



## Научно становище, относно възможността за проява и разпространение на инфекция от Западно-Нилска Треска (ЗНТ) в България

### Съдържание

Въведение/Introduction

1. Резюме/Summary
2. Нормативна основа
3. Треска от Западен Нил като нозологична единица
4. Ролята на комарите като вектори в разпространението и природната огнищност на болестта
5. Исторически данни и епизоотична обстановка в Европа и Средиземноморския басейн
6. История на заболяването и разпространение на вируса на ЗНТ в Европа след 2016 г.
7. Мерки за профилактика и контрол
8. Изводи
9. Оценка на риска
10. Използвана литература

### Въведение/Introduction

Вирусът на Западно-Нилската треска – ЗНТ (*West Nile virus* - WNV) е предаващ се чрез комари (*mosquito-borne*) *Flavivirus*, принадлежащ към групата на Японските енцефалитни вируси и техния антигенен комплекс на сем. *Flaviviridae* [1]. Заболяването е установено в Африка, Европа, Близкия Изток, Азия, Океания и от неотдавна и в Америка [2, 3]. Естественният цикъл на инфекцията включва птици и комари, най-често от родовете *Culex spp.* и *Aedes spp.* [4, 5]. Много от видовете диви птици играят ролята на амплификаторни гостоприемници [6], докато човекът, конете и други бозайници се считат като инцидентни или крайни гостоприемници на вируса (*dead-end hosts*) [2]. Освен това неврологичните заболявания при коне и хора се отбелязват едва от края на 50-те години [7], като инфекцията при хора и коне се открива главно асимптоматично или с умерено фебрилно състояние [8, 9]. Заболеваемостта и силата на симптоматиката при хората зависят от различни фактори, като патогенността на щама WNV и имунният статус на пациента [10]. Екологичните аспекти на инфекцията с WNV, включващи комарите, птиците и хората са описани за първи път в Египет през 1950 г. [11]. В последните 30 години различни случаи на инфекция със Западно-Нилска треска при коне и хора бяха обявени в Европа и Средиземноморския басейн. Различни проучвания установиха вирусна циркулация при диви птици и комари, даващи значителен принос за по-ясна картина на циркулацията на WNV в Европа. Независимо от извършените проучвания до момента, екологичните аспекти въввлечени в предаването на WNV и механизмите на навлизане и разпространение на ЗНТ все още не са напълно изяснени.

## 1. Резюме

Многопосочното и интензивно сътрудничество на медицинските и ветеринарните органи на държавите и завишеният надзор на заболяването в последните години дава възможност инфекцията с вируса на ЗНТ да се установява във все по-нови региони. Проведените серологични проучвания потвърждават, че вирусът на ЗНТ циркулира най-малко в 4 региона на България от три области, включвайки различни видове животни и птици.

Сравнително високият процент на серопревалентност в тези региони (43,5% - Дуранкулак, 39,7% - Шабла, 28,6% - Тутракан, 30,2% - с. Старо Оряхово) вероятно са в резултат на тясното съжителство на чувствителните животни в близост до влажните територии, посещавани от големи колонии разнообразни видове мигриращи птици, които могат да бъдат носители и източник на инфекция с вируса на ЗНТ. Откриването на специфични за вируса на ЗНТ антитела при крайни гостоприемници (*“dead-end”*) еквиди подсказва, че т.н. *„bridge“* вектори най-вероятно са въввлечени в цикъла на предаване на вируса. **Това следва да се вземе предвид, когато се оценява риска за хората, които обитават селските райони, заселени предимно с популации от възрастно население (възраст > 50 г.), група, застрашена най-често от проява на нервно възпалително заболяване при инфекция с вируса на ЗНТ.**

Включването на теста за серум неутрализация срещу *Usutu* вирус, който е антигенно тясно свързан с вируса на ЗНТ, позволява да се повиши специфичността на серологичния метод и да се избегнат неспецифичните кръстосани реакции.

Циркулацията на вируса на ЗНТ в момента е установена в много европейски страни и се очаква **нейното по-нататъшно разпространение в следващите години, включително и в съседни на засегнатите страни, където екологичните параметри и климатогеографските условия са благоприятни и където се осъществява тясна връзка между мигриращи, резидентни птици, комарни вектори, човека и селскостопанските животни.**

Вирусите на ЗНТ от генетични линии 1 и 2, засягащи човека и еквидите, са установени да циркулират в Европа. Определено, следва да се наблегне на анализирани на настоящите огнища, което да даде повече информация за епидемиологичното значение на този факт и за опазване на публичното здраве. За сега няма данни генетичната линия 2 на вируса на ЗНТ да е по-вирулентна, но това е едно от направленията, по които следва да се работи в бъдеще, за установяване влиянието и динамиката на циркулация, и предаване на вируса.

Вирусът на ЗНТ от генетична линия 2 вече е идентифициран в Гърция през 2010 г. при донор на кръв, а в последните години подобен вирус е бил изолиран, както от птици, така и от болни хора с безсимптомно протичаща инфекция от ЗНТ и в България. Това подсказва, че задължително в районите с установени случаи на ЗНТ **при хора, следва да се извършват и подходящи изследвания в кръвните центрове.**

**Имайки предвид фактите около географското разпространение на ЗНТ в последните години и, че повечето страни с докладвано заболяване ЗНТ през периода 2016-2018 г. са били инфектирани и в предишни години (Русия, Гърция, Румъния Турция, Израел, Италия и др.) показва, че **ЗНТ се превръща от ново възникваща, в повечето райони в Европа, в повече или по-малко стационарна инфекция с характер на ендемичност за много европейски страни.** И това не е неочаквано на фона на промените в екологичните фактори, като високата концентрация на местни резидентни птици и степента на урбанизация в крайградските райони, където могат да контактуват местните резидентни и прелетни птици, и *възможността WNV***

да бъде пренасян от прелетните мигриращи птици извън традиционните екологични ниши на вирусна циркулация и вируса на ЗНТ да се адаптира към местните („bridge“) вектори.

Очаква се по-нататъшно разпространение на инфекциите със ЗНТ в следващите години, включително и в съседни на засегнатите до момента страни, където екологичните параметри са благоприятни и се осъществява връзка между мигриращи прелетни, резидентни птици, комарни вектори, други гръбначни животни (в т.ч. селскостопански) и човека.

Проведените серологични проучвания потвърждават, че вирусът на ЗНТ циркулира най-малко в 4 региона на България от три области, включвайки различни видове животни. Това следва да се вземе предвид, когато се оценява риска за хората, които обитават селските райони, заселени предимно с популации от възрастно население (възраст > 50 г.), група, застрашена най-често от проява на нервно възпалително заболяване при инфекция с вирус на ЗНТ.

Надзорът на ЗНТ следва да включва и други региони на страната чрез създадената вече съвременна програма за надзор, разчетена и добре обезпечена във времето, и пространството, с използване на сентинелни животни от резидентни птици и еквида, а така също и постоянен надзор над векторите. Този надзор следва да се извършва съвместно със здравните власти и да се подпомага финансово от държавата.

Интензивният надзор на заболяването ЗНТ, включително и изолацията на вирус от сборни проби на комари от различните региони на страната следва да продължи. Особено внимание следва да се обърне на онези региони, които се считат за най-рискови и се характеризират с тясно съжителство на чувствителни животни в близост до влажни територии, посещавани от големи колонии разнообразни видове мигриращи птици по *Via Pontica* и *Via Aristotelis*, които могат да бъдат носители и източник на инфекция с вирус на ЗНТ.

## Introduction

West Nile fever (WNF) is a transmissible vector borne disease, caused by *Flavivirus*. The West Nile virus (WNV) belongs to the group of the Japanese encephalitis viruses of *fam. Flaviviridae* [1]. The disease is widely spread in Africa, Europe, the Middle East, Asia, Oceania, and more recently in America [2, 3]. The natural cycle of the infection includes birds and mosquitoes, mainly of the genera *Culex* spp. and *Aedes* spp. [4, 5]. Most of the wild bird species play role of host where the virus is amplified, while humans, horses and other mammals are considered dead-end hosts [2]. Neurological diseases in horses and humans have been reported since the late 1950s [7] and the infection in human and horses is mainly asymptomatic or with moderate febrile symptoms [8, 9]. The morbidity and the severity of the disease in humans are determined by different factors such as the pathogenicity of WNV and the immune status of the patient [10]. The ecological aspects of WNV infection, including mosquitoes, birds and humans interactions, were first described in Egypt in 1950 [11]. In the past 30 years, various cases of West Nile fever infection have been reported in horses and humans across Europe and the Mediterranean Basin. Various studies identified circulation of WNV in wild birds and mosquitoes which contribute for a clearer picture of the disease epidemiology in Europe.

Regardless of the studies carried out so far, there are still some ecological aspects related to the WNV transmission and the mechanisms for disease spread that are not fully elucidated.

## 1. Summary

The intensive and multi-directional co-operation between Member States' medical and veterinary authorities and increased disease surveillance in the recent years allowed WNF infection to be detected in increasingly new regions. The serological studies conducted in Bulgaria confirmed that the WNV is circulating in at least four regions of Bulgaria within 3 districts affecting various animals and birds species.

Comparatively high percent of seroprevalence in those regions (43.5% - Durankulak, 39.7% - Shabla, 28.6% - Tutrakan, 30.2% - Oryahovo) is probably due to the close cohabitation of the susceptible animals with the wetlands visited by large colonies of various migratory bird species as a potential source of WNV infection. The detection of specific antibodies to WNF in dead-end hosts (equids) suggests that the so-called "bridge" vectors are most likely involved in the cycle of virus transmission. **This have to be included in the risk assessment concerning adult people (age > 50 years) living in rural areas. This age group is most commonly affected by neurological symptoms due WNV infection.** The implementation of Virus neutralization test (VNT) to differentiate WNV from Usutu virus increase the specificity of the laboratory diagnosis as both viruses are antigenically closely related.

The circulation of the WNV is currently confirmed in many European countries and **further disease spread is expected in the coming years, including neighbouring countries where environmental parameters and climatic conditions are favourable and close links between migratory, resident birds, competent mosquito vectors, humans and farm animals are present.**

There are 2 genetic lineages of WNV detected in Europe: lineage 1 and lineage 2 affecting humans and equidae. Certain emphasis should be given of analysing the characteristics of the current WNF outbreaks in Europe in order to gain more information on the epidemiological significance of the disease and to protect the public health.

Until now there are no evidences for higher virulence of the genetic lineage 2 of WNV but this is one of the areas for further research on the impact of the dynamic of viral circulation and transmission.

The genetic lineage 2 of WNV has already been identified in a sample from a blood donor in Greece in 2010. The same genetic lineage 2 of WNV has already been isolated during the recent years from both birds and people with asymptomatic infection in Bulgaria. **This suggests that in areas with confirmed WNF cases in humans, appropriate blood testing should also be performed in blood centres.**

The WNF geographical distribution data and the fact that the majority of the countries with reported WNF cases in the period 2016-2018 have been previously affected by the disease (Russia, Greece, Romania, Turkey, Israel, Italy, etc.) show that **WNF became from a new emerging risk for Europe to a more or less stationary endemic infection in many European countries.**

This is well explained with **the climate changes (heavy rainfall and higher activity of the competent mosquito vectors) and other environmental factors such as high concentration of resident birds and urbanization leading to closer contact between people and resident and migratory birds and the possibility of WNV to be transmitted by the migratory birds beyond the established ecological niches and virus adaptation to the local "bridge" vectors in the "new" areas.**

**Further spread of WNF infection is expected in the coming years, including neighbouring countries where ecological parameters are favourable and links between migratory birds, resident birds, competent mosquito vectors and people are established.**

As WNF is already confirmed in 3 districts in Bulgaria, the disease surveillance in our country should also include other regions (identified as risk regions) through the already established surveillance program for WNF in Bulgaria, well-designed and well-secured in time and space using sentinel animals (resident wildlife and equine animals), as well as permanent surveillance of the vectors. The disease surveillance should be performed in collaboration with the public health authorities and financially supported by the Bulgarian government.

The intensive disease surveillance including virus isolation from mosquito vectors samples from different regions of the country, should continue. **Particular attention should be given to the risk regions where is possible close cohabitation between susceptible animals in the vicinity of wetlands visited by large colonies of various migratory birds on Via Pontica and Via Aristotelis, as a potential source of infection with WNV.**

## 2. Законодателна рамка

### 2.1. Законодателство на Световната организация по здравеопазване на животните (ОИЕ)

#### Код за сухоземни животни на ОИЕ

Западно-нилската треска (ЗНТ) е включена в списъка на заболяванията на ОИЕ, чиято поява подлежи на задължително обявяване (глава 1.3. от Кода за сухоземни животни на ОИЕ). В Глава 1.2. на Кода за сухоземни животни на ОИЕ са определени критериите за включване на болести, инфекции и паразитози в списъка – най-важните критерии са следните:

- Доказана способност за международно разпространение на патогенния агент (чрез живи животни или техни продукти, вектори или контаминирани предмети);
- Налице е надеждно средство за откриване и диагностициране и е налице точна дефиниция (case definition), която ясно да идентифицира случаите и да им позволи да бъдат разграничени от други заболявания, инфекции или паразитози;
- Възможността за предаване на хора е доказана и инфекцията при хората е свързана с тежки последици;
- Установено е, че болестта оказва значително въздействие върху здравето на домашните животни в страната или зоната, като се вземат предвид появата и тежестта на клиничните признаци, включително преките производствени загуби и смъртността;
- Научните данни показват, че болестта би имала значително въздействие върху здравето на дивите животни, като се вземат предвид появата и тежестта на клиничните признаци, включително преките икономически загуби и смъртността, както и всяка заплаха за жизнеспособността на популацията от диви животни.

В Глава 8.19 „Западно-нилска треска” на Кода за сухоземни животни са разписани стандартите за търговия с живи животни, продукти от животински произход, животински генетичен материал, биологични продукти и патологичен материал, както и изискванията за страни и зони свободни от болестта.

В Глава 2.1.24 на Ръководството за диагностични тестове и ваксини за сухоземни животни 2018 (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2018) са описани лабораторните диагностични тестове за откриване на вируса или антитела

срещу него, както и изискванията за производството, тестването и регистрацията на ваксините.

## 2.2. Законодателство на Европейския съюз

**Директива 82/894/ЕИО** на Съвета от 21 декември 1982 година относно обявяване на болестите по животните в рамките на Общността (ОВ L 378, 31.12.1982, р.58) определя западнонилската треска като болест, чиято поява в държавата членка подлежи на задължително обявяване.

**ЗНТ не е включена в обхвата на Регламент (ЕС) № 652/2014<sup>1</sup> и следователно ЕС не финансира и не отпуска** на държавите членки безвъзмездни средства по отношение на спешните мерките, предприети в резултат на съмнение и последващо потвърждаване на появата на някоя от болестите по животните, включени в списъците на Регламента. Не се финансират от страна на ЕС годишните или многогодишните национални програми на държавите членки за ликвидиране, контрол и надзор на западно-нилската треска.

**Директива 90/426/ЕИО** на Съвета от 26 юни 1990 година относно ветеринарно-санитарните условия, регулиращи движението и вноса от трети страни на еднокопитни животни (ОВ L 224, 18.8.1990 г., стр. 42—54).

**Директива 2009/156/ЕО** на Съвета от 30 ноември 2009 година относно ветеринарно-санитарните условия, регулиращи движението и вноса от трети страни на еднокопитни животни (ОВ L 192, 23.7.2010 г., стр. 1).

**Регламент за изпълнение (ЕС) 2018/659** на Комисията от 12 април 2018 година относно условията за въвеждане в Съюза на живи еднокопитни животни и сперма, яйцеклетки и ембриони от еднокопитни животни (ОВ L 110, 30.4.2018 г., стр. 1—121) - определя ветеринарно-санитарните условия относно движението между държавите членки и вноса от трети страни на еднокопитни животни.

**Регламент (ЕО) № 180/2008** на Комисията от 28 февруари 2008 година относно референтната лаборатория на Общността за болести по еднокопитните, различни от африканската чума по конете, и за изменение на приложение VII към Регламент (ЕО) № 882/2004 на Европейския парламент и на Съвета (ОВ L 56, 29.2.2008 г., стр. 4—7) - Комисията определи Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) и нейните лаборатории за здраве на животните и болести по еднокопитните, Франция, за референтна лаборатория на ЕС за болести по еднокопитните, различни от африканската чума по конете, за срок до 30 юни 2023 г., и определи нейните функции, задължения и процедури по отношение на сътрудничеството ѝ с лабораториите, отговарящи за диагностицирането на инфекциозни болести по еднокопитните в държавите членки.

## 2.3. Законодателство на ЕС за опазване на общественото здраве

Инфекцията с вируса на ЗНТ при хората е включена в списъка на Заразни болести и свързани с тях специфични здравни проблеми, които попадат в обхвата на мрежата за епидемиологично наблюдение според **Решение за изпълнение (ЕС) 2018/945** на Комисията от 22 юни 2018 година относно заразните болести и свързаните с тях специфични здравни проблеми, които да бъдат включени в обхвата на

<sup>1</sup> Регламент (ЕС) № 652/2014 на Европейския парламент и на Съвета от 15 май 2014 година за установяване на разпоредби за управлението на разходите, свързани с хранителната верига, здравеопазването на животните и хуманното отношение към тях, здравето на растенията и растителния репродуктивен материал, за изменение на директиви 98/56/ЕО, 2000/29/ЕО и 2008/90/ЕО на Съвета, на регламенти (ЕО) № 178/2002, (ЕО) № 882/2004 и (ЕО) № 396/2005 на Европейския парламент и на Съвета, на Директива 2009/128/ЕО на Европейския парламент и на Съвета и на Регламент (ЕО) № 1107/2009 на Европейския парламент и на Съвета и за отмяна на решения 66/399/ЕИО, 76/894/ЕИО и 2009/470/ЕО на Съвета (ОВ L 189, 27.6.2014 г., стр. 1)

епидемиологичния надзор, както и съответните определения на случаи (case definition)<sup>2</sup> при хора, подпомагайки Комисията в разработването на стратегии за намеса в областта на наблюдението и предприемането на действия срещу заразните болести и е включена и ЗНТ.

С Решение № 1082/2013/ЕС<sup>3</sup> се въвеждат мерки за опазване на общественото здраве от сериозни трансгранични опасности и държавите членки се задължават да уведомяват за тези мерки, за да бъде подобрена координацията сред тях и с Комисията. С член 9 от Решение № 1082/2013/ЕС националните компетентни органи и Комисията се задължават да изпращат сигнал чрез системата за ранно предупреждение и реагиране (СРПР), когато при възникването или развитието на дадена сериозна трансгранична заплаха за здравето, вкл. случаите на ЗНТ.

## 2.4. Научни становища на EFSA

**Научно становище - Оценка на включването в списъка и категоризацията на болестите по животните в рамките на Закона за здравето на животните (Регламент (ЕС) № 2016/429): Треска от Западен Нил<sup>4</sup>**

**Научно становище - Векторни заболявания<sup>5</sup>** - По искане на Европейската комисия, Панелът на EFSA за здравето и хуманното отношение към животните обобщил основните характеристики на 36 болести, пренасяни от вектори (VBD). Рискът от внасяне в ЕС чрез движение на селскостопански животни или домашни любимци бе оценен поотделно за всяка от 36 VBD. Само 8 от 36-те агенти на VBD са имали обща степен на навлизане в ЕС (като комбинация от скоростта на влизане, предаване на вектори и установяване), която се оценява на над 0.001 въвеждания годишно. Това са вирус на Кримско-Конго хеморагична треска, вирус на болестта син език, вирус на Западен Нил, вирус на *Schmallenberg*, *Hepatozoon canis*, *Leishmania infantum*, вирус *Bunyamwera* и вирус *Highlands J*. За тези осем болести е оценена годишната степен на разпространение, като се приеме, че се прилагат наличните разрешени мерки за превенция и контрол в ЕС. За другите VBD-агенти степента на навлизане е оценена като по-ниска. Освен това беше оценена вероятността за презимуване, както и евентуалното въздействие на VBD върху общественото здраве, здравето на животните и селскостопанското производство. За останалите 28 агенти на VBD, за които се предполага, че скоростта на въвеждане е много ниска, не са направени допълнителни оценки. Поради несигурността, свързана с някои параметри, използвани за оценка на риска или за нестабилна или непредсказуема ситуация в някои от източниците, се препоръчва да се актуализира оценката, когато се получи нова информация. Тъй като тази оценка на риска е извършена за големи региони в ЕС за много агенти на VBD, тя трябва да се счита за първа проверка.

<sup>2</sup> Решение за изпълнение (ЕС) 2018/945 на Комисията от 22 юни 2018 година относно заразните болести и свързаните с тях специфични здравни проблеми, които да бъдат включени в обхвата на епидемиологичния надзор, както и съответните определения на случаи (case definition) (*OB L 170, 6.7.2018г., стр. 1–74*)

<sup>3</sup> Решение № 1082/2013/ЕС на Европейския парламент и на Съвета от 22 октомври 2013 година за сериозните трансгранични заплахи за здравето и за отмяна на Решение № 2119/98/ЕО (*OB L 293, 5.11.2013г., стр. 1–15*).

<sup>4</sup> Scientific Opinion - **Assessment of listing and categorisation of animal diseases within the framework of the Animal Health Law (Regulation (EU) No 2016/429): West Nile fever**; First published in the EFSA Journal: 8 August 2017; Adopted: 30 June 2017; Corrected: 2 October 2018. This version replaces the previous one/s. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.4955; EFSA Journal 2017;15(8):4955; Question Number: EFSA-Q-2016-00592; On request from: European Commission; © European Food Safety Authority, 2017; <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4955>

<sup>5</sup> **Vector-borne diseases**; First published in the EFSA Journal: 11 May 2017; Adopted: 5 April 2017; Type: Scientific Opinion; DOI:10.2903/j.efsa.2017.4793; EFSA Journal 2017;15(5):4793; Question Number: EFSA-Q-2014-00187; On request from: European Commission; © European Food Safety Authority, 2017; <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4793>

## 2.5. Национално законодателство

### Закон за ветеринарномедицинската дейност;

Наредба № 23 за реда и начина за обявяване и регистрация на заразните болести по животните (Обн. ДВ. бр.6 от 20 Януари 2006г.);

Наредба № 45 от 20 април 2006 г. за здравните изисквания при придвижване на еднокопитни животни между Република България и държавите членки на Европейския съюз, и внасянето от трети страни (в сила от 26.05.2006 г., Обн. ДВ. бр.43 от 26 май 2006г., изм. ДВ. бр.67 от 18 август 2006г., изм. ДВ. бр.95 от 24 ноември 2006г., изм. ДВ. бр.45 от 15 юни 2010г.);

Наредба № 45 от 20 април 2006 г. за здравните изисквания при придвижване на еднокопитни животни между Република България и държавите членки на Европейския съюз, и внасянето от трети страни (в сила от 26.05.2006 г., Обн. ДВ. бр.43 от 26 Май 2006г., изм. ДВ. бр.67 от 18 Август 2006г., изм. ДВ. бр.95 от 24 Ноември 2006г., изм. ДВ. бр.45 от 15 Юни 2010г.);

Наредба № 49 от 20 април 2006 г. за здравните изисквания към някои животни, сперма, яйцеклетки и ембриони при обмен между Република България и държавите членки на Европейския съюз, и при внасянето им от трети страни (Обн. ДВ. бр.44 от 30 Май 2006г., изм. и доп. ДВ. бр.9 от 3 Февруари 2015г.);

ЗНТ е включена в Списък с приоритетни за България и ЕС заболявания по животните и зоонози, за които са изготвени Национални програми или е предвидена диагностична готовност - в т. 1. Болести по животните и зоонози със значение за ЕС и България, финансирани от държавния бюджет;

Има изготвена и се изпълнява Програма за надзор и контрол на болестта ЗНТ в България през 2016 – 2018 г., както и за периода 2019-2021 година - Програмата включва:

- лабораторно изследване на кръвни проби от сентинелни животни (еднокопитни и домашни птици от кокошеви видове) за откриване на антитела срещу вируса на ТЗН;
- лабораторно изследване на кръвни проби от диви птици и кучета за откриване на антитела срещу вируса на ЗНТ;
- лабораторно изследване на кръвни проби, суспензии от вътрешни органи и главен мозък, и сборни проби от комари за откриване на генома на вируса на ЗНТ;
- лабораторно изследване на кръвни проби, суспензии от вътрешни органи и главен мозък за откриване на вируса на ЗНТ;
- морфологичен анализ на улови от комари;
- клинични обследвания на възприемчиви животни;

## 3. Западно-Нилска Треска като нозологична единица

### 3.1. Етиология

**Причинителят** на заболяването ЗНТ спада към семейство *Flaviviridae*, род *Flavivirus* (91). Вирусът на ЗНТ принадлежи към антигенната група на Японския енцефалит, в която са включени още вирусите на *Murray Valley encephalitis* и енцефалита *Saint Louis*. Вирионите имат сферична форма, големина около 50 nm и липидна обвивка, която предпазва разположената във вътрешността едно-верижна (+ss) РНК, състояща се от около 11 000 нуклеотида. Във вирусната мембрана са разположени повърхностен Е протеин (*envelope protein*) и мембранен (*membrane*) М протеин, които са отговорни за голяма част от характеристиките на вируса, като спектър на чувствителни животни,



тъканен тропизъм, репликация, място на прикрепяне на вируса, стимулиране на В и Т лимфоцитите.

В 5' края на РНК веригата се намира къс участък, състоящ се от около 100 нуклеотида, който не кодира никаква информация, последван от участък, в който е кодирана информацията за синтез на 3 структурни и 7 неструктурни протеина, в следната последователност: капсид-мембрана- обвивка (envelope)-NS1- NS2a-NS2b-NS3-NS4a-NS4b-NS5. След този участък, в 3' края е разположен участък, състоящ се от около 600 нуклеотида, който не кодира никаква информация. Репликацията на вируса се извършва в цитоплазмата, в близост до ендоплазмения ретикулум. След репликацията вирусните частици проникват в ендоплазмения ретикулум, от където посредством секреторния апарат напускат клетката (88).

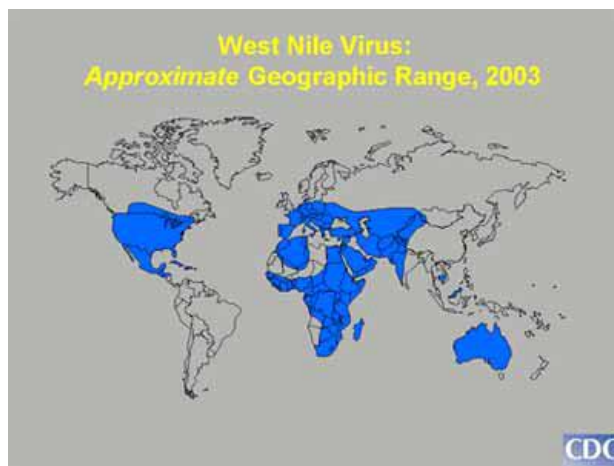
Вирионите проникват в гостоприемниковата клетка чрез рецепторно обусловена фузия (сливане) на двете мембрани. Този процес възниква в следствие на сложни електростатични и физикохимични взаимодействия между повърхностните мембранни протеини (рецептори) на клетката гостоприемник и повърхностните мембранни протеини (рецептори) на вируса, които се ускоряват от ниското рН на ендозомата (96). Репликацията на вирусът се извършва в цитоплазмата (в близост до ендоплазмения ретикулум), при което вирусната НК играе ролята на и-РНК, която пряко транслира кодираната в нея информация за синтезиране на вирусните белтъци (83).

### 3.2. Възприемчивост

Най-често заболяването засяга птици, коне и хора. Има докладвани спорадични случаи на заболяване на Треска от Западен Нил при други видове животни, като шимпанзета, кучета, котки, катерици, прилепи, елени, овце, ламы, алигатори, тюлени. При направено проучване в Канада, област Саскечуан (Saskatchewan) през 2003 г. бе установено, че по-голямата част от изследваните коне с клинични признаци на ЗНТ са били на възраст  $\leq 10$  г., а смъртността в тази възрастова група е била 46%. 92% от леталните случаи (в следствие на естествения завършек на заболяването или на евтаназия) са се случили през месец август. Смъртността на кобилите е била 36%, на жребците - 82%, а на кастратите - 45%. Конете с тъмно оцветена космена покривка са били по-често засегнати от заболяването, но процента на летални случаи при тях е бил по-нисък (36%), в сравнение с тези с друг цвят космена покривка. По-голямата част от конете с клинични симптоми на заболяването са били със светъл цвят на космената покривка и са били използвани за езда (97).

### 3.3. Разпространение

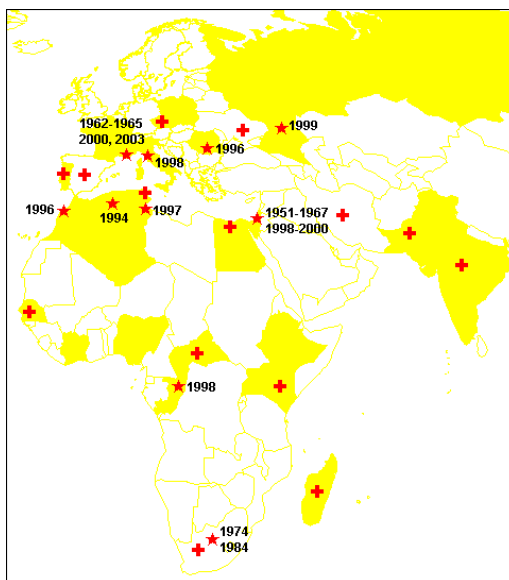
ЗНТ е разпространена в Африка, Средния Изток и Западна Азия. В Западното полукълбо е установена през 1999 г. в Ню Йорк. През следващите 5 години се разпространява по цялата територия на САЩ, Канада, Карибите и Латинска Америка (Фиг.1, 2 и 3). До 2008 г. от ЗНТ в САЩ са умрели 1126 човека.



**Фиг.1. Територии засегнати от ЗНТ в Света**



**Фиг. 2. Територии засегнати от ЗНТ в Америка (до 2003 г.)**



**Фиг.3. Територии засегнати от ЗНТ в Африка и Европа (до 2003 г.)**

### 3.4. Епизоотология на заболяването

Главният път за предаване на инфекцията е чрез ухапване от комари. Вектори на заболяването са комари от р. *Culex*. В зависимост от географския район векторите са различни - в Европа главен разпространител на Треска от Западен Нил е *Culex pipiens*, а в САЩ са - *Culex pipiens* (Източната част), *Culex tarsalis* (Западната и Средна части) и *Culex quinquefasciatus* (Югоизточната част).

Комарите се заразяват при кръвосмучене от болни птици. **Птиците са естествени резервоарни гостоприемници, в които вирусът се размножава в големи количества. Поради висока степен и дълго продължаваща виремия (от 20-100 дни), заразените птици представляват първичен източник на инфекцията за кръвосмучещите комари, които чрез акта на ухапване заразяват други птици, а също така хора и коне.**

През 2004 г. бе доказано (списание "Science"), че представителите на р. *Culex* в Европа са разделени в две популации - **едната се храни с кръв от птици, а другата – от коне, хора и други бозайници.** Направените проучвания в Северна Америка показват, че 40% от изследваните комари от този род са **хибриди между двата типа, което обяснява в известна степен по-бързото разпространение на Треска от Западен Нил в САЩ.**

В организма на бозайниците вирусът не се размножава толкова лесно (не се развива високо степенна виремия по време на инфекцията) и се смята, че те не могат да бъдат източник на инфекцията. **Много автори определят бозайниците като гостоприемници в края на епизоотичната верига („dead-end hosts”) (95).**

Вирусът е изолиран от умрели птици от най-малко 138 вида, принадлежащи към разредите Врбчоподобни (*Passeriformes*), Дъждосвирцоподобни (*Charadriiformes*), Совоподоби (*Stringoformes*) и Соколоподобни (*Falconiformes*). Птиците от семейство *Corvidae* (врани и сини сойки) са особено възприемчиви към вируса на Треска от Западен Нил (95).

В САЩ през 2002 г. бяха разкрити няколко нови и важни за епидемиологията на заболяването начини на предаване на инфекцията, като **кръвопреливане, трансплантация на органи, интраутеринно и чрез кърмене.** Има докладвани случаи на заразени лабораторни работници, които са се наранили (порязали) по време на извършване на аутопсия (89). От 2003 г. кръвните банки в САЩ рутинно изследват даряваната кръв за наличие на вируса. Като предпазна мярка Националната Кръвна Банка на Великобритания изследва донорите, които даряват кръв в рамките на 28 дни, след пътуване до САЩ и Канада.

В регионите с умерен и субтропичен климат хората най-често се заразяват през лятото и началото на есента. В тропическите зони инциденти на заболели хора от Треска от Западен Нил се наблюдават по-често през дъждовния сезон, когато има благоприятни условия за размножаването на комарите. **Въпреки, че не съществува възрастова и полова предразположеност към заболяването, по-голямата част от случаите на енцефалит и смърт са наблюдавани при възрастни хора.** В Австралия са установени само спорадични случаи на енцефалит, причинен от *Kunjin* вирус (субтип на вирус на Треска от Западен Нил) (90).

През 1996 г. в Румъния като вектор на инфекцията е установен *Culex pipiens*. Всички заразени места са изобилствали от представители на този род комари, включително птичите навеси, къщите и особено жилищните блокове, много от които са имали течове по водопроводната система и застояла вода в мазетата (90).

През 1950 г., е направено проучване в Египет и са установени два противоположни начина на протичане на инфекцията. В местности, където вирусът циркулира от много години заболяването се манифестира като често срещано заболяване сред децата, протичащо като лека треска без усложнения, което лесно може да се сбърка с останалите фебрилни състояния (малария). Установено е, че в ендемични за заболяването райони в Африка естествено придобитият имунитет между децата е 50%, а между възрастните - 90 %. **В местности, където хората нямат естествено придобит имунитет към заболяването (северните части на регионите с умерен климат), срещата на вируса със застаряваща популация хора води до превес на случаите на менингоенцефалит.** В тези райони, проучвания върху естествено придобитият имунитет при хората показват ниски стойности на серопревалентност - 2-4% в Букурещ (1996 г.) и 3 % в Ню Йорк (1999 г.) (88,90).

Фактори, които благоприятстват разпространението на инфекцията са извършването на дейности на открити места, липсата на прилагане на репеленти и наличието на открити водни басейни около жилищните области, които представляват места за размножаване на комарите (90). Избухването на заболяването в Букурещ и околностите през 1996-1997 г. е една от най-големите епидемии на арбовирусна инфекция в Европа, при която са регистрирани над 500 клинични случая на заболели хора, а смъртността е била 10%. Тази епидемия е доказателство, че вирусните заболявания, предавани се чрез комари, могат да засегнат голям брой възприемчиви организми, дори и в региони с умерен климат (90).

### 3.5. Клинична картина

**При човека** - при хората ЗНТ обикновено протича с фебрилна реакция, като грипоподобно заболяване, включващо треска, главоболие, конюнктивит, ретробулбарен синдром, мускулни болки, а в някои случаи и с кожни обриви и отичане на лимфните възли. Признаците на по-тежки инфекции включват силна треска, схващане на врата, мускулна слабост, конвулсии и парализи. Смъртните случаи, свързани с тежките инфекции, варират от 3% до 15% и са най-чести при по-възрастните индивиди. В повечето случаи заболяването протича асимптомно или като внезапно започваща треска, главоболие, болки в гърба, миалгия и анорексия, които продължават 3-6 дни. При половината от пациентите се установяват еритемни и макулопапулозни обриви, които започват от лицето и торса, и преминават след седмица. Често срещана е и генерализираната лимфоаденопатия. Рядко установявани са миокардит, панкреатит или остър хепатит (90). Около 1 на 150 заразени човека развиват тежка форма на заболяването, със засягане на ЦНС - менингит, енцефалит, менингоенцефалит, проявяващи се с промени в поведението (раздразнителност, обърканост, дезориентация), гадене, повръщане, депресия, летаргия, тремор, клонични гърчове. Рядко срещани признаци са припадъците, миелитът и полирадикулитът. Енцефалитът, придружен с тежка обща отпадналост и промени в съзнанието, определя леталният изход на заболяването (90).

**При конете** инкубационният период на заболяването е 2-10 дни. При по-голямата част протича с треска, обща отпадналост, мускулен тремор, атаксия, които преминават след около 10 дни (5). При тежката форма се наблюдават залежаване, парези, парализи, припадъци, кома. При тази форма на протичане на заболяването изходът обикновено е летален (85). При изследване на кръвта (диференциална кръвна картина и биохимично изследване) не се установяват отклонения в изследваните показатели (85). Наблюдава се и субклинична форма на протичане на ЗНТ, при която не се установяват клинични симптоми и заболяването се диагностицира само чрез лабораторни изследвания.

**Дивите птици**, инфектирани с вирус от Западен Нил се откриват най-често мъртви, въпреки това не е изготвено пълно описание на клиничните признаци. **Птиците се намират най-често умрели, без да се наблюдават клинични признаци** (86). Същото се отнася и за клиничните признаци при кучета, котки, прилепи, домашни зайци и домашни птици, които също са недостатъчно добре описани.

**При домашните птици** заболяването започва с депресия и атаксия, манифестираща се с липса на тонус на шийната мускулатура (86).

Съществуват сведения за заболяване и смъртен случай от енцефалит, предизвикан от вирус от Западен Нил, при възрастно **куче** в Илинойс през септември 2002 г.. Кучето вероятно е било с потисната имунна система. Инфекция с вирус от Западен Нил е демонстрирана преди това върху кучета, но нито едно не е проявило клиника на заболяване. Вирус от Западен Нил е изолиран от скитащо **коте** в Ню Джърси през 1999 г., както и при две котки в Ню Йорк през 2000 г. Трите котки са били тежко болни и са умрели. Тъй като заболяването, предизвикано от вирусът от Западен Нил, при домашни любимци е доста рядко, то кучета и котки, демонстриращи неврологични признаци, би трябвало да се преглеждат по-скоро за други по-често срещани заболявания, включително и бяс. Ако домашен любимец покаже признаци на треска, депресия, липса на координация, мускулна слабост или спазми, парези или парализи, то ветеринарният лекар би трябвало първо да изключи заболяването бяс, а след това животното да изследва за заболяването ЗНТ.

**По всичко личи, че повечето животински видове, макар и инфектирани, не развиват в достатъчна степен клинични признаци на заболяването.**

### 3.6. Патологоанатомични изменения

При хистопатологично изследване на срези от главен и гръбначен мозък от коне, оцветени с хематоксилин - еозин се наблюдава остър менингоенцефалит, умерена инфилтрация с лимфоцити около кръвоносните съдове и огнищни струпвания на нервни клетки (85). При патологоанатомично изследване на гъски, заболели от ЗНТ в Manitoba (Канада) са установени асептичен енцефалит, с умерена периваскуларна инфилтрация с лимфоцити, огнищна глиоза, дегенерация на невроните, сателитоза, високостепенна генерализирана некроза на далака, панкреаса и черния дроб (86).

### 3.7. Диагноза

Диагнозата на заболяването е трудна само въз основа на клиничните признаци, патологоанатомичната находка и епизоотологичното обследване, поради многообразните и нетипични клинични признаци, нехарактерните патологоанатомични изменения и високият % асимптомно протичане на заболяването. Насочващи към диагноза ЗНТ могат да бъдат наличието на смъртност сред птиците в района (най-вече на представителите от сем. *Corvidae*), наличието на вектори на заболяването от р. *Culex* и констатиране на грипоподобно заболяване или менингоенцефалит сред хората. Окончателната диагноза се поставя след извършването на лабораторни изследвания.

**Серологични методи.** Наличието на антитела може да бъде установено чрез ELISA (*enzyme – linked immunosorbent assay*), РВХА (реакция възпиране на хемаглутинацията) и плакообразуващия метод (*plaque reduction neutralization*). Широко приложение в съвременната диагностика на заболяването намира ELISA методът, който е лесен и бързо приложим. (индиректна, компетитивна, „сандвич” с ELISA). Съществуват два вида китове - Ig M capture ELISA и Ig G ELISA.

**Компетитивна ELISA.** Използва се за доказване на антитела срещу вируса на ЗНТ. Полистиреновите плаки са натоварени с пречистен вирусен антиген. Тази ELISA се използва за откриване на IgM антитела в конски и птичи серуми, които могат да се установят от 7-10 дни до 1-2 месеца след естествено заразяване с вируса и е подходяща при извършването на рутинни изследвания (*screening test*). Повечето коне с енцефалит, дължащ се на заразяване с вируса на ЗНТ, са положителни при изследване с компетитивна ELISA скоро след началото на клиничните признаци. Подходящ материал за изследването е кръвна проба, взета в началото на заболяването.

**Индиректна ELISA** за доказване на антитела срещу вируса на ЗНТ Полистиреновата плака е натоварена с anti-prM-E моноклонално антитяло. Описаната техника се използва за откриване на IgG антитела в конски серуми, които могат да се установят до 1 година след прекарване на инфекцията. При интерпретацията на резултатите трябва да се вземе в предвид, че наличието на положително реагиращи серуми може да е вследствие на проведена ваксинация срещу ЗНТ или на кръстосаната реакция с представители от антигенната група на *St. Louis* енцефалит. Като материал за извършване на изследването служат двойни кръвни проби, взети в началото на заболяването и 14 дни след вземането на първата проба. Четирикратното покачване на титъра на антителата е доказателство за наличие на инфекция.

**Плако-редукционен метод (plaque reduction neutralization - PRN)** Техниката на плакообразуване е разработена от *Dulbecco* (1952). Базира се на способността на вирусите да образуват плаки под плътна хранителна среда в монослойни култури. Плаките представляват групи от дегенерирани клетки, които не се оцветяват с витални бои (неутрално червено) и се виждат като бели петна на фона на червеникавия монослой (82). Плакоредукционният метод се използва за доказване на антитела срещу вируса на ЗНТ. При наличие на антитела в изследваните проби те се свързват с вируса на ЗНТ и образуването на плаки се потиска.

Методът на плакообразуване е най-чувствителният серологичен метод, но трябва да се има в предвид, че както при него, така и при ELISA, съществува кръстосана реакция с други представители на рода *Flavivirus*, като *St. Louis* вирусен енцефалит и Японски вирусен енцефалит. За целта при извършването на реакцията може да се направят паралелни тестове с вирусите на *St. Louis* вирусен енцефалит и Японски вирусен енцефалит (94).

### Вирусологични методи

**Вирус изолация - Поради наличието на сходни клинични признаци е задължително предварително пробите от коне да бъдат изследвани за бяс, след което да се пристъпва към изолацията и идентификацията на вируса на ЗНТ!**

Подходящите за изследване материали (главен и гръбначен мозък от коне, сърце, черен дроб от птици) се нарязват със стерилни инструменти на малки парченца с големина около 1cm x 1 cm, след което се хомогенизират с кварцов пясък, PBS и антибиотици (пеницилин, стрептомицин). С хомогенизираната смес се инокулират чувствителни клетъчни линии - Vero, RK-13. Клетъчните култури се инкубират при 37°C и се наблюдават ежедневно в продължение на 14 дни за наличие на цитопатичен ефект (ЦПЕ). За визуализиране на ЦПЕ се използва общ за представителите на р. *Flavivirus* поликлонален антисерум, маркиран с флуоресцин-изотиоцианат или специфични за вируса на ЗНТ моноклонални антитела (IgM H5-46 и IgG 7H2), след което се наблюдават на флуоресцентен микроскоп. Клетките, които не показват ЦПЕ, в рамките на 14 дни, се пасират повторно и се наблюдават за наличие на ЦПЕ (88,93). Подходящи материали за извършване на вирус изолация са главен и гръбначен мозък от коне с клинични признаци

на енцефалит или главен мозък, сърце и черен дроб от умрели птици. При извършване на реакцията трябва да се знае, че изолацията на вируса е по-лесна от органните проби от птици. Препоръчително е в лабораторията да се изпрати цяла глава от кон, тъй като по този начин се елиминира рискът от заразяване с бяс, запазва се вирусния титър и се свежда до минимум рискът от вторично замърсяване на материала (87,94).

### **Молекулярно-биологични методи**

В диагностиката на вирусните заболявания по животните все по-голямо приложение намират молекулярно-биологичните методи и най-вече PCR (*polymerase chain reaction* - полимеразна верижна реакция). В реакцията се използват най-малко два праймера - *forward primer*, които определят началото на фрагмента за амплификация и *reverse primer*, определящ края на фрагмента. Високочувствителен метод за детекция на НК в проби от животни и най-вече в проби от коне е **гнездовата (“nested”) PCR (RT-nPCR)**. При него се използват две двойки праймери, които се добавят в две последователни стъпки на PCR реакцията. Използването на RT-nPCR увеличава специфичността на реакцията и е подходящ за амплификация на дълги ДНК фрагменти.

Широко приложение в диагностиката на терен намират **имунохроматографските методи**. Разработен е такъв метод за установяване на антигена на вируса на ЗНТ в проби от комари на фирмата Medical Analysis Systems (Vec Test<sup>®</sup>). Принципът на метода се базира на свързването на наличният в пробата антиген с маркирано със златни частици антителило, при което се образува антиген-антитяло-златни частици комплекс. При миграцията на тези комплекси през тест зоната те се свързват с намиращите се в нея имобилизирани антитела срещу вируса на ЗНТ и образуват имунни комплекси. Несвързаните маркирани антитела преминават през тест зоната и могат да бъдат отчетени в контролната зона. Наличието на червено-пурпурна линия в тест зоната означава положителна реакция. Методът се използва с успех за първоначално определяне на потенциално опасните места на наличие на заболяването и контрол на извършената дезинсекция. При направено проучване на чувствителността и специфичността на метода, при използване на проби (клоакални и трахеални тампони) от умрели птици (гарвани, свраки, врани, сойки ) е установено, че методът е особено подходящ за трахеални тампони от врани, като специфичността в случая е 83,9%, а чувствителността - 93,6%, което го прави подходящо средство за изготвяне на надзорни програми (92).

### **3.8. Диференциална диагноза**

Диференциалната диагноза включва разграничаване от заболяването бяс по животните, протозоен миелоенцефалит, Западен енцефалит по конете, ринопневмонит по конете (EHV-1), чернодробни заболявания (хепатоенцефалопатия). Клиничните признаци на ЗНТ могат да бъдат сходни на тези при беса, но при него винаги се установява прогресиране на клиничните симптоми. При Западният енцефалит по конете лезиите в краниалните дялове на ЦНС са по-тежки, поради което и клинични признаци като промени в поведението на животните и гърчовете са често срещани при това заболяване. При случаи на хепатоенцефалопатия се установяват апатичност, иктерус, сънливост и промени в биохимичните показатели на кръвта. Разграничаването на ринопневмонит и Западен енцефалит по конете от ЗНТ може да се направи при серологично изследване на кръвни проби (85).

### **3.9. Лечение**

Няма разработено лечение на ЗНТ. Прилага се общо укрепваща терапия, в която могат да бъдат включени и нестероидни противовъзпалителни средства. Болните животни се поставят при подходящи хигиенни условия, изолирани, без шум и други

дразнители. При необходимост конете се настаяват в люлки. Противопоказно е прилагането на кортикостероидни препарати (84).

#### 4. Роля на комарите като вектори в разпространението и природната огнищност на болестта

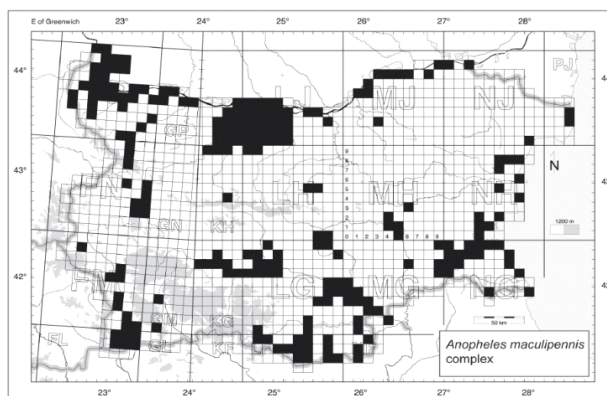
##### 4.1. Проучвания за вектори на ЗНТ в България

По данни на Националният център по заразни и паразитни болести, в България основни потенциални преносители на вируса на ЗНТ са 8 вида комари: *Anopheles maculipennis complex*, *Aedes cinereus*, *Aedimorphus vexans*, *Ochlerotatus cantans*, *Culex modestus*, *Culex perexiguus*, *Culex pipiens* и *Coquillettidia richiardii* (Фиг.4.и 5). Според местообитанието и значимостта за пренасяне на вируса на ЗНТ в България, тези 8 вида комари могат да се разделят на три групи:

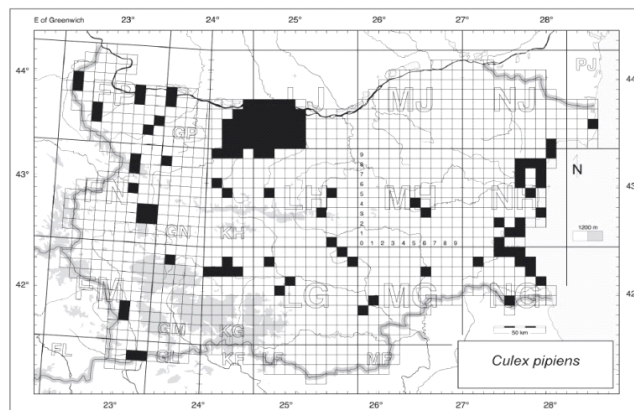
1. Обитаващи територията на цялата страна - *Anopheles maculipennis complex* и *Culex pipiens*, включително и по границата с Румъния и Гърция.

2. Обитаващи големи територии предимно в Северна България и Черноморието - *Culex modestus* и *Aedimorphus vexans*.

3. Обитаващи малки, но важни в епизоотично отношение територии (по границата със страни с установена ЗНТ) - *Aedes cinereus* и *Coquillettidia richiardii* - по цялото протежение на река Дунав; *Culex perexiguus* - на ограничена територия на границата с Гърция; *Ochlerotatus cantans*- по Черноморието.



Фиг.4. Разпространение на районите с *Anopheles maculipennis complex*



Фиг.5. Разпространение на районите с *Culex pipiens*



## 4.2. Екология на инфекциите със ЗНТ

### Кръвосмучещи вектори

Комарите и най-вече тези, които главно се хранят чрез кръвосмучене от птици, са принципният вектор на заболяването ЗНТ. Вирусът на ЗНТ е бил изолиран от 43 комарни вида, доминирани от *рода Culex* (Табл. 1).

Табл 1. Изолиране на вирус на ЗНТ от хематофагни артроподи

Вид комар	Но	Изолиран в страна
<i>Culex antennatus</i> <sup>a</sup>	6	Egypt, Madagascar
<i>decens</i> group	8	Madagascar
<i>ethiopicus</i>	1	Ethiopia
<i>guiarti</i>	1	Cote d Ivoire
<i>modestus</i>	3	France, Russia
<i>neavei</i>	4	Senegal, South Africa
<i>nigripes</i>	1	Central African Republic
<i>perexiguus</i>	1	Israel
<i>perfuscus</i> group	3	Central African Republic, Senegal
<i>pipiens</i> <sup>a</sup>	7	South Africa, Egypt, Israel, Romania, Czechland, Bulgaria <sup>b</sup>
<i>poicilipes</i>	29	Senegal
<i>pruina</i>	1	Central African Republic
<i>quinquefasciatus</i> <sup>a</sup>	7	India, Pakistan, Madagascar
<i>scottii</i>		Madagascar
<i>theileri</i> <sup>a</sup>		South Africa
<i>tritaeniorhynchus</i> <sup>a</sup>		Pakistan, India, Madagascar
<i>univittatus</i> <sup>a</sup>		Egypt, Israel, South Africa, Madagascar

<i>vishnui</i> <sup>a</sup> group	India, Pakistan
<i>weschei</i>	Central African Republic
sp.	Egypt, Algeria, Central African Republic
<i>Coquillettidia</i> <i>metallica</i>	Uganda
<i>microannulata</i>	South Africa
<i>richiardi</i>	South Russia, Bulgaria <sup>b</sup>
<i>Mansonia</i> <i>uniformis</i>	Ethiopia
<i>Aedes aegypti</i> <sup>a</sup>	Madagascar
<i>africanus</i>	Central African Republic
<i>albocephalus</i>	Madagascar
<i>albothorax</i>	Kenya
<i>cantans</i>	Slovakia, Ukraine, Bulgaria <sup>b</sup>
<i>caspius</i> <sup>a</sup>	Ukraine
<i>circumluteolus</i>	South Africa, Madagascar
<i>excrucians</i>	Ukraine
<i>juppi+caballus</i>	South Africa
<i>madagascarensis</i>	Madagascar
<i>vexans</i>	Senegal, Russia
<i>Anopheles</i> <i>brunnipes</i>	Madagascar
<i>coustani</i>	Israel
<i>maculipalpis</i>	Madagascar
<i>maculipennis</i>	Portugal, Ukraine
<i>subpictus</i>	India
sp.	Madagascar
<i>Mimomyia</i> <i>hispida</i>	Senegal
<i>lacustris</i>	Senegal
<i>splendens</i>	Senegal
sp.	Senegal
<i>Aedeomyia</i> <i>africana</i>	Senegal
<b>Меки кърлежи</b>	
<i>Argas hermanni</i> <sup>a</sup>	Egypt

<i>Ornithodoros capensis</i> <sup>a</sup>	Azerbaijan
<b>Твърди кърлежи</b>	
<i>Hyalomma marginatum detritum</i>	Astrakhan, Azerbaijan
<i>Rhipicephalus turanicus muhsamae</i>	Turkmenistan
<i>Amblyomma variegatum</i>	Azerbaijan
<i>Dermacentor marginatus</i> <sup>a</sup>	Central African Republic
	Central African Republic
	Moldavia

В Африка и Близкият Изток главен вектор на ЗНТ е *Cx. univittatus* (освен това *Cx. poicilipes*, *Cx. neavei*, *Cx. decens*, *Aedes albocephalus*, or *Mimomyia* spp. играят важна роля в определени региони). В Европа компетентни вектори за ЗНТ са *Cx. pipiens*, *Cx. modestus* и *Coquillettidia richiardii*. В Азия - *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. tritaeniorhynchus* и *Cx. vishnui* пре. Експериментално предаване на вирус на ЗНТ е описано още при *Culiseta longiareolata*, *Cx. Bitaeniorhynchus* и *Ae. albopictus* (101,105). **Трансовариално предаване на вируса на ЗНТ в ниски количества е демонстрирано при *Cx. tritaeniorhynchus*, *Ae. Aegypti* и *Ae. Albopictus*.**

Случайно, вирус на ЗНТ е изолиран и от други хематофагни кърлежи, както меки, така и твърди, паразитиращи по птиците - аргасови (меки) или амблиомни (твърди) (Табл. 1), както и експериментално е възпроизведено предаване на вируса на ЗНТ при кърлежите *Ornithodoros savignyi*, *O. moubata*, *O.maritimus*, *O. erraticus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *R. rossicus*, *Dermacentor reticulatus*, and *Haemaphysalis leachii* (101,105).

### Гръбначни гостоприемници

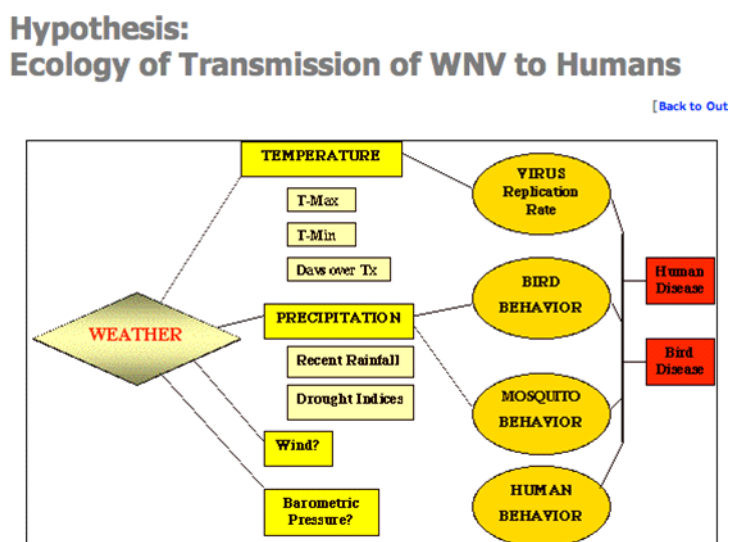
Дивите птици са основния гостоприемник на вируса на ЗНТ. Вирусът е изолиран от голямо количество птици, обитаващи влажните територии или от сухоземни птици. (100-103,106-108). При тях е установена достатъчна по степен и продължителност вiremия, даваща възможност да се заразяват векторите – комари. (100.109,110). **Вирусът перзистира в органите на инокулирани гъски и гълъби от 20-100 дни.** (110). Мигриращите птици пък са инструментът за пренасянето на вируса през периода на пролетната миграция на север от Африка към Европа и Азия (104,106-108 ,109, 111).

Рядко вирусът на ЗНТ е бил изолиран от бозайници (*Arvicanthis niloticus*, *Apodemus flavicollis*, *Clethrionomys glareolus*, сентинелни мишки и хамстери, европейски кафяв заек, *Rousettus leschenaulti*, камили, крави, коне, кучета, *Galago senegalensis*, хора) в ензоотичните огнища (101-103). Бозайниците са по-малко важни в епизоотологията на ЗНТ, отколкото птиците за поддържането на цикъла на предаване на вируса в екосистемите. **Само конете и лемурите (112) имат умерена вiremия** и изглежда поддържат локалната циркулация на вируса на ЗНТ. Жабите (*Rana ridibunda*) и те могат

да приютяват вируса, като тяхното донорство за вируса към *Cx. pipiens* също е било потвърдено (112).

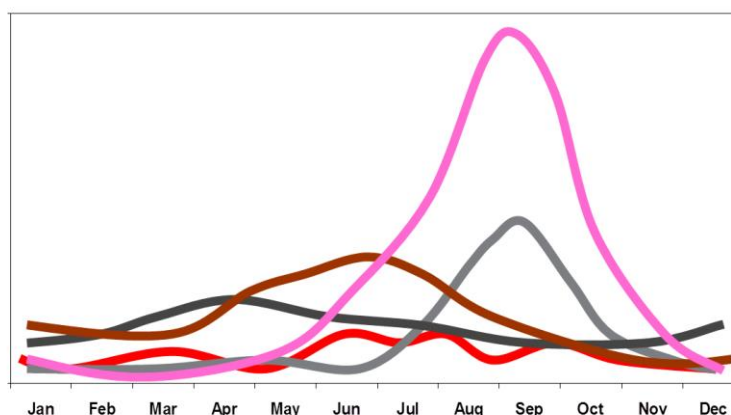
#### 4.3. Екологични фактори, свързани с цикъла на предаване на вируса на ЗНТ

*Вирусът на ЗНТ се поддържа като ензоотично циклиращ агент, първично между птици гостоприемници и комари, играещи ролята на вектори [10].* Ролята на прелетните мигриращи птици за пренасянето на вируса и интродуцирането му в Европа и Средиземноморския басейн много ясно е оценено от множеството проучвания на испанските автори [42-45, 63, 64], в Израел [65], Полша [63], Румъния [23] и Чешката република [27]. На основата на филогенетичния анализ и сравнителните изследвания след секвентен анализ на целия геном на изолати на вируса на ЗНТ от 1971 и 2004 г., бе доказано повтарящо се интродуциране в Португалия [66]. Съгласно тази хипотеза, мигриращите прелетни птици, които могат да бъдат инфектирани по време на престоя им в Африка, в местообитанията им през зимния сезон могат и да носят вируса на ЗНТ обратно към Европа при завръщането им през пролетния сезон. Тази хипотеза би могла да обясни защо огнищата и епизоотичните взривове на ЗНТ често се наблюдават в/или в близост до влажните територии и урбанизираните територии, където популациите от мигриращи птици, векторите и амплифициращите вируса гостоприемници често са в постоянно присъствие и в завишена плътност (Фиг.6).



**Фиг. 6. Екологични фактори, влияещи на предаването на вирус ЗНТ към хората**

С екологичните фактори, влияещи на предаването на вируса на ЗНТ може да се обясни времето за поява на епизоотични взривове на ЗНТ през месеците април и май с мигриращите птици на север, с последващата амплификация на вируса чрез инфектиране на локалните (резидентните) популации от птици и евентуално на откриването на вирусната инфекция при хора и еквида от юли до септември - октомври [68]. Серологичните проучвания, проведени в Испания край Севиля през 2004 г. (Фиг.7), [44] откриват специфични антитела срещу вируса на ЗНТ при 3 вида мигриращи птици на далечни разстояния от Суб-Сахара (*Lanius senator*, *Phoenicurus phoenicurus*, *Sylvia borin*) и при един резидентен вид (*Turdus merula*).



**Фиг. 7. Сезонна динамика и вариации при арбовирусните инфекции – в розово – за ЗНТ**

Значителният брой вирусологично позитивни резидентни птици, установени в Италия през 2008 г. сврака (*Pica pica*), гарван (*Corvus corone*) и скален гълъб (*Columba livia*) и др. [49] подсказват за възможната роля на тези резидентни птици в поддържането на локалната вирусна циркулация. В този момент обаче поради липсата на данни за продължителността на вирусния период при тези видове за сега не дава възможност да се направят окончателни и по-категорични заключения за възможният принос на тези птици в епидемиологията на ЗНТ, и най-вече за поддържането на инфекцията в междуеписоотичните периоди.

Що се отнася до вирусната циркулация и трансмисия в популацията от птици, съществува възможност вирусът на ЗНТ при враните [68] и гъските [69] да се предава и по друг начин освен с артроподни вектори. Тези проучвания обаче са провеждани само в САЩ с щамове, изолирани в района на Ню Йорк 1999 г. и Израел – 1998 г. Няма подобни наблюдения или експерименти в Европа или с други щамове на вируса на ЗНТ. Ролята на резидентните птици в епидемиологията на ЗНТ не е ясна, но повече информация е налична относно векторите. Вертикалното предаване на вируса на ЗНТ при комарите (т.е. преминаването на вируса при женските към потомството) е демонстрирано лабораторно [69, 70] и на терен [71]. В допълнение, откриването на вируса на ЗНТ в сборни улови (пулове) от комари *Culex pipiens*, презимуващи комари в Ню Йорк през 2000 г. [72] ясно показват свойството на вируса на ЗНТ да презимува и да преживява в хибернатизирани комари. Преживяването на възрастните комари през зимата или тяхната понижена активност през зимните месеци, понякога се наблюдава и в Средиземноморските страни и други по-благоприятни температурни зони [73-75]. Ензоотичният цикъл може да перзистира (да съществува постоянно) на дадена географска ширина от една до следващата година, без някаква външна изява на доказателство за неврологични признаци при конете и хората. Този феномен често е наблюдаван на различни места в Европа (Испания, Португалия, Русия, Турция и др.). В Италия, надзора извършен в периода 2001-2007 г. в 15 различни области с влажни зони бе в състояние да открие спорадична циркулация на вируса на ЗНТ в различни региони на страната чрез наличието на сероконверсия при сентинелни птици и коне [47, 76]. Във всички случаи доказателството за навлизането на вируса на ЗНТ и циркулацията му сред тях не е била последвана от широка епидемична вълна или установяване на неврологични случаи, както при конете, така и при хората. **Това се базира и на наблюдениято, че инфекцията с вируса на ЗНТ е много тясно свързана с влажните територии, появата, прелета и гъстотата на птичата популация, и най-вече на мигриращите птици** [42, 64, 65, 77]. Механизмите, водещи до прехвърлянето на

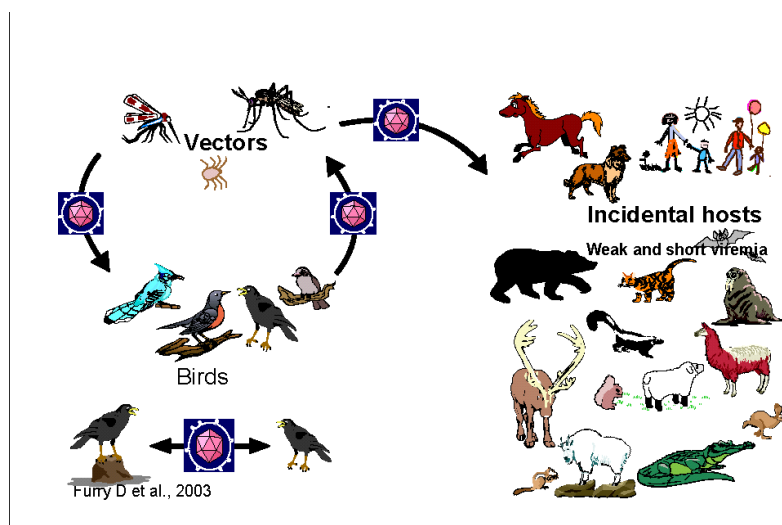
вирусната инфекция към хората и конете не са напълно изяснени. Счита се, че важна е ролята на повсеместно разпространените популации от комари, хранещи се както от хората, така и от птиците [9] **и особено видовете от *Culex pipiens species complex***. Той включва *pipiens* и *molestus* форми, които имат варираща степен на орнитофилност и антропофилност, респективно и могат да изпълняват ролята на вектори с много висок потенциал за разпространение на вируса на ЗНТ [78]. В Португалия, и двата вида, *pipiens* и *molestus* формите взаимно могат да се подпомагат и да повишават своята активност като вектори [79], но също така и с участието на резидентни птици, като гълъби [49], които са чести обитатели на урбанизираните територии. Други и по-основни екологични и социални промени в поведението им могат да увеличат честотата на контактите между хората и дивите птици, което да улесни инфектирането на хората. Освен това е ясна връзката между вируса на ЗНТ и влажните територии, като два епизоотични взрива бяха докладвани в Европа при населени с хора зони в Букурещ [19] и Волгоград [26]. Болшинството от пациенти (61%), инфектирани по време на епизоотията от ЗНТ през 1996 г. живеят в региона на Букурещ [19]. *Culex pipiens* е бил преобладаващият вид комари. Жилищните блокове са били най-тежко инфектирани поради наличието на теч от тръбите и наличието на застояли води в приземните етажи [19]. При епидемията във Волгоград през 1999 г. приблизително 65% и 30 % от случаите при хората са от Волгоград и Volzhskii urban areas, респективно и само 5% се откриват в селата около Волгоград [26]. Голямата градска епидемия от ЗНТ в Ню Йорк през 1999 г. е била с 59 хоспитализирани и 7 смъртни случая [9]. Големият капацитет на вируса да предизвиква градски епидемични взривове се потвърждава с наблюденията за нарастване на случаите на взривове от болестта в урбанизираните и гъсто населени райони на САЩ. **Изводът е, че урбанизацията става важен рисков фактор за проявата на ЗНТ в САЩ** [80]. Не бива обаче да се забравя, че както еквидите, така и хората са случайни и крайни гостоприемници на вируса на ЗНТ с незначителна роля за по-нататъшното развитие на епизоотичния процес[81].

Естествените огнища на ЗНТ в палеарктичното пространство главно са разположени във влажните екосистеми - делтите на реките и наводнените полета и се характеризират с така наречения птица-комар цикъл циркуляция на вируса. Аргасовите и амблиомните кърлежи могат да подпомагат (спомагателно и допълнително) осъществяването на цикъла на циркуляция птица-птица, особено в някои екосистеми, характеризиращи се с по-сухи и топли местообитания на птиците, където липсват комари. Дори цикълът жаба-комар (112) може да функционира при определени условия в дивата природа.

В Европа, трансмисията на вируса на ЗНТ е потвърдена по два основни начина на циркуляция в екосистемите: горски (sylvatic) цикъл, осъществяван от дивите влаголюбиви птици и орнитофилните комари. При градска циркуляция се осъществява предаване на вируса между синантропните или домашните птици и комарите, хранещи се както от птиците, така и от бозайниците (хора и коне). Тук вектори са главно *Cx. pipiens/molestus*. Такъв е бил градският цикъл на предаване, който е доминирал в Букурещ, Румъния (98,99) по време на епидемичния взрив през 1996-97 г. Циркуляцията на ЗНТ в Европа е подобна на тази, наблюдавана при енцефалита *St. Louis* в Северна Америка, където горският цикъл на циркуляция между синантропните птици и *Cx. tarsalis* е алтернативен на градския цикъл между синантропните птици и *Cx. pipiens*.

Екологичната циркуляция на предаваните чрез комари арбовирусни инфекции е сложна и при ЗНТ тя не е изключение. Сега е известно, че вирусът на ЗНТ се поддържа първично от птичата популация чрез комарите. Птиците са естественият гостоприемник на вируса и освен това инфекцията може да бъде фатална за много естествени и екзотични видове птици. Най-важните птици, въввлечени във вирусната циркуляция и амплификация са дъждосвирците (*Passeriformes*), някои дъждосвирцоподобни

(Charadriiformes). Два вида прерийни птици (*Falconiformes* и *Strigiformes*) имат по-голяма способност да пасират вируса към комарите, отколкото тестваните други групи от птици. Комарите, които помагат да се поддържа цикъла на предаване между птиците, се наричат **поддържащи вектори** (фиг.8).



**Фиг. 8. Основни, спомагателни вектори, гостоприемници и циркуляция на вируса на ЗНТ**

Наблюдава се и предаване на вируса от птиците към човека. Конете и хората се означават като **крайни вектори - "dead-end hosts"**, защото вирусът не циркулира в достатъчни нива в кръвта на тези реципиенти, за да бъде инфекциозен за комарите.

Най-малко 62 вида комари се срещат в региона на Ню Йорк и най-малко 16 от тях, които са били тествани, са се оказали положителни за инфекция с ЗНТ чрез вирус изолация, доказване на нуклеинова киселина или откриване на вирусен антиген.<sup>9</sup> Едно трябва да е ясно, че не е възможно всички те да се инкриминират за компетентни вектори, тъй като това не е достатъчно доказателство за тяхната заразителност, но едно е ясно, че те са били поне един път заразени с вирус ЗНТ. **Някои от тези комари могат да бъдат заразени с вируса, но може да не са способни да пренасят заразата към птиците или хората.**

#### 4.4. Векторна компетентност и капацитет на комарите

Различни критерии трябва да се приложат, за да се определи дали даден комарен вид е **компетентен вектор**, пренасящ вируса на ЗНТ. Критериите за това могат да се обобщят в:

- 1) трябва да има повторна изолация на вируса от естествено нахранени с кръв комари;
- 2) комарният вид следва да е чувствителен на вирусната инфекция и при добре контролирани лабораторни условия да предава инфекцията на чувствителния гостоприемник;
- 3) комарният вид следва да се храни естествено върху естествения си гостоприемник в природата и
- 4) трябва да съществува връзка между активността на комарите и предаването на вируса в природата.

Основавайки се на множество улови на комари и на лимитираните данни за предпочитанията за хранене на комарите, изглежда че **само няколко вида са много важни за поддържането на вируса на ЗНТ при птиците**, докато останалите по-често са

въвлечени за предаването на вируса към човека, конете и другите животни като „бридж вектори“<sup>9,11,12</sup> За района на Ню Йорк са установени: *Culex p. pipiens*, *Culex restuans*, *Culex salinarius*, *Ochlerotatus j. japonicus*, *Ochlerotatus triseriatus*, *Ochlerotatus atropalpus* и *Aedes albopictus*.

***Culex p. pipiens* предпочита да се храни върху птици.** Лабораторните проучвания показват, че този вектор е ефективен вектор за вируса на ЗНТ. Те се основават на лабораторните резултати за *Culex p. Pipiens*, като хранещ се върху птиците комар, на множеството теренни изолати на вируса и лабораторно демонстрираната му векторна компетентност. По всичко изглежда, **че този комарен вид играе ролята на най-важен вектор за поддържане на ЗНТ** при птиците и около жилищните местообитания на птиците. *Culex restuans* също показва потенциал да бъде въвлечен във вирусната циркулация между птиците. Беше показано, че *Ochlerotatus j. japonicus*, *Ochlerotatus triseriatus*, *Ochlerotatus atropalpus*, *Aedes albopictus*, and *Culex salinarius* са компетентни вектори в лабораторни условия. Необходими са и допълнителни лабораторни проучвания, за да изяснят каква е ролята на тези и други комари за предаването на вируса на ЗНТ към хората, конете и другите животни.

Медицинските ентомолози най-често питат имало ли е неотдавна големи дъждове и като резултат на това да се е появила висока активност на вируса на ЗНТ. Друг най-често задаван въпрос е, какво е влиянието на последните горещини за предаването на ЗНТ. Друг е въпросът за влиянието на захлаждането върху вирусната циркулация. На тези въпроси понякога е трудно да се отговори и много изследователи се концентрират върху провеждането на изследвания, имащи за цел установяване на връзката между температурата и количеството на падналите валежи върху екологията на вируса на ЗНТ. **Показано е, че големите количества валежи понякога могат да се свържат със застояли води в контейнери и развъждането на комарите.** Развитието на комарите като студенокръвни инсекти, зависи от средната температура на околната среда. Основно, по-високите температури спомагат за по-бързото развитие на комарите от яйце през ларва до възрастно насекомо. Репликацията на вируса в комара също е температурно зависима. По-студената околна среда води до по-бавна вирусна репликация, докато по-високата – до засилена репликация.

## 5. Исторически данни и епизоотична обстановка в Европа и Средиземноморския басейн

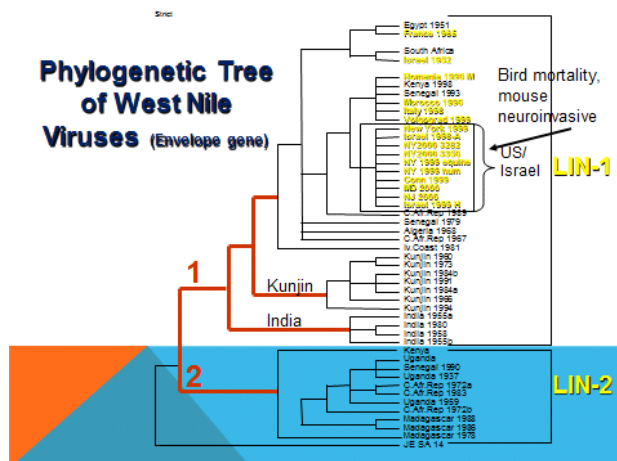
### 5.1. ЗНТ в Европа и Средиземноморието в периода 1979-2012 г.

В последните десетилетия инфекцията от ЗНТ при коне и хора често бе съобщавана в Европа и Средиземноморският Басейн [4, 12]. Тези случаи дават възможност за по-добро проучване екологията на вируса на ЗНТ в условията на Европейския континент. Отделно, следвайки класическия епидемиологичен подход, прилагането на съвременните технологии в диагностиката предполага изследването на генома на циркулиращите на терена вируси с прилагането на най-новите технологии за анализ на генома на щамовете, въвлечени в огнищата на избухване. Стана възможно да се сравняват РНК секвенциите на изолатите и те да се групират в генетични линии и клъстери. Малки различия в РНК секвенциите могат да бъдат открити дори при последващи избухвания, с възможност за проследяване пространственото разпространение на вирусите, нещо което преди това не бе възможно с помощта на конвенционалните серологични тестове.

Доказана е филогенетичната връзка на щамовете от двете основни линии, генетична линия 1, която се състои от щамове WNV от Европа, Америка и Северна Африка и



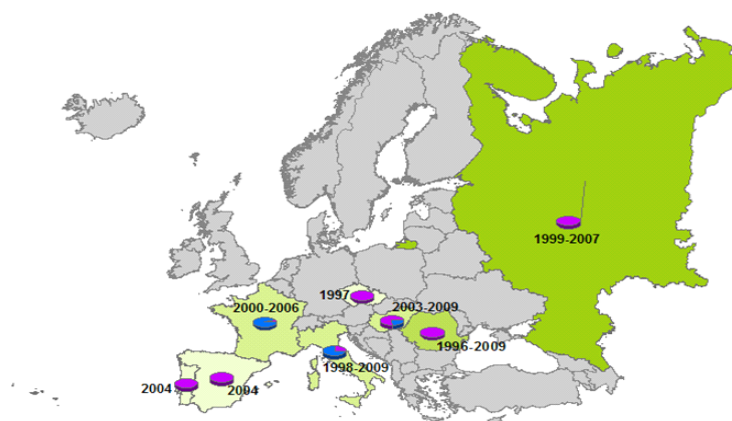
Австралия и генетична линия 2, която съдържа щамове, исторически изолирани в Суб-Сахара Африка. Последните се считат за непатогенни за хора и коне. Третата генетична група вируси, предложена неотдавна, включва вирусът *Rabensburg*, Европейският щам на WNV, изолиран в Чехия. Четвъртата генетична линия съдържа изолати от Кавказ [13]. **Болшинството от щамове, отговорни за огнищата на заболяване от ЗНТ в Европа и Средиземноморския басейн принадлежат към генетична линия 1 (Фиг. 9).**



**Фиг. 9. Филогенетично дърво на вирусите на ЗНТ**

Повечето от тях се групират в клъстер, наречен Европейско-средиземноморско/Кенийски клъстер [14]. Някои други, особено тези отговорни за заболяванията от ЗНТ в Израел, са включени в т.н. Израелско/Американски клъстер. Клъстерите могат да имат важно влияние върху щамовата патогенност. Щамовете, принадлежащи към Европейско-средиземноморско/Кенийският клъстер се характеризират с умерена патогенност за хора и коне и ограничена патогенност за птици. Обратно, щамовете, групирани в Израелско/Американският клъстер се характеризират с висока степен на предизвикана смъртност сред птиците (особено в САЩ) и също с висока заболяемост при хора и коне [15].

Генетична линия 2 включва щамове, които са ендемични за Суб-Сахара и те се считат за щамове с ниска патогенност. Независимо от това, обаче неотдавна бе демонстрирано, че Южноафриканските щамове от генетична линия 2 са способни да индуцират тежки клинични симптоми, както при хора, така и при коне [16] с присъствието на невроинвазивни фенотипове в този клъстер, както бе демонстрирано с т.н. „миши модел“. **Това се дължи на факта, че генотипът на вируса не определя обезателно патогенността и не е задължително да има съвпадение с филогенетичното групиране.** Образно казано няма равенство между патогенност и вирулентност. В литературата главните взривове и доказателствата за наличие на циркулация на вируса на ЗНТ в Европа и Средиземноморския басейн са описани въз основа на географската им принадлежност и принадлежността към съответния генотип (Фиг.10).



**Фиг.10. Огнища на ЗНТ, предизвиквани от щамове на WNDV от генетична линия 1 (Европейско-Средиземноморски/Кенийски клъстер)**

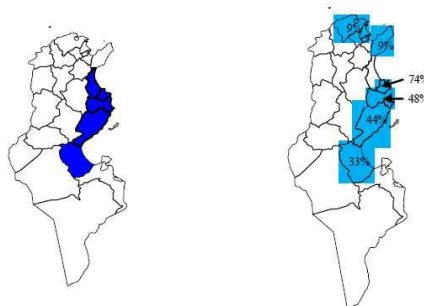
### **Северна Африка**

Между август и септември 1994 г. епидемия от ЗНТ бе установена в Алжир. Около 50 случая са били регистрирани в село от оазиса Timimoun в централна Сахара. Двадесет от случаите са били с енцефалити. Инфекцията е предизвикала 9 смъртни случая [12].

Две години по-късно, от август до октомври, огнище на ЗНТ при коне е описано в провинциите Kenitra и Larache в Мароко. Вирусът засяга 94 животни 42 от тях умират [17]. В Мароко в същите райони, където заболяват хората през предишната година е имало и 9 случая на енцефалити с 5 смъртни случая при коне [14]

Между септември и декември 1997 г. в Тунис, в окръзите Sfax and Mahdia 173 пациенти са хоспитализирани със симптоми на менингит и менингоенцефалит [12, 18]. Докладвани са 8 смъртни случая. (Фиг.11).

### **WND evolution in Tunisia 2003-2007**



**Фиг. 11. Еволюция на вируса на ЗНТ в Тунис в периода 2003-2007 г.**

### **Източна Европа**

От юли до октомври 1996 г. при 393 пациенти, в Букурещ и други региони на югоизточна Румъния, серологично са потвърдени, че са били инфектирани с вирус на ЗНТ. 352 от тях са показвали нервни симптоми и 17 пациенти са умрели [19]. След първите случаи на епидемичния взрив, изследванията проведени в следващите години потвърждават циркулацията на вируса на ЗНТ при хора [20, 21], птици и коне [22, 23].

Година по късно, от юни до септември 1997 г., ЗНТ е потвърдена при 5 пациенти в Южна Моравия, Чехия [24]. В същото време вирусът на ЗНТ е изолиран от сборни проби на комари [24,25].

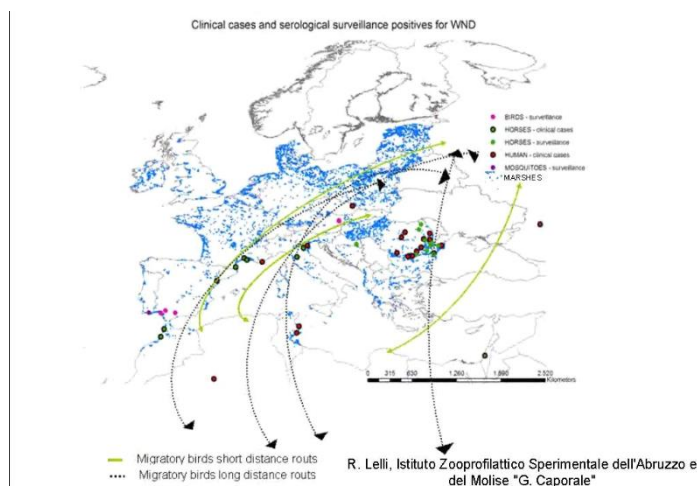
Между юли и октомври 1999 г., епидемия от ЗНТ е регистрирана във Волгоград, Русия, където 826 пациенти са хоспитализирани с клинична диагноза акутен асептичен менингоенцефалит [26]. Кръвните проби, взети от 318 пациентите са потвърдили инфекцията със ЗНТ при 183 от тях, включително и при 40 фатални случая [26].

По-нататъшните проучвания на популациите диви птици във влажните територии на Южна Моравия в Чешката Република, между 2004 и 2006 г., серологично потвърждават присъствието на инфекция с вируса на ЗНТ при 13 (3.3%) от 391 тествани птици. Позитивните серореагенти са принадлежали към 11 вида: белочела водна кокошка (*Fulica atra*; common coot), земеродно рибарче (*Alcedo atthis*; common kingfisher), блатно шаварче (*Acrocephalus scirpaceus*; reed warbler), крайбрежно шаварче (*Acrocephalus schoenobaenus*; sedge warbler), мочурно шаварче (*Acrocephalus palustris*; marsh warbler), тръстикова цвъркач (*Locustella luscinioides*; Savi's warbler), тръстикова овесарка (*Emberiza schoeniclus*; reed bunting), голямо черноглаво коприварче (*Sylvia atricapilla*; blackcap), торбогнезд синигер (*Remiz pendulinus*; penduline tit), син синигер (*Parus caeruleus*; blue tit) и обикновен скорец (*Sturnus vulgaris*; starling) [27]. Информация за нови случаи при хора през 2005 и 2006 г. в регионите на Астрахан и Ростов на Дон (Русия) са отбелязани в системата за оповестяване ProMed mailing system [28, 29].

### **Западна Европа**

Между 1962 и 1965 г., случаи на ЗНТ при хора и коне са открити в района на Camargue (Франция), като вирусът е бил изолиран от комарите *Culex modestus* [30-34]. Преди 1970 г., е била установена епизоотия от енцефаломиелит по конете в Южна Португалия. Неутрализиращи вируса на ЗНТ антитела са установени при 29% от оздравелите животни [35]. През 1971 г. в същият окръг, WNV е изолиран от комари *Anopheles maculipennis* s.l [36]. През 1979 г., инфекция от WNV е била заподозряна в делтата на реката Ебро в Испания [35], и едва 19 години по-късно по-нови проучвания показват наличието на антитела в човешката популация, живееща в тази област на Испания [37]. В късното лято на същата година инфекция с WNV за първи път е доказана при коне във влажни области около Тоскана, Италия [38]. Били са заболели 14 коня, но случаи на енцефалити при хора не са наблюдавани. В областта Camargue (Франция) между септември и ноември 2000 г. инфекция с WNV лабораторно е била потвърдена при 76 еквиди от 131 животни с неврологични симптоми [8], като заболяването е предизвикало смъртта на 21 животни. През 2003 г. по-нататъшни нови случаи на ЗНТ са описани при хора и коне [39] а в 2004 г. - само при коне [40]. През 2004 г. асептичен менингит, предизвикан от WNV е диагностициран в Испания [41]. В три последователни години – 2003, 2004 и 2005 г. проучвания върху прелетни птици - белочела водна кокошка (*Fulica atra*) в Националния парк Донана (Андалусия), доказват наличието на неутрализиращи антитела при птиците [42]. Сероконверсията, установена при повторно уловени птици, поддържа хипотезата за локалната циркулация на вируса на ЗНТ сред тях [41]. По-късните проучвания показват наличието на неутрализиращи антитела срещу вируса на ЗНТ и при други видове мигриращи птици в Южна Испания [43]. През 2004 г. са проведени сравнителни проучвания край Севиля за нивото на неутрализиращи антитела за ЗНТ при мигриращи, прелитащи от по-дълги дестинации, като Суб-Сахара и от резидентни птици [44]. Антитела са открити при 3 вида прелитащи на дълги разстояния (trans-Saharan migratory birds - *Lanius senator*, *Phoenicurus phoenicurus*, *Sylvia borin*) и при един вид резидентна птица (*Turdus merula*) (Фиг.12). **Това наблюдение**

**потвърждава важната роля на прелетните птици за интродуцирането на WNV в този регион, но също така поддържат и хипотезата за локалната вирусна циркулация сред резидентните птици.**

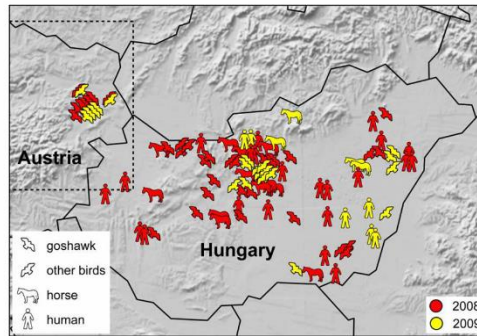


**Фиг.12. Схема на миграционните потоци на дивите птици от далечни и по-близки разстояния, имащи отношение към епизоотологията на ЗНТ**

През лятото на 2004 г. геномна РНК на вируса на ЗНТ бе доказана в комари *Culex pipiens* и *Culex univittatus* чрез RT-PCR при 6 от 57 сборни проби, събрани в Южна Португалия. Филогенетичният анализ демонстрира тясна връзка с щамове WNV, циркулиращи в Средиземноморския басейн (Италия, 1998; Франция, 2000; Мароко, 2003) [45]. През лятото на 2004 г., два свързани случая на ЗНТ също бяха установени при туристи в Algarve, Португалия [46] и вирусът на ЗНТ е бил изолиран от комари от родовете *Culex pipiens* s.l. и *Culex univittatus* [45]. Две години по-късно, 4 случая при коне, заболели от ЗНТ са установени в Argeles sur mer във Френския департамент Pyrénées-Orientales [46]. През август 2008 г., след 10 годишно благополучие голям епидемичен взрив, засягащ 9 провинции от три северни региона на Италия (Emilia Romagna, Veneto, Lombardy) със 794 случая на инфекция с WNV infection при 251 коне са доказани на базата на клинични прегледи и серологично. Само 32 от серологично позитивните коне са показвали клинични симптоми и 5 са умрели [48, 49]. Значителни нива на позитивитет чрез RT-PCR са наблюдавани в свраките (*Pica pica*) (9.1%, 95% ниво на достоверност: 6.1–13.4%), при черните гарвани (*Corvus corone*) (7.4%, 95% ниво на достоверност: 3.6–14.4%) и гълъбите (*Columba livia*) (12.9%, 95% ниво на достоверност: 7.6–21.2%). Първи случаи на ЗНТ при хора с неврологични симптоми са открити в Италия през 2008 г. [50, 51]. Филогенетичният анализ на изолатите показва 98.8% нуклеотидно сходство с щам на вируса, изолиран в Тоскана през 1998 г. [48, 52]. През 2009 г. нова епидемична вълна заля Централна Италия.

### **Израелско/Американски клъстер.**

Различни случаи на ЗНТ при хора са обявявани в Израел през 1950 г. [12]. След това обаче от 1957 г. няма данни за циркулация на WNV в Израел и едва в 1998 г. вирусът е бил изолиран от мозък на щъркел [53], а клинични симптоми са наблюдавани при коне. В 1999 г. хиляди гъски са били унищожени, когато инфекция с WNV е била установена в стокова ферма [54]. По-късно голяма епидемична вълна е докладвана от август до октомври 2000 г. с 417 лабораторно потвърдени случаи при хора [55, 56]. Между 2003 и 2007 г., средно по 6 случая на година от нервноинвазивна инфекция с WNV при хора са диагностицирани в Унгария (Фиг.13), а през 2008 г. са докладвани 14 случая при хора само в периода август-септември [57].



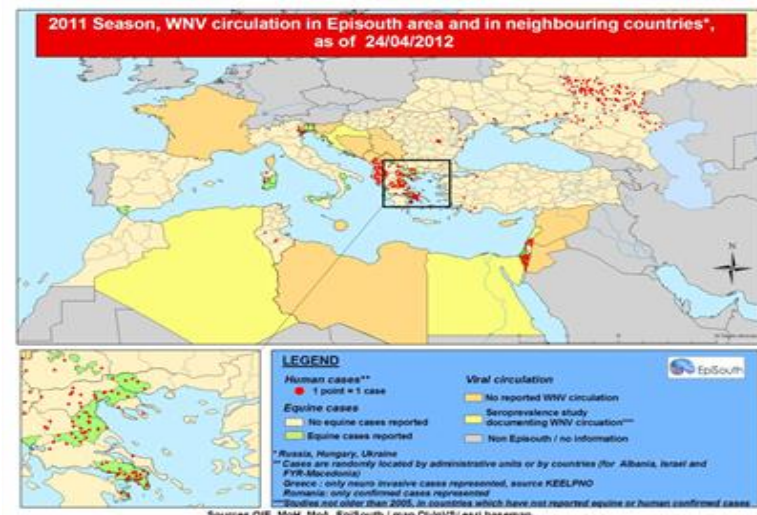
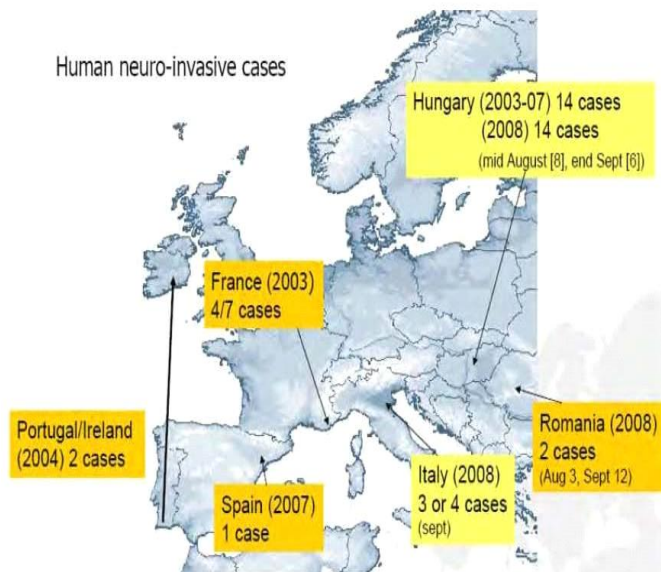
**Фиг.13.Случаи на ЗНТ при хора и коне в Унгария 2008-2009 г.**

### **Огнища, предизвикани от генетична линия 2 на щамове WND**

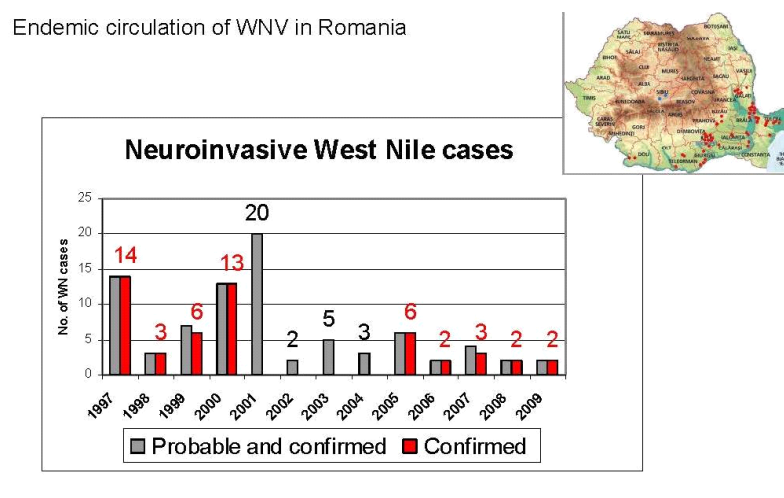
През 2004 г. в Унгария е бил изолиран щам на вируса на ЗНТ от врабец (*Accipiter gentilis*), корелиращ с генетична линия 2 на вируси от Централна Африка и през 2008 г. от два свободно живеещи врабеца (sparrow hawks-*Accipiter* spp.) и една кеа (*Nestornotabilis*) в плен в Долна Австрия (Niederosterreich) и региона на Виена (Австрия) [58]. Това бе първият случай, когато вируси от генетична линия 2 се докладват в Европа. **Тези случаи подчертават възможността вирусът на ЗНТ да бъде пренасян от прелетните птици извън традиционните екологични ниши на вирусна циркулация и да се адаптират към местните „bridge“ вектори [13].**

### **Серологични доказателства за циркулация на WNV в Европа**

По-нататъшни доказателства за предаване на WNV са наблюдавани в Албания (през 1958 г. при хора), в Източна България (1960- 1970 г. при птици и хора), в Беларус (през 1977 г. при хора), в Украйна (през 1970-те и през 1985 г. при хора) и в Молдова (през 1970-те години при хора) [4]. В Гърция серологичните проучвания доказаха антитела срещу WNV сред животни (зайци, кози, крави, коне) и хора през 1970-те и 1980-те години [59], но в същото време при интензивните проучвания на кръвни донори в периода 2006 и 2007 г. не е бил доказан нито един позитивен резултат [60]. Присъствието на инфекция от ЗНТ в Хърватия бе серологично потвърдена в региона на Даково (Източна Хърватия) при 4 от 980 тествани коня в края на 2001 г. и началото на 2002 г. [61]. До сега циркулацията на WNV е потвърдена в Сърбия в регионите на Нови Сад и Войводина. В Полша при проведени серологични проучвания през 2006 г. специфични антитела за ЗНТ са доказани при 3 бели щъркела (*Ciconia ciconia*), един свободно живеещ ням лебед (*Cygnus olor*) и един гарван (*Corvus corone cornix*) [62].



Фиг. 14. Случаи на заболели хора от ЗНТ в Европа в периода 2003-2008 г.



Фиг.15. Случаи на заболели хора от ЗНТ в Румъния в периода 1997-2009 г.

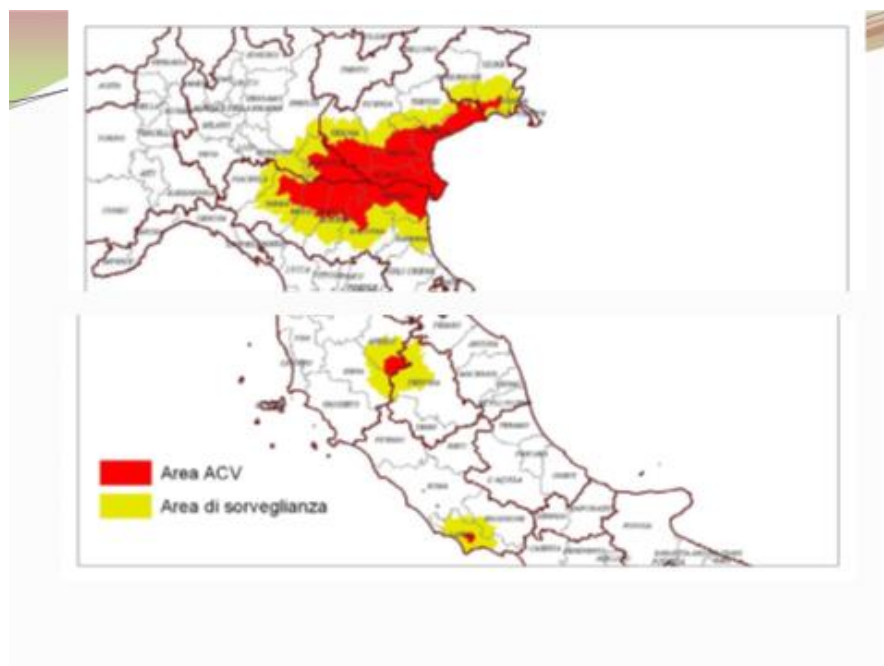
В Румъния заболели хора са регистрирани през 1998, 1999, 2000 г. и 2008 г. (Фиг. 15.), Чехия през 1997, (7 заболели хора), Италия - 1998 г. (3 заболели хора), Русия през 1999 г (826 заболели хора - 40 смъртни случая). От 1999 г до юли 2012 г. в тази страна са регистрирани 1001 заболели хора, от които 52 умрели. Вирусът е разпространен изключително в Астраханска и Волгоградска област.

В Гърция ЗНТ е регистрирана през 2010 г. в областите Thessalia и Kentriki Macedonia - последната граничи с Благоевградска област); през 2011 г. в Atiki Ipeiros, Sterea Ellada, Tessalia, *Kentriki Macedonia*; през 2012 г. - в област Xanthi, граничеща със Смолянска, Хасковска и Кърджалийска области. През 2010 г., предимно в Северна Гърция са диагностицирани 262 заболели хора с 35 смъртни случая, през 2011 г.- 101 заболели - с 9 смъртни случая и до 1 август 2012 г. - 44 с 3 смъртни случая (Фиг. 16.).



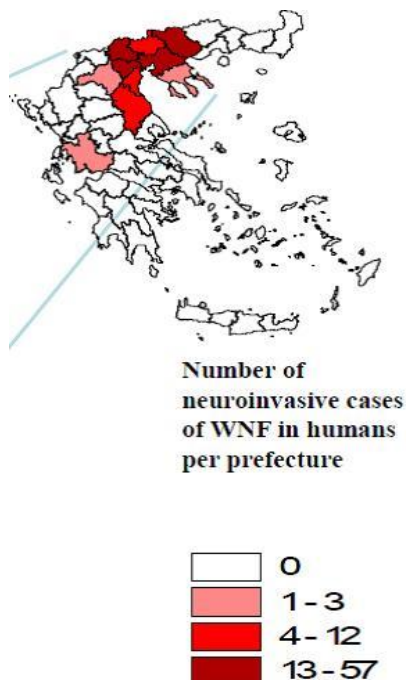
**Фиг.16. Случаи на заболели хора ЗНТ в Гърция 2010 г.**

През юли 2012 г. в Северна Италия (Фиг.17) бе изолиран генетично изменен вирус на ЗНТ (линия 1А), подобен на щамовете изолирани през 2011 г., но различаващ се от тези установени през 2008 – 2009 г. До м. септември 2012 г. са диагностицирани 13 случая при хора, при 5 с нервни признаци и 5 положително реагирани кръводарители.



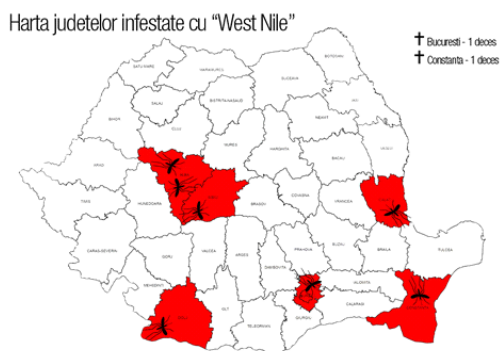
**Фиг.17. Случаи на заболели хора ЗНТ в Италия 2010 г.**

Към 6 септември 2012 г., за текущата година са докладвани 136 случая на западнонилска треска при хора в страни членки на ЕС и 311 случая в трети страни. След 20 август 2012 г. Гърция (Фиг. 18) бяха обявени 12 нови случая в префектури Лefкада - 1, Атики - 1, Кавала - 4, Солун - 1 и Ксанти - 5). За първи път през тази година в Унгария бяха обявени два случая при хора.



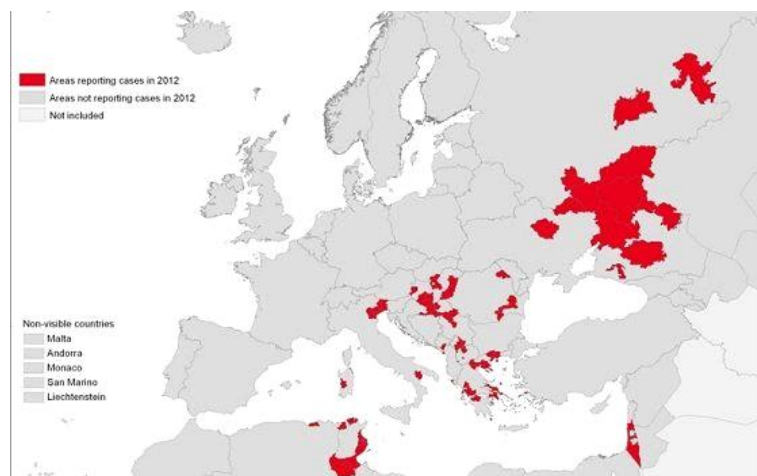
**Фиг. 18. Случаи на ЗНТ в Гърция 2012 г.**

След 20 август в Румъния (Фиг.19) има четири нови потвърдени случая: един в ново-засегнатия окръг Яш и три в окръзи с предишни случаи: Букурещ, Браила и Гюргево.



**Фиг. 19. Случаи на ЗНТ в Румъния 2012 г.**





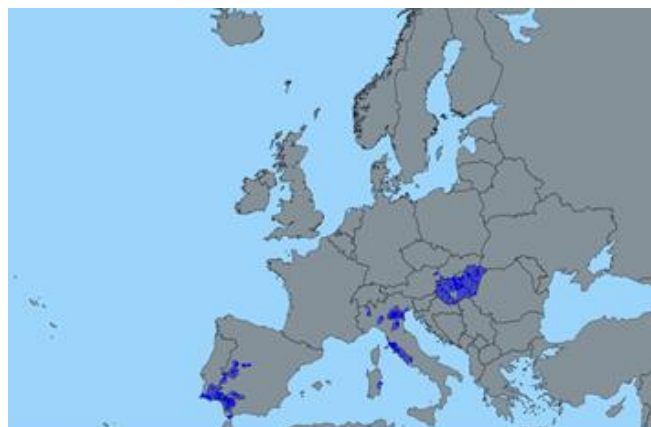
**Фиг. 20. В Европа към 15.11.2012 г. са докладвани 235 случая на ЗНТ при хора от страни, членки на ЕС и 621 случая в съседни на ЕС.**

Според Европейският център за превенция и контрол на болестите (ECDC) до 15 ноември 2012 г. са регистрирани общо 856 случая. Като 235 случая на ЗНТ са докладвани при хора от страни членки на ЕС и 621 случая са били регистрирани съседни на ЕС страни (Фиг. 20).

На Европейският континент повечето случаи се откриват в Руската федерация - 399, а най-много от страните на ЕС – в Гърция (161) и Италия (50). В Израел са докладвани 59 случая, докато в Сърбия и Тунис, респективно 69 и 63 случая.

#### **6. История на заболяването и разпространение на вируса на ЗНТ в Европа след 2016 г.**

През 2016 г. са установени огнища на заболяването ЗНТ при животни в Италия (46 първични огнища); Испания (3 първични и над 70 вторични огнища); Португалия (4 първични и над 1 вторично огнище); Унгария (48 първични и 1 вторично огнище) и Австрия (1 първично огнище) (Фиг. 21).



**Фиг. 21. Огнища на заболяването треска от западен Нил в Европа при животни през 2016 г. (Източник: ADNS)**

През 2017 г. са установени огнища на заболяването ЗНТ във Франция (1 първично огнище при коне); Италия (51 първични и 2 вторични огнища при коне); Гърция (4 първични и 8 вторични огнища при коне); Испания (1 първично и 12 вторични огнища при коне); Португалия (3 първични огнища при коне); Унгария (3 първични огнища при коне) и Австрия (1 първично огнище при коне) (Фиг. 22).



Фиг. 22 Огнища на заболяването треска от западен Нил в Европа при животни през 2016 г. (Източник: ADNS)

#### 6.1. Проучване на възможността за проява и разпространение на вирус на ЗНТ в България

Извършените през последните пет години проучвания показват, че съществува ежегодна интродукция на вируса на територията на България.

За периода 2010-2014 г. циркулация на инфекцията е установена в четири високо рискови места на страната: с. Дуранкулак и гр. Шабла (Добрич), гр. Тутракан (Силистра) и с. Старо Оряхово (Варна).

През 2015 г. антитела срещу Треска от Западен Нил при сентинелни животни са установени, както в четирите региона с доказана циркулация, така и в определените като рискови региони: гр. Русе, гр. Видин, гр. Лом, гр. Козлодуй и гр. Свиленград. Вирусът на ЗНТ, принадлежащ към линия 2 е установен в проби от диви птици от сем. Враноподобни от гр. София.

През 2017 г. са регистрирани четири случая на Треска от Западен Нил (линия 2) при диви птици от сем. Враноподобни в област Бургас.

В периода септември-ноември 2010 г. от тествани общо 231 проби (84 проби от коне и 147 от птици), постоянно пребиваващи в региона на гр. Тутракан, Старо Оряхово и езерата Дуранкулак и Шабла специфични антитела за вируса на ЗНТ бяха открити при 42 проби от еквиди и 37 при птици (табл 2. ).

Location	Animal species	Total tested	Percentage positive	
			WNF	Usutu
Tutrakan	Equines	20	0	0
Tutrakan	Domestic birds	102	34,3	0
Staro Oriahovo	Equines	18	50,0	0
Staro Oriahovo	Domestic birds	25	16	0
Durankulak	Equines	13	76,9	0
Durankulak	Domestic birds	10	0	0
Shabla	Equines	53	47,1	0
Shabla	Domestic birds	10	0	0

**Табл. 2. Серопозитивни за ЗНТ сентинелни (индикаторни) животни, установени в периода септември-ноември 2010 г.**

Като още едно доказателство за динамиката в циркулацията на вируса на ЗНТ сред тестваните животни е доказването на различни титри на антитела при изследването на една партида серуми от сентинелните животни, както и промяната в антителния отговор на тези животни през периода на изследването в посока наличие на сероконверсия.

IgM антитела бяха установени при 4 серумни проби от еквиди, с произход района на езерото Шабла и 1 от Старо Оряхово. Откриването на IgM антитела в присъствието на естествени антитела е ясно доказателство за циркулацията на вируса на ЗНТ в този регион на страната. Позитивните за антитела срещу вируса на ЗНТ серумни проби не показаха кръстосана реактивност за *Usutu* вирус по време на паралелното изпитване.

## 6.2. Доказателства за циркулация на вирус на ЗНТ в България

Наличието на заболяването ЗНТ бе доказано в Източна и Южна Европа в много страни и от много изследователи (46,48.49.53 и др). Ниското ниво на клинична изява на болестта бе удостоверявана с помощта на серологичния надзор, който наистина дава възможност за реално установяване (разпространението) превалентността на инфекцията в популациите, засегнати от вируса на ЗНТ хора, птици и селскостопански животни. Значителен процент на серологично позитивни хора и животни бе установен в много региони при различни проучвания в страните, обявили активност на вируса на ЗНТ (Румъния, Испания, Италия, Франция, Русия и др.)<sup>6</sup>. Широк спектър на серопревалентност за ЗНТ (1-15%), най-вече сред коне бяха описани във Франция, Испания, Хърватска, Румъния и Русия<sup>7</sup>. Нещо повече, вирусът на ЗНТ бе доказан в сборни проби от комари във Франция, Португалия, Молдова, Румъния, Словения, Чешката Република, Украйна и Беларус<sup>8</sup>. Като резултат от проучванията в последните години, за еволюцията, разпространението и динамиката на предаване, заболяването ЗНТ в Европа не следва повече да се нарича ново появяващо. В онези географски ширини и региони, където климатичните зони и факторите на околната среда позволяват ЗНТ да се проявява регулярно със сезонна динамика, характерна за страните с умерен климат и напълно да покрива критериите от епизоотологията то, тя следва да бъде отнесена към ендемичните инфекции. Появата на ЗНТ в нови територии и степента на напрегнатост на епизоотичната ситуация са трудно предвидими и зависят, както от екологичните и биологичните фактори на околната среда (плътност на векторите и на гостоприемниците), така и от редица неизвестни или слабо проучени фактори, които могат да влияят върху или да модифицират интензивността на инфекцията или пък чувствителността на гостоприемниците. Заболяването ЗНТ трудно се контролира.

<sup>6</sup> (Lozano & Filipe 1998, Bofill et al 2006, Cernescu et al 2000, Platonov et al 2001)

<sup>7</sup> (Jimenez-Clavero et al 2007, Ozkul et al 2006, Vasil'ev et al 2005, Madic et al 2007, Murgue et al 2001)

<sup>8</sup> (Koopmans et al 2007)

Вирусната циркулация следва да се открива рано, за да могат санитарните и ветеринарните власти да предприемат адекватни превантивни и протективни мерки. Необходими са координирани усилия, за да се определят рисковите фактори, които са важни за епидемиологията на ЗНТ и да се направи реалистична картината на тази инфекция за страната, региона на Балканите и в Европа с цел опазване на общественото здраве. Добре е да се използват и климатологичните модели за предсказване на параметрите на околната среда и климата. Особено внимание следва да се отдели на количеството и разпределението на валежите и факторите определящи температурните тенденции в промяната на климата в контекста на глобалното затопляне.

През октомври 2018 г. е потвърден случай на заболяването и при гарван (*Corvus frugilegus*), в област Бургас.(фиг. 23)



**Фиг. 23 Случаи на Треска от Западен Нил в България за периода 2010-2017 г.**

В България през 2018 г. вирусът на ЗНТ бе установен при 2 броя щъркели в село Атия и при една посевна врана в град Бургас. Заболяването е потвърдено в Националната референтна лаборатория на НДНИВМИ – гр. София.

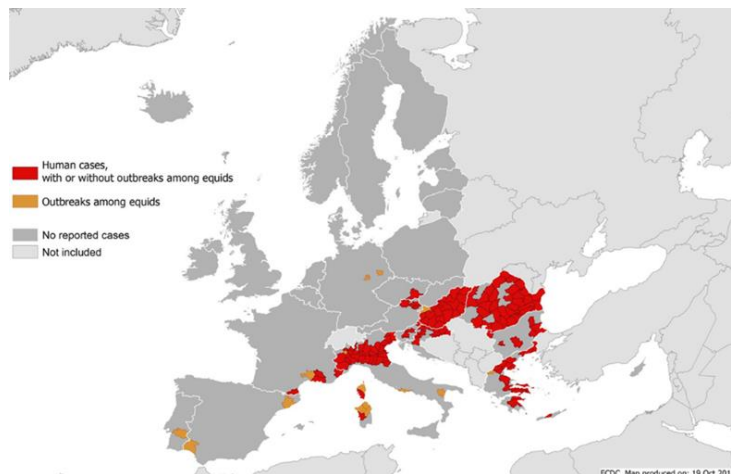
БАБХ ежегодно изпълнява програма за надзор на ЗНТ. За всеки положителен резултат при животни и птици, незабавно се уведомяват здравните власти за предприемане на конкретни мерки. Болестта се предава чрез ухапване от комари, като борбата с тях е основния начин за предпазване от заразата. При по-тежките случаи се наблюдава възпаление на мозъка (енцефалит). Смъртността при хората е ниска и в повечето случаи заболяването протича безсимптомно.

Докато в България за 2018 г. до момента има само една жертва на ЗНТ, то в съседните ни страни смъртните случаи продължават да нарастват с всяка изминала година. Само в Гърция от началото на 2018 г. има 5 смъртни случая и 77 заразени. В Сърбия от началото на годината жертвите са 15.

По данни на Европейския център за превенция и контрол на заболяванията (ECDC), през 2018 г., до 18 октомври (Фиг.24), са докладвани 1436 случая на Треска от Западен Нил при хора в държави от ЕС: Италия (550); Румъния (268); Гърция (302); Франция (24); Унгария (212); Хърватия (45) България (11); Австрия (19), Словения 93) и Чехия (2). Потвърдени са и 498 случая при хора в страни, извън ЕС: Сърбия (385), Израел (110)

и Косово (3). Съобщава се за 172 смъртни случая в Италия (44); Гърция (41), Румъния (38); Сърбия (35), България (11), Чехия (1), Унгария (1) и Косово (1).

Съществуват литературни данни за заразяване с вируса на Треска от Западен Нил при рискови категории пациенти, като ветеринарни лекари и др., след експозиция (аутопсия) на птици (САЩ, 2002 г.), мишки (в САЩ, 2002 г.) и коне (Южна Африка, 2008 г.). Важно е да се отбележи, че при тези случаи заразяването е пряко, без участието на вектори (комари). През септември т.г. е диагностициран случай на ТЗН при ветеринарен лекар, извършил аутопсия на сова (*Strix nebulosa*) в резерват в Бавария, с потвърдена диагноза за заболяването. При серологично изследване на кръвна проба от ветеринарен лекар, са установени титри 1:80 на IgM антитела, което потвърждава наличието на инфекция.



**Фиг. 24. Огнища на заболяването треска от западен Нил при коне (жълт цвят) и хора (червен цвят), до 19.10.2018 г. (Източник: ECDC)**

## 7. Мерки за профилактика и контрол

Като резултат от проучванията в последните години за еволюцията, разпространението и динамиката на предаване заболяването ЗНТ в Европа, то не следва повече да се нарича ново появяващо (re-emerging). В онези географски ширини и региони, където климатичните зони и фактори на околната среда позволяват ЗНТ да се проявява регулярно със сезонна динамика, характерна за страните с умерен климат и напълно покрива критериите от епизоотологията да бъде класифицирана като **ендемична инфекция**. Появата на ЗНТ в нови територии и степента на напрегнатост на епизоотичната ситуация са трудно предвидими и зависят, както от екологичните и биологичните фактори на околната среда (плътност на векторите и на гостоприемниците), така и от редица неизвестни или слабо проучени фактори, които могат да повлияят върху или да модифицират интензивността на инфекцията или пък чувствителността на гостоприемниците. Заболяването ЗНТ трудно се контролира. Вирусната циркулация следва да се открива рано, за да могат санитарните и ветеринарните власти да предприемат адекватни превантивни и протективни мерки. Необходими са координирани усилия, за да се определят рисковите фактори, които са важни за епидемиологията на ЗНТ и да се направи реалистична картината на тази инфекция за страната, региона на Балканите и в Европа с цел опазване на общественото здраве. Добре е да се използват и климатологичните модели за предсказване на параметрите на околната среда и климата. Особено внимание следва да се отдели на количеството и разпределението на валежите и факторите определящи температурните тенденции в промяната на климата в контекста на глобалните климатични промени.

## 8. Изводи

- Многопосочното и интензивно сътрудничество на медицинските и ветеринарните органи на държавите и завишеният надзор на заболяването в последните години дава възможност инфекцията с вируса на ЗНТ да се установява във все по-нови региони;

- Проведените серологичните проучвания потвърждават, че вирусът на ЗНТ циркулира най-малко в 4 региона на България от три области, включвайки различни видове животни и птици;

- Сравнително високият процент на серопревалентност в тези региони (43,5%-Дуранкулак, 39,7% - Шабла, 28,6% - Тутракан, 30,2% - Ст. Оряхово) вероятно са в резултат на тясното съжителство на чувствителните животни в близост до влажните територии, посещавани от големи колонии разнообразни видове мигриращи птици, които могат да бъдат носители и източник на инфекция с вируса на ЗНТ;

- Откриването на специфични за вируса на ЗНТ антитела при крайни гостоприемници ("dead-end") еквиди подсказва, че т.н. "bridge" вектори най-вероятно са въввлечени в цикъла на предаване на вируса. **Това следва да се вземе предвид, когато се оценява риска за хората, които обитават селските райони, заселени предимно с популации от възрастно население (възраст >50 години), група, застрашена от проява на нервно възпалително заболяване при инфекция с вируса на ЗНТ;**

- Включването на теста за серум неутрализация срещу Usutu вирус, който е антигенно тясно свързан с вируса на ЗНТ, позволява да се повиши специфичността на серологичния метод и да се избегнат неспецифичните кръстосани реакции;

- Циркулацията на вируса на ЗНТ в момента е установена в много европейски страни и се очаква **нейното по-нататъшно разпространение в следващите години, включително и в съседни на засегнатите страни, където екологичните параметри и климатогеографските условия са благоприятни и където се осъществява тясна връзка между мигриращи, резидентни птици, компетентните комарни вектори, човека и селскостопанските животни;**

- Вирусите на ЗНТ от генетични линии 1 и 2, засягащи човека и еквидите, са установени да циркулират в Европа. Определено следва да се наблегне на анализиране на настоящите огнища, което да даде повече информация за епидемиологичното значение на този факт и за опазване на публичното здраве;

- За сега няма данни генетичната линия 2 на вируса на ЗНТ да е по-вирулентна, но това е едно от направленията, по които следва да се работи в бъдеще, за установяване влиянието ѝ върху динамиката на циркулация и предаване на вируса;

- Вирусът на ЗНТ от генетична линия 2 вече е идентифициран в Гърция през 2010 г. при донор на кръв, а през 2011 г. подобен вирус е бил изолиран от болен с безсимптомно протичаща инфекция от ЗНТ. Това подсказва, че задължително е в районите с установени случаи на ЗНТ **при хора да се извършват и подходящи изследвания в кръвните центрове.**

## 9. Оценка на риска

Както при всяко инфекциозно заболяване с голямо значение за общественото здраве и за националното стопанство, е необходимо да се осъществява интегриран серологичен и вирусологичен надзор на ЗНТ, както от медицинските, така и от ветеринарните власти. От изключително значение е на национално ниво да се обменя информация за надзора и установяване на географския лимит на разпространение на векторите и циркулацията на

вируса, както и да се прави оценка за риска на заболяването. Идентифицирането на вируса на ЗНТ в сборни улови от комари, при птици или еквиди може да даде допълнителна информация за циркулацията на вируса на определени територии.

**Фактите около географското разпространение на ЗНТ в последните години и това, че повечето страни с докладвано заболяване ЗНТ през периода 2016-2018 г. са били инфектирани и в предишни години (Русия, Гърция, Румъния Турция, Израел, Италия и др.) показва, че ЗНТ се превръща от ново възникваща, в повечето райони от Европа, в повече или по-малко стационарна инфекция с характер на ендемичност за много европейски страни.** И това не е неочаквано на фона на промените в екологичните фактори като високата концентрация на местни резидентни птици и степента на урбанизация в крайградските райони, където могат да контактуват местните резидентни и прелетните птици с *възможността WNV да бъде пренасян от прелетните мигриращи птици извън традиционните екологични ниши на вирусна циркулация и вируса на ЗНТ да се адаптира към местните („bridge“) вектори и всичко това на фона на наличие на по-влажни територии и или сезони с обилни валежи и по-висока активност на компетентните комарни вектори.*

Очаква се по-нататъшно разпространение на инфекциите със ЗНТ в следващите години, включително и в съседни на засегнатите до момента страни, където екологичните параметри са благоприятни и се осъществява връзка между мигриращи прелетни, резидентни птици, комарни вектори и други гръбначни животни (в т.ч. селскостопански) и човека.

Проведените серологични проучвания потвърждават, че вирусът на ЗНТ циркулира най-малко в 4 района на България от три области, включвайки различни видове животни. Това следва да се вземе в предвид, когато се оценява риска за хората, които обитават селските райони, заселени предимно с популации от възрастно население (възраст >50 години), група, застрашена най-често от проява на нервно възпалително заболяване при инфекция с вирус на ЗНТ.

Надзорът на ЗНТ следва да включва и други региони на страната чрез създадената вече съвременна програма за надзор, разчетена и добре обезпечена във времето и пространството, с използване на сентинелни животни от резидентни птици и еквиди, а така също и постоянен надзор над векторите. Този надзор следва да се извършва съвместно със здравните власти и да се подпомага финансово от държавата.

Интензивният надзор на заболяването ЗНТ, включително и изолацията на вирус от сборни проби на комари от различните региони на страната следва да продължи. Особено внимание следва да се обърне на онези региони, които се считат за най-рискови и се характеризират с тясно съжителство на чувствителни животни в близост до влажни територии, посещавани от големи колонии разнообразни видове мигриращи птици по *Via Pontica* и *Via Aristotelis*, които могат да бъдат носители и източник на инфекция с вируса на ЗНТ.

#### Контрол на кръвните продукти

Прилагането на избиращен или постоянен контрол над донорите на кръв в инфектираните райони остава крайгълен камък за предотвратяване предаването на вируса чрез кръвни продукти. ECDC предоставя всяка седмица актуализирана информация за заразените региони в Европа, за да се поддържа актуална информация за тази дейност.

## Диагностичен капацитет

Съществува необходимост от по-нататъшно развиване на лабораторния капацитет за осъществяването на съвременна диагностика и мониторинг на заболяването, вирусната циркулация и сезонната динамика при компетентните вектори.

## Лични предпазни средства и контрол над векторите

Необходимо е за всяко лице посещаващо или живеещо в региони със случаи на ЗНТ по хората и животните, да бъде добре информирано, относно мерките за предпазване от ухапване от комари. Използването на репеленти за инсекти е препоръчително, както и използването на комарници, мрежи, було или друго подходящо оборудване. В местата с висока концентрация на популации от комари са необходими механични прегради за комарите (мрежи). Контролът на векторите включва борба с преимагиналните форми на комарите, борба с възрастните комари и ограничаване разпространението на започнал епидемичен взрив на болестта, но само в началните случаи на ЗНТ, когато клиничните изяви на болестта са все още спорадични.

## 10. Използвана литература

- [1] Karabatsos N. International catalogue of arboviruses, including certain other viruses of vertebrates. 3rd ed. San Antonio: American Society of Tropical Medicine & Hygiene 1985.
- [2] Komar N. West Nile viral encephalitis. Rev Sci Tech 2000; 19: 166-76.
- [3] Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, et al. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. Science 1999; 286: 2333-7.
- [4] Hubalek Z, Halouzka J. West Nile fever--a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. Emerg Infect Dis 1999; 5: 643-50.
- [5] Kulasekera VL, Kramer L, Nasci RS, et al. West Nile virus infection in mosquitoes, birds, horses, and humans, Staten Island, New York, 2000. Emerg Infect Dis 2001; 7: 722-5.
- [6] Komar N, Panella NA, Burns JE, Duszka SW, Mascarenhas TM, Talbot TO. Serologic evidence for West Nile virus infection in birds in the New York City vicinity during an outbreak in 1999. Emerg Infect Dis 2001; 7: 621-5.
- [7] Spigland I, Jasinska-Klingberg W, Hofshi E, Goldblum N. Clinical and laboratory observations in an outbreak of West Nile fever in Israel in 1957. Harefuah 1958; 54: 275-80; English & French abstracts 80-1.
- [8] Murgue B, Murri S, Zientara S, Durand B, Durand JP, Zeller H. West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: the return after 35 years. Emerg Infect Dis 2001; 7: 692-6.
- [9] Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. Lancet Infect Dis 2002; 2: 519-29.
- [10] Kramer LD, Li J, Shi PY. West Nile virus. Lancet Neurol 2007; 6: 171-81.
- [11] Taylor RM, Work TH, Hurlbut HS, Riz KF. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. Am J Trop Med Hyg 1956; 5: 579-620.
- [12] Murgue B, Murri S, Triki H, Deubel V, Zeller HG. West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000. Ann NY Acad Sci 2001; 951: 117-26.
- [13] Bakonyi T, Ivanics E, Erdelyi K, et al. Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. Emerg Infect Dis 2006; 12: 618-23.
- [14] Schuffenecker I, Peyrefitte CN, el Harrak M, Murri S, Leblond A, Zeller HG. West Nile virus in Morocco, 2003. Emerg Infect Dis 2005; 11: 306-9.
- [15] Komar N, Panella NA, Boyce E. Exposure of domestic mammals to West Nile virus during an outbreak of human encephalitis, New York City, 1999. Emerg Infect Dis 2001; 7: 736-8.
- [16] Venter M, Human S, Zaayman D, et al. Lineage 2 west Nile virus as cause of fatal neurologic disease in horses, South Africa. Emerg Infect Dis 2009; 15: 877-84.
- [17] Tber AA. West Nile fever in horses in Morocco. Bull OIE 1996; 108: 867-9.
- [18] Triki H, Murri S, Le Guenno B, et al. West Nile viral meningoencephalitis in Tunisia. Med Trop (Mars) 2001; 61: 487-90.
- [19] Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. Lancet 1998; 352: 767-71.
- [20] Cernescu C, Nedelcu NI, Tardei G, Ruta S, Tsai TF. Continued transmission of West Nile virus to humans in southeastern Romania, 1997-1998. J Infect Dis 2000; 181: 710-2.
- [21] Ceianu CS, Ungureanu A, Nicolescu G, et al. West Nile virus surveillance in Romania: 1997-2000. Viral Immunol 2001; 14: 251-62.



- [22] Ionescu A, Bria P, Rizac V, et al. Some preliminary studies assessing the presence of West Nile virus antibodies in horses in Romania. Proceedings of the International Veterinary Vaccines and Diagnostics Conference, Oslo 2006.
- [23] Nicolescu G, Purcarea-Ciulacu V, Prioteasa L, et al. West Nile Virus in Romania. Report to the EDEN annual meeting 2009.
- [24] Hubalek Z, Halouzka J, Juricova Z. West Nile fever in Czechland. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 594-5.
- [25] Hubalek Z, Halouzka J, Juricova Z, Sebesta O. First isolation of mosquito-borne West Nile virus in the Czech Republic. *Acta Virol* 1998; 42: 119-20.
- [26] Platonov AE, Shipulin GA, Shipulina OY, et al. Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 128-32.
- [27] Hubalek Z, Halouzka J, Juricova Z, et al. Serologic survey of birds for West Nile flavivirus in southern Moravia (Czech Republic). *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008; 8: 659-66.
- [28] ProMED-mail. West Nile virus - Russia (Astrakhan) Archive Number 200509112688. 2005; Published Date 11-SEP-2005.
- [29] ProMED-mail. West Nile virus - Russia (Rostov Region) Archive Number 200609252742. 2006; Published Date 25-SEP-2006.
- [30] Joubert L, Oudar J, Hannoun C, et al. Epidemiology of the West Nile virus: study of a focus in Camargue. IV. Meningoencephalomyelitis of the horse. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 1970; 118: 239-47.
- [31] Panthier R, Hannoun C, Oudar J, et al. Isolation of West Nile virus in a Camargue horse with encephalomyelitis. *CR Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* 1966; 262: 1308-10.
- [32] Panthier R. [Epidemiology of the West Nile virus: study of an outbreak in Camargue. I. Introduction]. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 1968; 114: 518-20.
- [33] Panthier R, Hannoun C, Beytout D, Mouchet J. [Epidemiology of West Nile virus. Study of a center in Camargue. 3.-Human diseases]. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 1968; 115: 435-45.
- [34] Hannoun C, Panthier R, Mouchet J, Eouzan JP. [Isolation in France of the West Nile Virus from Patients and from the Vector *Culex Modestus Ficalbi*.]. *C R Hebd Seances Acad Sci* 1964; 259: 4170-2.
- [35] Filipe AR, De Andrade HR. Arboviruses in the Iberian Peninsula. *Acta Virol* 1990; 34: 582-91.
- [36] Filipe AR. Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes. *Acta Virol* 1972; 163: 61.
- [37] Lozano A, Filipe AR. Antibodies against the West Nile virus and other arthropod transmitted viruses in the Ebro Delta region. *Rev Esp Salud Publica* 1998; 72: 245-50.
- [38] Cantile C, Di Guardo G, Eleni C, Arispici M. Clinical and neuropathological features of West Nile virus equine encephalomyelitis in Italy. *Equine Vet J* 2000; 32: 31-5.
- [39] Mailles A, Dellamonica P, Zeller H, Durand JP, Zientara S, Moffette R. Human and equine infections in France, August- September 2003. *Eurosurveillance* 2003; 10/23/2003.
- [40] Leblond A, Hendrikx P, Sabatier P. West Nile virus outbreak detection using syndromic monitoring in horses. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2007; 7: 403-10.
- [41] Kaptoul D, Viladrich PF, Domingo C, et al. West Nile virus in Spain: report of the first diagnosed case (in Spain) in a human with aseptic meningitis. *Scand J Infect Dis* 2007; 39: 70-1.
- [42] Figuerola J, Soriguer R, Rojo G, Gomez Tejedor C, Jimenez- Clavero MA. Seroconversion in wild birds and local circulation of West Nile virus, Spain. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 1915-7.
- [43] Figuerola J, Jimenez-Clavero MA, Rojo G, Gomez-Tejedor C, Soriguer R. Prevalence of West Nile virus neutralizing antibodies in colonial aquatic birds in southern Spain. *Avian Pathol* 2007; 36: 209-12.
- [44] Lopez G, Jimenez-Clavero MA, Tejedor CG, Soriguer R, Figuerola J. Prevalence of West Nile virus neutralizing antibodies in Spain is related to the behavior of migratory birds. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008; 8: 615-21.
- [45] Esteves A, Almeida AP, Galao RP, et al. West Nile virus in Southern Portugal, 2004. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2005; 5: 410- 3.
- [46] World Organisation for Animal Health - OIE. West Nile Fever, France. Immediate Notification 2006.
- [47] Filippini G, Lelli R, Savini G, et al. West Nile Virus surveillance in Italy: results of three years activities. 2005 National Conference on West Nile Virus in the United States, San Jose, California, February, 8-9 2005.
- [48] Monaco F, Lelli R, Teodori L, et al. Re-emergence of West Nile Virus in Italy. *Zoonoses and Public Health* 2009; doi: 10.1111/j.1863-2378.2009.01245.x.
- [49] Calistri P, Giovannini A, Savini G, et al. West Nile Virus Transmission in 2008 in North-Eastern Italy. *Zoonoses and Public Health* 2009; doi: 10.1111/j.1863-2378.2009.01303.x.
- [50] Rossini G, Cavrini F, Pierro A, et al. First human case of West Nile virus neuroinvasive infection in Italy, September 2008 – case report. *Eur Surveill* 2008; 13.
- [51] Gobbi F, Napoletano G, Piovesan C, et al. Where is West Nile fever? Lessons learnt from recent human cases in northern Italy. *Eurosurveillance* 2009; 14.

- [52] Savini G, Monaco F, Calistri P, Lelli R. Phylogenetic analysis of West Nile virus isolated in Italy in 2008. *Eurosurveillance* 2008; 27: 13.
- [53] Malkinson M, Weisman Y, Pokamonski S, King R, Deubel V. Intercontinental transmission of West Nile virus by migrating white storks. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 540.
- [54] World Organisation for Animal Health - OIE. West Nile Fever in Israel in geese. *Dis Inform* 1999; 12: 166.
- [55] Chowers MY, Lang R, Nassar F, et al. Clinical characteristics of the West Nile fever outbreak, Israel, 2000. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 675-8.
- [56] Weinberger M, Pitlik SD, Gandacu D, et al. West Nile fever outbreak, Israel, 2000: epidemiologic aspects. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 686-91.
- [57] Krisztalovics K, Ferenczi E, Molnár Z, et al. West Nile virus infections in Hungary, August – September 2008. *Eurosurveillance* 2008; 13.
- [58] World Organisation for Animal Health - OIE. West Nile Fever, Austria. Immediate Notification 2008.
- [59] Gratz NG. The vector-borne human infections of Europe. Their distribution and burden on public health. World Health Organization Europe 2004.
- [60] Kantzanou MN, Moschidis ZM, Kremastinou G, et al. Searching for West Nile virus (WNV) in Greece. *Transf Med* 2009; 19: doi: 10.1111/j.365-3148.2009.00964.x.
- [61] Madic J, Savini G, Di Gennaro A, et al. Serological evidence for West Nile virus infection in horses in Croatia. *Vet Rec* 2007; 160: 772-3.
- [62] Hubalek Z, Wegner E, Halouzka J, et al. Serologic survey of potential vertebrate hosts for West Nile virus in Poland. *Viral Immunol* 2008; 21: 247-53.
- [63] Figuerola J, Jimenez-Clavero MA, Lopez G, et al. Size matters: West Nile Virus neutralizing antibodies in resident and migratory birds in Spain. *Vet Microbiol* 2008; 132: 39-46.
- [64] Jimenez-Clavero MA, Sotelo E, Fernandez-Pinero J, et al. West Nile virus in golden eagles, Spain, 2007. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 1489-91.
- [65] Malkinson M, Banet C, Weisman Y, et al. Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 392-7.
- [66] Parreira R, Severino P, Freitas F, Piedade J, Almeida APG, Esteves A. Two distinct introductions of the West Nile Virus in Portugal disclosed by phylogenetic analysis of genomic sequences. *Vector- Borne Zoonotic Dis* 2007; 7: 344-352.
- [67] Rappole JH, Hubalek Z. Migratory birds and West Nile virus. *J Appl Microbiol* 2003; 94: 47S-58S.
- [68] McLean RG, Ubico SR, Docherty DE, Hansen WR, Sileo L, McNamara TS. West Nile virus transmission and ecology in birds. *Ann NY Acad Sci* 2001; 951: 54-7.
- [69] Baqar S, Hayes CG, Murphy JR, Watts DM. Vertical transmission of West Nile virus by *Culex* and *Aedes* species mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 48: 757-62.
- [70] Dohm DJ, Sardelis MR, Turell MJ. Experimental vertical transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 2002; 39: 640-4.
- [71] Miller BR, Nasci RS, Godsey MS, et al. First field evidence for natural vertical transmission of West Nile virus in *Culex univittatus* complex mosquitoes from Rift Valley province, Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 62: 240-6.
- [72] Nasci RS, Savage HM, White DJ, et al. West Nile virus in overwintering *Culex* mosquitoes, New York City, 2000. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 742-4.
- [73] Romi R, Severini F, Toma L. Cold acclimation and overwintering of female *Aedes albopictus* in Roma. *J Am Mosq Control Assoc* 2006; 22: 149-51.
- [74] Zhou G, Miesfeld RL. Energy metabolism during diapause in *Culex pipiens* mosquitoes. *J Insect Physiol* 2009; 55: 40-6.
- [75] Robich RM, Denlinger DL. Diapause in the mosquito *Culex pipiens* evokes a metabolic switch from blood feeding to sugar gluttony. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 15912-7.
- [76] Filippini G, Ciarrocca E, Savini G, Corsi I, Dell'Ariceia G, Lelli R. West Nile virus transmission in resident birds, Italy. IMED 2007 International meeting on emerging diseases and surveillance, Vienna (Austria), February 23-25, 2007.
- [77] Rappole JH, Derrickson SR, Hubalek Z. Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Emerg Infect Dis* 2000; 6: 319-28.
- [78] Fonseca DM, Keyghobadi N, Malcolm CA, et al. Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. *Science* 2004; 303: 1535-8.
- [79] Gomes B, Sousa CA, Novo MT, et al. Asymmetric introgression between sympatric *molestus* and *pipiens* forms of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in the Comporta region, Portugal. *BMC Evol Biol* 2009; 9: 262.
- [80] Brown HE, Childs JE, Diuk-Wasser MA, Fish D. Ecological factors associated with West Nile virus transmission, northeastern United States. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 1539-45.
- [81] Ewad PW. *Evolution of Infectious Disease*. New York, USA: Oxford University Press 1994.

82. Диловски М., Хараламбиев Х., Текерлеков П., Герганов Г., 1982. Диагностика на вирусните болести по домашните животни. София, Земиздат, 1982, стр. 36-39.
83. Николова М., Ветеринарно медицинска вирусология, ISBN 954-703-011-6, Ариел, 1996, стр. 37-46 (10), стр. 183-187 (5).
84. Цачев Ил. 2006 Екзотични инфекциозни болести по животните, Стара Загора, 50 стр.
85. Abutarbush S.M., O'Connor B.P., Clark C., Sampieri F., Naylor J.M., 2004. Clinical West Nile virus infection in 2 horses in western Canada. *Can Vet J* 2004; 45:315-317.
86. Austin R.J., Whiting T.L., Anderson R.A., Drebot M.A., 2004. An outbreak of West Nile virus-associated disease in domestic geese (*Anser anser domesticus*) upon initial introduction to a geographic region, with evidence of bird to bird transmission. *Can Vet J* 2004; 45:117-123.
87. California Department of public health, Mosquito & vector control association of California, University of California, 2008. California mosquito-borne virus surveillance & response plan.
88. Campbell G. L., Martin A. A., Lanciotti R.S., Gubler D. J., West Nile Virus, *The Lancet Infectious disease*, vol 2, September 2002, pp. 519-529 (11).
89. Elizondo-Quiroga D., Davis C.T., Fernandez-Salas I., Escobar-Lopez R., Olmos D.V., Gastalum L.C., Acosta M.A., Elizondo-Quiroga A., Gonzalez-Rojas H.I., Cordero J.F., Guzman H., Rosa A.T., Blitvich b.j., Barrett A.D., Beaty B.J., Tesh R.B., 2005. West Nile virus isolation in humans and mosquitoes, Mexico. *Emerg. Infect. Dis.*, vol 1, №9, september 2005.
90. Hema Azad, Sajan Thomas, 2004. West Nile encephalitis. *Hospital physician*, may 2004, p. 12-16.
91. International Committee on Taxonomy of Viruses, 2002. –[www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov).
92. Lindsay R., Barker I., Nayar G., Drebot M., Calvin S., Scammell C., Sachvie C., Scammell-La Fleur T., Dibernardo A., Andonova M., Artsob H., 2003. Rapid antigen-capture assay to detect West Nile virus in dead Corvids. *Emerg. Infect. Dis.*, vol 9, №11, november 2003.
93. Morales M.A., Barrandeguy M., Fabbri C., Garcia J.B., Vissanti A., Trono K., Gutierrez G., Pigretti S., Menchaca H., Garrido N., Taylor N., Fernandez F., Levis S., Enria D., 2006. West Nile virus isolation from equines in Argentina, 2006. *Emerg. Infect. Dis.*, vol 12, №10, october 2006.
94. Office of International Epizooties, 2008. Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, 6 ed., chapter 2.1.20 West Nile Virus, pp. 377-385 (9).
95. OIE CC-IZSM 2008. Assessment of surveillance systems for West Nile Virus and Crimean-Congo Haemorrhagic fever in the Balkans- Project on the implementation of a surveillance network for vector borne diseases in the Balkans countries, Italy.
96. Ryuta Kanai, Kalipada Kar, Karen Anthony, L. Hannah Gould, Michel Ledizet, Erol Fikrig, Wayne A. Marasco, Raymond A. Koski, Yorgo Modis, 2006. Crystal structure of West Nile Virus envelope glycoprotein reveals viral surface epitopes. *J. of virology*, vol 80, №22, nov. 2006, p. 11000-11008.
97. Tasha Epp., Cheryl Waldner, Keith West, Hugh Townsend, 2007. Factors associated with West Nile virus disease fatalities in horses. *Can. Vet. J.*, 2007; 48:1137-1145.
98. Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet* 1998;352:767-71.
99. Savage HM, Ceianu C, Nicolescu G, Karabatsos N, Lanciotti R, Vladimirescu A, et al. Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania, 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg.* In press 1999.
100. Taylor RM, Work TH, Hurlbut HS, Rizk F. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am J Trop Med Hyg* 1956;5:579-620.
101. Karabatsos N, editor. International catalogue of arboviruses, including certain other viruses of vertebrates. 3rd ed., and Supplements 1986-98. San Antonio: American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985.
102. Peiris JSM, Amerasinghe FP. West Nile fever. In: Beran GW, Steele JH, editors. *Handbook of zoonoses. Section B: Viral.* 2nd ed. Boca Raton (FL): CRC Press; 1994. p. 139-48.
103. Hubölek Z, Halouzka J. Arthropod-borne viruses of vertebrates in Europe. *Acta Scientiarum Naturalium Brno* 1996;30(no.4-5):1-95.
104. Berthet FX, Zeller HG, Drouet MT, Rauzier J, Digoutte JP, Deubel V. Extensive nucleotide changes and deletions within the envelope glycoprotein gene of Euro-African West Nile viruses. *J Gen Virol* 1997;78:2293-7.
105. Hurlbut HS. West Nile virus infection in arthropods. *Am J Trop Med Hyg* 1956;5:76-85.
106. Nir Y, Goldwasser R, Lasowski Y, Avivi A. Isolation of arboviruses from wild birds in Israel. *Am J Epidemiol* 1967;86:372-8.
107. Watson GE, Shope RE, Kaiser MN. An ectoparasite and virus survey of migratory birds in the eastern Mediterranean. In: Cherepanov IA, editor. *Transcontinental connections of migratory birds and their role in the distribution of arboviruses.* Novosibirsk: Nauka; 1972 p.176-80.
108. Ernek E, Kozuch O, Nosek J, Teplan J, Folk C. Arboviruses in birds captured in Slovakia. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology (Prague)* 1977;21:353-9.

109. Work TH, Hurlbut HS, Taylor RM. Indigenous wild birds of the Nile Delta as potential West Nile virus circulating reservoirs. *Am J Trop Med Hyg* 1955;4:872-8.
110. Semenov BF, Chunikhin SP, Karmysheva VY, Yakovleva NI. Studies of chronic arbovirus infections in birds. 1. Experiments with West Nile, Sindbis, Bhanja and SFS viruses (in Russian). *Vestnik Akademii Medicinskikh NaukSSSR (Moskva)* 1973;2:79-83.
111. Hannoun C, Corniou B, Mouchet J. Role of migrating birds in arbovirus transfer between Africa and Europe. In: Cherepanov AI, editor. *Transcontinental connections of migratory birds and their role in the distribution of arboviruses*. Novosibirsk: Nauka; 1972; p. 167-72.
112. Kostyukov MA, Alekseev AN, Bulychev VP, Gordeeva ZE. Experimental infection of *Culex pipiens* mosquitoes with West Nile virus by feeding on infected *Rana ridibunda* frogs and its subsequent transmission (in Russian). *Med Parazitol (Mosk)* 1986;6:76-8.
113. Rusakiev M. Studies on the distribution of arboviruses transmitted by mosquitoes in Bulgaria. In: Břrdoř V, editor. *Arboviruses of the California complex and the Bunyamwera group*. Bratislava: Publ House SAS; 1969. p. 389-92.
114. Katsarov G, Vasilenko S, Vargin V, Butenko S, Tkachenko E. Serological studies on the distribution of some arboviruses in Bulgaria. *Problems of Infectious and Parasitic Diseases* 1980;8:32-5.

**Изготвили:** проф. Георги Георгиев, д-р Лиляна Полихронова, д-р Силвия Пеева, д-р Мадлен Василева

**29.10.2018 г.**

**ЦОРХВ**