduction microneutralization assay for measles virus immunity. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15:1054–9.
 54. Kaic B, Gjenero-Margan I, Kurecic-Filipovic S, Muscat M. A measles outbreak in Croatia, 2008. *Euro Surveill* 2009;14.
 55. Kaic B, Gjenero-Margan I, Aleraj B, Vilibić-Čavlek T, Santak M, Cvitkovic A et al. Spotlight on measles 2010: Excretion of vaccine strain measles virus in urine and pharyngeal secretions of a child with vaccine associated febrile rash illness, Croatia, March 2010. *Euro Surveill* 2010;15.
 56. Ivic-Hofman I, Cvitkovic A, Kaic B, Vilibić-Čavlek T, Pandak N, Maric Z et al. Simultaneous varicella and measles infection among migrant children who stayed in Italy during the second half of June 2011. *Clinics and Practice* 2011;1:e113.
 57. Vilibić-Čavlek T, Ljubin Sternak S, Žarković K, Marušić Della Marina B, Cvitanović-Šojat Lj, Bašnec A et al. Subacute sclerosing panencephalitis: the continuing threat. *Coll Antropol* 2006;30:959–63.
 58. Vilibić-Čavlek T, Ljubin Sternak S, Kaic B, Zarkovic K, Marusic Della Marina B, Cvitanovic Sojat L et al. Subacute sclerosing panencephalitis in Croatia (1994–2004). *Acta Microbiol Immunol Hung* 2007;54:57–63.
 59. Forčić D, Baričević M, Zgorelec R, Kružić V, Kaić B, Marina BM et al. Detection and characterization of measles virus strains in cases of subacute sclerosing panencephalitis in Croatia. *Virus Res* 2004;99:51–6.
 60. Ivancic-Jelecki J, Baricevic M, Santak M, Harcet M, Tešović G, Marusic Della Marina B et al. The first genetic characterization of a D4 measles virus strain derived from a patient with subacute sclerosing panencephalitis. *Infect Genet Evol* 2013;17:71–8.
 61. Vilibić-Čavlek T, Ivančić-Jelečki J, Forčić D, Babić-Erceg A, Šantak M, Tabain I et al. Ospice i rubela na području Hrvatske, 2001.-2015. godine. In: Tambić Andrašević A, Baršić B (eds). *Knjiga sažetaka 11. hrvatski kongres kliničke mikrobiologije i 8. hrvatski kongres o infektivnim bolestima s međunarodnim sudjelovanjem; 2016 listopad 20-22; Poreč, Hrvatska. Hrvatski liječnički zbor, 2016; 225–6.*
 62. de Swart RL, Duprex WP, Osterhaus AD. Rinderpest eradication: lessons for measles eradication? *Curr Opin Virol* 2012;2:330–4.