

Wirus Zachodniego Nilu w Polsce — realne zagrożenie w świetle doniesień prezentowanych na konferencji „Aktualne problemy dotyczące czynników zakaźnych przenoszonych przez krew” (10 marca 2017 r., Warszawa)

West Nile Virus in Poland — real threat in the light of the reports from the Conference “The current problems concerning bloodborne pathogens” (10 March, 2017, Warsaw)

Samanta Jowita Niczyporuk

Państwowy Instytut Weterynaryjny — Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Streszczenie

Wirus Zachodniego Nilu (WNV) po raz pierwszy wykryto w Europie w 1996 roku. Powodował epidemie zapalenia mózgu i opon mózgowych oraz masowe padnięcia ptactwa. Od tamtej pory występuje na terenie Europy endemicznie, tworząc ogniska. Wirus WNV przenosi się z ptaków na ludzi przez komary będące jego głównym wektorem. Infekcja powodowana jest przez wirus neurotropowy należący do rodziny Flaviviridae i rodzaju Flavivirus. W 80% przypadków choroba ma przebieg łagodny, manifestując się jedynie niespecyficznymi objawami grypopodobnymi. W grupie najwyższego ryzyka znajdują się pacjenci o zmniejszonej wydolności układu immunologicznego oraz po 50. roku życia, u których może wystąpić zapalenie mózgu, rozwijające się u jednej na 150 zakażonych osób. Zakażenie może być bezpośrednie (człowiek–człowiek) przez przetoczenie krwi, transplantację organów, zakażenia wewnątrzmaciczne płodu przez chorą matkę lub przez pracowników laboratoriów zakażonych podczas wykonywania sekcji zakażonych ptaków. Leczenie jest wyłącznie objawowe. Przed tą groźną infekcją najlepiej zabezpieczyć się, stosując środki ochronne przeciwko komarom.

Słowa kluczowe: epidemiologia, ptaki dzikie, wirus Zachodniego Nilu, zapalenie mózgu

J. Transf. Med. 2017; 10: 54–62

Summary

West Nile Virus (WNV) was first isolated in Europe in 1996 as the cause of meningitis and meningo-encephalitis as well as mass bird death. Since then it exists in Europe in endemic regions causing outbreaks of the disease. WNV belongs to Flaviviridae family, genus Flavivirus and is a neurotropic arbovirus that can be transmitted from birds to human by mosquitoes as the main virus vector. In 80% of cases the infection is mild with nonspecific symptoms flu-like symptoms. At highest risk of infection are elderly people (above 50) and immunodeficient patients; meningitis evolves in 1 of 150 infected cases.

West Nile virus is most commonly transmitted to humans by mosquitoes. Additional routes of human infection have also been reported such as: blood transfusions, organ transplants, exposure in a laboratory setting (during necropsy of infected birds), from mother to baby during pregnancy.

Treatment is only symptomatic. The risk of WNV infection can be reduced by using mosquito repellents to prevent mosquito bites.

Key words: epidemiology, wild birds, West Nile virus, encephalitis

J. Transf. Med. 2017; 10: 54–62

Epidemiologia

Wirus Zachodniego Nilu (WNV, *West Nile Virus*) znajduje się na liście Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (*World Organisation for Animal Health*), funkcjonującej do 2003 roku pod nazwą Międzynarodowy Urząd do spraw Epizootii (OIE, *Office International des Epizooties*; skrót używany również obecnie). Wirus ten wywołuje gorączkę Zachodniego Nilu (WNF, *West Nile Fever*) — groźną chorobę podlegającą obowiązkowi zgłaszania, która na liście OIE znajduje się w sąsiedztwie zoonoz, takich jak na przykład: grypa, hantawirusy, wścieklizna, zespół ciężkiej ostrej niewydolności oddechowej (SARS, *Severe Acute Respiratory Syndrome*), tak zwana choroba szalonych krów (BSE, *Bovine Spongiform Encephalopathy*), ludzki wirus niedoboru odporności (HIV, *Human Immunodeficiency Virus*), ebola, wirus gorączki krwotocznej, wąglik, salmonelloza, gruźlica, brucelozą. Wirus WNV atakuje kręgowce: ptaki, ssaki, gryznie, płazy, gady i ludzi [1, 2]. Jest arbowirusem rozprzestrzenionym geograficznie [1].

Wirus WNV należy do rodziny *Flaviviridae*, obejmującej ponad 70 różnych wirusów z rodzaju *Flavivirus*, w tym wirusa dengi (DENV, *Dengue Virus*), wirusa japońskiego zapalenia mózgu (JEV, *Japanese Encephalitis Virus*) czy wirusa żółtej gorączki (YFV, *Yellow Fever Virus*). Wchodzi w skład serokompleksu japońskiego zapalenia mózgu, do którego zaliczamy kilka istotnych pod względem klinicznym wirusów odpowiedzialnych za ludzkie przypadki zapalenia mózgu: JEV, wirusa Kunjin (KUNV, *Kunjin Virus*) — podtyp WNV endemicznie występujący w Australii i Malesji, wirusa zapalenia mózgu Murray Valley (MVEV, *Murray Valley Encephalitis Virus*), wirusa zapalenia mózgu St. Louis (SLE, *Saint Louis Encephalitis Virus*), wirusa kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV, *Tick-Borne Encephalitis Virus*) oraz niedawno oznaczonego wirusa Zika (ZIKV, *Zika Virus*) [3]. Wirus WNV endemicznie występuje w Afryce i krajach Bliskiego

Wschodu oraz na północnym zachodzie Azji, gdzie panują optymalne warunki do rozwoju i bytowania komarów — jego głównego wektora [4, 5].

Wyodrębniono dwie główne linie filogenetyczne wirusa. Podziały oparto na analizie sekwencji genów kodujących białka strukturalne i niestrukturalne WNV-1-5 [1, 6]. Linia WNV-1, do której przynależą szczepy terenowe, jest patogenna dla dzikich i domowych zwierząt i ludzi. Jest obecnie rozprzestrzeniona na całym świecie i ściśle powiązana z występowaniem WNF u ludzi. Do tej linii należą szczepy wysoce wirulentne. Na podstawie analizy filogenetycznej szczepy z linii WNV-1 podzielono dodatkowo na kłady: 1a, 1b i 1c oraz sześć klastrow wykazujących filogenetyczne zależności. Do linii WNV-1a należą szczepy z północnej, centralnej i południowej Ameryki, Afryki oraz Bliskiego Wschodu. Kład WNV-1b zawiera szczepy australijskie (Kunjin), a WNV-1c — niektóre szczepy izolowane w Indiach [6, 7].

W linii WNV-2 grupują się szczepy enzootypne izolowane w Afryce Subsaharyjskiej i na Madagaskarze, między innymi szczep B956. Szczepy te oznaczono jako słabo wirulentne o zmniejszonej patogenności [6, 1]. Od roku 2004 izolowano je także w centralnej i wschodniej Europie. Eksperymenty na zwierzętach sugerują, że szczepy wirulentne możemy odnaleźć zarówno w linii WNV-1, jak i w WNV-2. Mutacje zachodzące podczas transkrypcji są odpowiedzialne za wzrost wirulencji szczepów WNV, a najważniejszą z nich jest substytucja aminokwasu w białku niestrukturalnym NS3 w pozycji 249 na prolinę. Istotne znaczenie ma również mutacja związana z białkiem strukturalnym glikoproteiną E w postaci glikosylacji w pozycji 154, która wpływa na wirulencję szczepów WNV. Linia ta rozprzestrzeniła się w Europie w ciągu ostatnich 10 lat, tworząc ogniska tej groźnej choroby u ludzi i koni [8]. Do podgrupy WNV-3 należą szczepy izolowane od komarów (*Culex pipiens*) w Czechach i Austrii, a do podgrupy WNV-4 — szczepy izolowane od

kleszczy na Kaukazie. Izolaty należące do linii WNV-1 oznaczone w Indiach są czasami zaliczane do podgrupy WNV-5. Izolat Kunjin — Sarawak Kunjin — wykazuje wyraźne różnice w stosunku do klasycznych szczepów Kunjin australijskich i był reklasyfikowany jako podgrupa WNV-6. Natomiast afrykański wirus Koutango, blisko spokrewniony z WNV, może być oznaczany w niektórych opracowaniach jako podgrupa WNV-7 [6].

Wirus WNV został po raz pierwszy wyizolowany z surowicy starszej gorączkującej kobiety w prowincji Zachodni Nil w Ugandzie w 1937 roku [9]. Pierwsze ognisko choroby odnotowano w Izraelu w latach 1951–1952 [1]. Odtąd wirus poszerzał zasięg swego występowania: Egipt — w roku 1950, Izrael — w latach 1951–54; w roku 1957 odnotowano przypadki zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych u osób starszych w Izraelu. W 1978 roku został po raz pierwszy wyizolowany na Madagaskarze z krwi dzikich ptaków. W kolejnych latach wirus rozprzestrzenił się na Egipt, region Kongo, Pakistan, Indonezję oraz Republikę Południowej Afryki. Europa była wolna od WNV aż do roku 1996, kiedy to w regionie Bukaresztu w Rumunii odnotowano więcej niż 500 klinicznych przypadków manifestujących się wysokim wskaźnikiem objawów neurologicznych i śmiertelności sięgającej do 10% [10]. W Stanach Zjednoczonych WNV odnotowano po raz pierwszy w 1999 roku, gdy wirus został przeniesiony do ogrodu zoologicznego w Nowym Jorku wraz z chorą papugą z Izraela [11]. W niedługim czasie zaczęły padać okoliczne ptaki krukowate i egzotyczne, a następnie odnotowano 56 przypadków zapalenia opon mózgowych i mózgu u ludzi, w tym siedem przypadków śmiertelnych [1]. Wirus rozprzestrzenił się i utworzył ogniska endemiczne w Stanach Zjednoczonych, Kanadzie, centralnej i południowej Ameryce oraz na Karaibach. Tak szybkie rozprzestrzenianie wirusa powiązane jest z takimi czynnikami, jak: ubikwitarne występowanie komarów (głównego wektora wirusa) i ich łatwe przenoszenie wraz z ułuciem, zimowanie w ciele hibernujących samic oraz transmisja wirusa przez ptaki migrujące [1, 12].

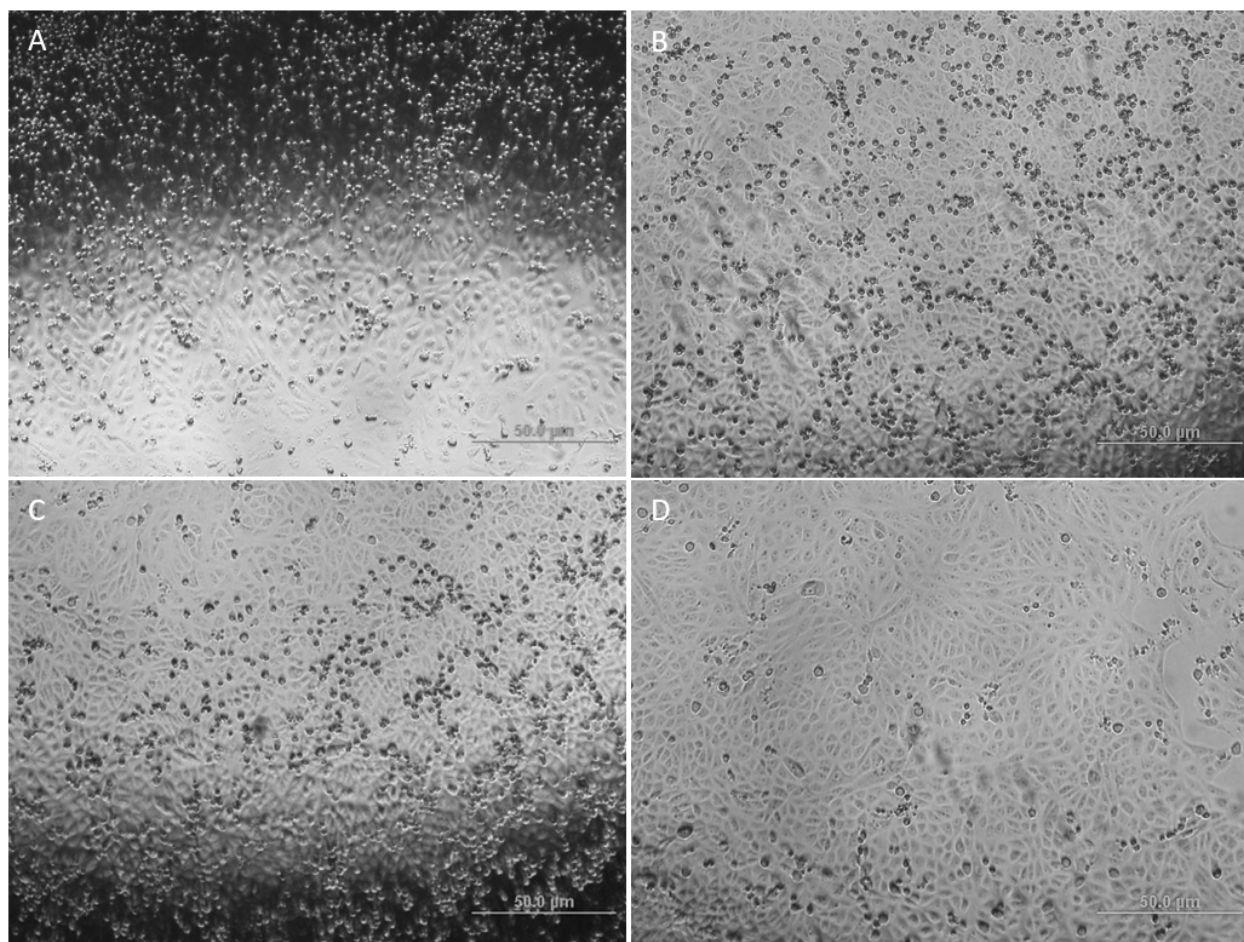
W latach 1973–1974 WNV pojawił się w południowej Afryce, a w 2000 roku — we Francji. W 1996 roku w Rumunii opisano pierwsze ognisko na obszarze zurbanizowanym; zachorowało wówczas 527 osób, z czego 50 zmarło (śmiertelność — 9,5%). Kolejne epidemie odnotowano w 1998 roku we Włoszech oraz w 1999 roku w rejonie Wołgogradu w Rosji. Na przełomie sierpnia i września odnotowano potwierdzone klinicznie przypadki

WNV u pacjentów z ostrym aseptycznym zapaleniem opon mózgowych i mózgu oraz z ostrą wirusową infekcją przebiegającą z wysoką gorączką. Wszystkie 826 przypadków zostało potwierdzonych serologicznie, a 40 osób zmarło [10]. W 1999 roku wirus wyizolowano od komara w Portugalii. Obecność WNV u dzikich ptaków migrujących w Serbii potwierdzono w 8% przypadków. Swoiste przeciwciała wykryto u łabędzia niemego (*Mute Swan*), orła białego (*White-tailed Eagle*) oraz bażantów (*Common Pheasant*).

W 2013 roku Rudolf i wsp. [13] wyizolowali z krwi komarów w Czechach wirusa, który okazał się spokrewniony ze szczepami izolowanymi w latach 2008, 2011 i 2012 w Austrii, we Włoszech i w Serbii. Obecność WNV odnotowano także na Ukrainie — już w latach 70. Ostatnie doniesienia pochodziły z przełomu lat 2011–2012 (8 przypadków). W 2013 roku stwierdzono obecność swoistych przeciwciał u 13,5% koni badanych w Niemczech [14].

Według danych z Europejskiego Centrum do spraw Zapobiegania i Kontroli Chorób (ECDC, *European Centre for Disease Prevention and Control*) w 2016 roku odnotowano 482 przypadki zakażenia WNV [15]. Pierwszy przypadek zakażenia w Europie opisano w lipcu w Rosji i tu także odnotowano najwięcej przypadków zakażeń (135); następnie najwięcej było ich w Rumunii (96), w Izraelu (84), we Włoszech (68), na Węgrzech (43), w Serbii (41), w Austrii i Hiszpanii (po 3), w Turcji i Bułgarii (po 2), w Egipcie, w Chorwacji, na Ukrainie, w Tunezji i na Cyprze (po 1). Od 29 listopada 2016 roku nie odnotowano w Europie żadnego przypadku zakażenia WNV, co ma związek ze spadkiem aktywności komarów [15].

Wirus WNV jest arbowirusem neurotropowym, który po krótkim okresie wiremii i namnażaniu się w tkankach obwodowych przenika do ośrodkowego układu nerwowego (OUN), wywołując efekt cytotacyjny komórek nerwowych i stymulując tym samym tworzenie nacieków zapalnych. Wirus ten jest chorobotwórczy dla różnych gatunków ptaków dzikich, wędrownych, drapieżnych, drobiu [16] oraz ssaków, głównie koni (najbardziej wrażliwe na zakażenie) oraz ludzi. Obecność wirusa stwierdzono u 326 gatunków ptaków dzikich (główny rezeruar tego wirusa), które są przystosowane do długotrwałej wiremii i nie chorują. Za pośrednictwem owadów ptaki te przekazują wirusa innym wrażliwym dzikim ptakom wędrownym w zamkniętym cyklu. Głównym wektorem wirusa jest duża grupa hematofagicznych muchówek żywiących się krwią, do których należą: kuczmany (*Ceratopogonidae*), meszki (*Simuliidae*), ślelaki (*Tabanidae*), komary



Rycina 1. Hodowle komórek *vero* zakażone szczepem WNV NY99 w dawkach: 10^{-1} (A), 10^{-2} (B), 10^{-3} (C) oraz 10^{-4} (D)

Figure 1. Vero cells infected with WNV NY99 strain in a dose of 10^{-1} (A), 10^{-2} (B), 10^{-3} (C), and 10^{-4} (D)

(*Culicidae*), rzadko kleszcze (*Ixodidae*). Główną rolę w przenoszeniu wirusa na ludzi odgrywiają komary ze względu na antropofilność oraz plagowe występowanie w okresach wzmożonej aktywności (od wczesnego lata do późnej jesieni); są to komary głównie z rodzaju *Culex* — biotypy *Culex pipiens pipiens* oraz *Culex pipiens molestus* [5]. Wirus zimuje w ciele hibernujących samic, natomiast samice komara zakażają swoje potomstwo transowarialnie. Wirus WNV namnażany w nabłonku jelita środkowego komarów za pośrednictwem hemolimfy rozprzestrzenia się w całym organizmie, następnie poprzez ukłucie przedostaje się do krwiobiegu zwierzęcia lub człowieka. Stałym rezerwuarem wirusa w środowisku są chronicznie zakażone ptaki. Obraz i charakterystyczny efekt cytopatyczny (CPE, *Cytopathic Effect*) obserwowanych hodowli komórkowych *vero* zakażonych szczepem NY99 przedstawiono na rycinie 1 (A–D).

Drogi rozprzestrzeniania wirusa Zachodniego Nilu

Wirus WNV może rozprzestrzeniać się dzięki migracjom ptaków dzikich na nieznane dotąd terytory. Główną rolę odgrywiają tu różne gatunki ptaków zimujących oraz migrujących. Trasy wędrówek ptaków z terenów Europy Zachodniej prowadzą przez Półwysep Gibraltarski do Maroka i Półwysep Apeniński do Tunezji. Natomiast wędrówki ptaków z terenów Europy Środkowej prowadzą wzdłuż wybrzeża Morza Czarnego, cieśninę Bosfor, wschodnie wybrzeże Morza Śródziemnego i Izrael. Z terenów wschodniej Europy ptaki pokonują trasę wzdłuż rzeki Wołgi, dlatego w okresie wzmożonej aktywności komarów (od wczesnego lata do późnej jesieni) zwiększa się na tych obszarach ryzyko zakażenia tym wirusem. Kiedy w strefie klimatu umiarkowanego, w okresie wczesnej zimy, ryzyko zakażenia wirusem spada, zwiększa się ryzyko

zachorowań w głębi Afryki oraz w Indiach i Azji Południowo-Wschodniej, gdzie zimują ptaki syberyjskie. W ciepłych miesiącach roku (od maja począwszy) zwiększa się ryzyko zachorowań na obszarach, na których w roku poprzednim wystąpiło ognisko choroby [1].

Niezwykle istotnym czynnikiem rozprzestrzeniania się wirusa jest odnotowywane ostatnio zjawisko legalnego importu ptaków, jak również przemytu zainfekowanych osobników drogą lotniczą, morską oraz lądową na odległe tereny kuli ziemskiej. Możliwe jest także bezpośrednie zakażenie (człowiek–człowiek) podczas przetaczania krwi [3, 17] oraz transplantacji organów [3, 18, 19]. Odnotowano przypadki zakażenia niemowlęcia przez karmiącą matkę oraz sporadycznie zakażenie wewnątrzmaciczne. Opisano także zakażenia pracowników laboratoriów podczas wykonywania sekcji zakażonych ptaków [1, 19].

Wrażliwość na zakażenie wirusem Zachodniego Nilu

Najbardziej wrażliwe na zachorowanie są ptaki krukowate (wrony, kruki, sójki), ptaki drapieżne (jastrzębie, sokoły, sowy) oraz drób, szczególnie gęsi. Epidemie u tego gatunku miały miejsce w 1997 roku w Izraelu, w 2001 roku w Rumunii oraz 2003 roku na Węgrzech [16].

Charakterystyczne objawy chorobowe i zmiany anatomopatologiczne występujące u ptaków zakażonych wirusem

U dzikich ptaków, w szczególności z gatunków krukowatych, po zakażeniu wirusem rozwija się długotrwała wiremia, podczas której wirus intensywnie się replikuje, a następnie z krwiobiegiem przedostaje do okolicznych węzłów chłonnych i nadal zakaża ważne narządy. Zakażone ptaki są bardzo osłabione i wykazują szereg objawów neurologicznych, takich jak drgawki, ataksja, ułożenie szyi i głowy w kształcie litery S, konwulsje, niezdolność do ruchu, anizokoria, pływanie w kółko. Przy wysokim poziomie wirerii śmierć następuje po 3–7 dniach od zakażenia [6, 21]. Podczas sekcji padłych ptaków odnotowano szereg zmian anatomopatologicznych, takich jak: krwiaki podtwardówkowe w mózdzku, przekrwienie mózgu, zapalenie mózgu i opon mózgowych, wybroczyny w tkance mięśnia sercowego, zapalenie mięśnia sercowego i nasierdza oraz zanik mięśni piersiowych [16]. Zmiany histopatologiczne dotyczą przebarwień hepatocytów z wi-

docznymi ogniskami nekrotycznymi w wątrobie. Obecność wirusa jest widoczna w nerkach, sercu, mózgu, nadnerczach, trzustce i sporadycznie w jajnikach. U krukowatych zakażenie objawia się ogniskami martwicy w śledzionie i szpiku kostnym [22].

Objawy chorobowe u ludzi

Wirus WNV ma ściśle powinowactwo do OUN. Replikacja odbywa się w komórkach Langerhansa i komórkach dendrytycznych skóry, skąd rozprzestrzenia się do okolicznych węzłów chłonnych i z krwiobiegiem dociera do obwodowych narządów mięszzowych, głównie śledziony i nerek, w których następuje ponowna replikacja wirusa. Nie do końca jasne są dokładny mechanizm i zdolność wirusa do zajęcia OUN już w tydzień po zakażeniu. Wiadomo, że istnieje korelacja między poziomem wirerii a prawdopodobieństwem wystąpienia neuroinwazji. Hipoteza ta jest oparta na mechanizmie zachodzącym w barierze krew–mózg. Transport cząsteczek wirusa przez zakażone komórki układu immunologicznego do OUN, infekcja obwodowych neuronów i procesy endocytozy w śródbłonku naczyń do ośrodkowego układu nerwowego, zakażenie neuronów węchowych, które nie są pod ochroną bariery krew–mózg — wydają się one kluczowymi punktami wyjaśnienia, jak dochodzi do zakażenia OUN [1]. Około 80% zakażeń przebiega bezobjawowo, a okres inkubacji choroby wynosi 2–10 dni. Wiremia trwa krótko i kończy się przed wystąpieniem pierwszych objawów choroby manifestujących się bólem głowy, złym samopoczuciem, brakiem apetytu, nudnościami, zawrotami głowy, bólami mięśniowymi, plamisto-grudkową wysypką oraz powiększeniem węzłów chłonnych. Po upływie 3–6 dni objawy zanikają samoistnie.

Ciężki przebieg choroby z objawami zapalenia opon mózgowych i zapalenia mózgu występuje w jednym na 150 zakażonych przypadków. Taki przebieg charakteryzuje się ataksją, zapaleniem nerwów rdzenia kręgowego, niedowładami, zapaleniem nerwu wzrokowego oraz zespołem objawów przypominających chorobę Parkinsona. Śmiertelność osób hospitalizowanych wynosi 2–14% (maks. 35%). U dzieci zakażenie wirusem przebiega najczęściej bardzo łagodnie. Prowadzone ostatnio badania wykazują związek między grupami krwi a przebiegiem zakażenia. Osoby z grupą krwi A układu ABO oraz brakiem antygenu D z układu Rh znajdują się w grupie ryzyka wystąpienia choroby [23].

Diagnostyka

Wiremia kończy się jeszcze przed wystąpieniem typowych objawów choroby, a gdy te się pojawiają, możemy oznaczyć obecność antygeny WNV w płynie mózgowo-rdzeniowym (CSF, *cerebrospinal fluid*) technikami biologii molekularnej, takimi jak: reakcja łańcuchowa polimerazy z odwrotną transkryptazą (RT-PCR, *reverse transcription-polymerase chain reaction*), RT-PCR przy zastosowaniu podwójnej pary starterów amplifikujących dobrany fragment genomu WNV (*Nested-RT-PCR*) czy reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym (*Real-time PCR*). Dodatkowo w diagnostyce stosujemy lysinkowy test neutralizacji (PRNT, *plaque reduction neutralization test*) oraz przeciwciała monoklonalne. Najnowsze doniesienia sugerują, że obecność antygeny WNV można także oznaczyć w moczu chorych pacjentów [24, 25].

Dodatkowo można oznaczyć obecność przeciwciał klasy IgM w płynie mózgowo-rdzeniowym, która sugeruje infekcję OUN, ponieważ przeciwciała nie przenikają przez barierę krew-mózg. Obecność przeciwciał klasy IgM we krwi można stwierdzić nawet 4–7 dni po zakażeniu, a utrzymują się one do około 9–12 miesięcy. Przeciwciała klasy IgG wykrywane są już od 8. dnia po wystąpieniu objawów klinicznych, jednakże mają ograniczone zastosowanie w diagnostyce. U chorych obserwujemy również podwyższone poziomy mocznika i kreatyniny we krwi świadczące o stanach zapalnych w obrębie nerek. Wiruria, hematuria i proteinuria mogą pojawić się przy rozwiniętym chronicznie schorzeniu nerek kilka miesięcy po zakażeniu [24].

Leczenie

Leczenia przyczynowego dotychczas nie opracowano. Leczenie objawowe przebiega z zastosowaniem grupy leków steroidowych przeciwzapalnych. Złotym standardem jest rybawiryna stosowana w wysokich dawkach 50–60 do 100 μM , która hamuje replikację i efekt cytopatyczny (CPE, *cytopathic effect*) w warunkach *in vitro*, jest jednak mniej efektywna podczas badań *in vivo*, a na modelu zwierzęcym wręcz obserwowano wzrost śmiertelności [26, 27].

Interferon ($\text{INF-}\alpha$ i β) hamuje replikację i CPE w warunkach *in vitro*. Opisano jednak tylko nieliczne przypadki terapii u pacjentów z pozytywnymi wynikami [26]. Dodatkowo stosuje się leczenie objawowe: podawanie płynów, środków przeciwbólowych oraz antybiotykoterapię w celu eliminacji infekcji wtórnych. Dobre efekty przyniosło zasto-

sowanie γ -globuliny u myszy i chomików, co daje nadzieję na możliwość ich wykorzystania w terapii u ludzi po przeprowadzeniu serii badań klinicznych. W terapii podjęto próby stosowania rekombinowanych przeciwciał monoklonalnych FDA [28].

Dotychczas opracowano i udostępniono cztery szczepionki dla koni: *ChimeriVax-WN* — szczepionka wektorowa inaktywowana formaliną zawierająca białka powierzchniowe WNV wprowadzone do genomu YFV; *West Nile Innovator* i *Vetera WNV vaccine* — szczepionki oparte na całym wirusie inaktywowanym formaliną oraz *Recombitek Equine West Nile Virus Vaccine* — chimerowy rekombinant *canarypox vaccine* wywołujący ekspresję białka prM i E szczepu NY99 [1, 29]. Szeroko zakrojone badania prowadzone w Nebrasce, Kolorado i Kalifornii wykazały, że nawet częściowa wakcynacja redukuje ryzyko zakażenia i rozwój objawów chorobowych [1]. Niezaszczepione konie są 23 razy bardziej narażone na infekcję i manifestację objawów klinicznych.

Obecnie trwają badania nad szczepionką dla ludzi, która mogłaby być stosowana u dawców wielokrotnych [30]. Badania dotyczą szczepionki skomercjalizowanej jako szczepionka weterynaryjna (*ChimeriVax-WN01*), do której — w celu stosowania u ludzi — wprowadzono trzy mutacje białka E, aby obniżyć wirulencję szczepu. W badaniach przedklinicznych udowodniono działanie ochronne szczepionki u chomików, myszy i makaków, a wstępne badania kliniczne na ludziach okazały się obiecujące. Szczepionka jest immunogenna i bezpieczna [31], aczkolwiek nie zabezpiecza pacjentów bez objawów klinicznych, u których doszło do neuroinwazji przed zaszczepieniem [26]. Obecnie nie ma na rynku licencjonowanej szczepionki ani leków celowanych przeciwko WNV z przeznaczeniem dla ludzi [26]. Przeciwciał mysich nie można bezpośrednio wykorzystać w leczeniu ludzi ze względu na niekompatybilność IgG mysich z ludzкими [26]. Na podstawie badań *in vitro* oraz *in vivo* przeciwciała monoklonalne equine IgG-derived $\text{F(ab}^0)_2$ pozyskane od koni chronią myszy przed wystąpieniem objawów klinicznych zakażenia WNV oraz zgonem, wobec czego mogą być potencjalnie użyteczne w leczeniu pacjentów zakażonych WNV [26].

Wirus Zachodniego Nilu w Polsce

Badania metodą zahamowania hemaglutynacji przeprowadzone w latach 1995–1996 wykazały obecność przeciwciał odpornościowych skierowanych przeciwko WNV u wróbla domowych (*Passer domesticus*) oraz wróbla mazurków (*Passer*

Tabela 1. Wyniki uzyskane technikami biologii molekularnej. Próbkę pozyskano z mózgu padłych ptaków dzikich**Table 1.** Results obtained from brain samples of dead wild birds with molecular biology methods

	Dodatnie	Ujemne
RT-PCR	–	7240
NRT-PCR	–	7240

Tabela 2. Wyniki uzyskane testami serologicznymi ELISA dla ptaków, koni i ludzi**Table 2.** Results obtained with serological ELISA assay for birds, horses and humans

	Ptaki		Konie		Ludzie	
	Ujemne	Dodatnie	Ujemne	Dodatnie	Ujemne	Dodatnie
ELISA	696	69	473	1	10	14
ID VET ID Screen West Nile IgM Capture						
ID Screen West Nile Competition	696	69	473	1	10	14

Tabela 3. Wyniki uzyskane testami serologicznymi ELISA dla ptaków, koni i ludzi z wyszczególnieniem kolejnych lat (2010–2016)**Table 3.** Results obtained with serological ELISA assay for birds, horses and humans, broken down into years (2010–2016)

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Pozytywne przypadki u ptaków	–	–	61	1	1	6	–
Pozytywne przypadki u koni	–	–	1	–	–	–	–
Pozytywne przypadki u ludzi	–	14	–	–	–	–	–

montanus). W populacji wróbla w Łomiankach, na obrzeżach Puszczy Kampinoskiej, obecność swoistych przeciwciał wykryto odpowiednio u 2,8% wróbla domowych oraz 12,1% wróbla mazurków [32]. W 2006 roku obecność przeciwciał odpornościowych anti-WNV stwierdzono w surowicy pięciu osobników: u trzech bocianów białych (*Ciconia ciconia*), jednego łabędzia niemego (*Cygnus olor*) z okolic Sieradza oraz jednej wrony (*Corvus corone cornix*). Cztery z przebadanych ptaków pochodziły z Ptasiego Azylu w warszawskim ogrodzie zoologicznym. Wśród badanych dzikich ptaków 10,6% było seropozytywnych [33]. Obecność przeciwciał reagujących z antygenem WNV wśród mieszkańców/pracowników leśnych województw podlaskiego i świętokrzyskiego opisał Kondrusik [34]. Występowanie swoistych przeciwciał stwierdzono także u kobiety hospitalizowanej w Klinice Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Akademii Medycznej w Białymstoku (AMB) [35].

W Zakładzie Chorób Wirusowych Drobiu Państwowego Instytutu Weterynaryjnego — Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach prze-

badano ponad 7,24 tys. ptaków dzikich pochodzących z terenów całej Polski. Wśród przebadanych osobników znajdowały się: jastrzębie, myszołowy, wrony, kruki, kaczki cyranki, kaczki krzyżówki, łyski, bażanty i bociany. Próbkę pobrane od ptaków dzikich badano metodą własną NRT-PCR; obecności materiału genetycznego WNV nie stwierdzono (tab. 1). W latach 2010–2017 próbki pozyskane od dzikich ptaków, koni i ludzi badano dodatkowo testami serologicznymi ELISA, a w badanych próbkach stwierdzono obecność swoistych przeciwciał przeciwko WNV: 13,29% u ptaków, 0,26% u koni i 33,33% u pacjentów Kliniki Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji AMB (tab. 2 i 3) [36].

W następstwie stwierdzenia obecności przeciwciał WNV u pacjentów Kliniki Neuroinfekcji, jak również u ptaków dzikich i konia, można uznać, że groźny wirus jest już obecny na terenie naszego kraju. W dobie zagrożeń związanych z ociepleniem klimatu [37], skutkujących dogodniejszymi warunkami dla bytowania komarów [38], niezbędne zdają się badania w kierunku dalszej diagnostyki WNV i identyfikacji filogenetycznej, a także prowadzenie

badania monitorujących (ptaków, koni i ludzi), szczególnie wśród dawców krwi na terenie całego kraju. W tym celu niezbędna jest ścisła współpraca służb leśnych, ornitologów, służb granicznych, Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego — Państwowego Zakładu Higieny (PZH), Zakładu Higieny Weterynaryjnej (ZHW), Głównego Inspektoratu Weterynarii (GIW) i Głównego Inspektoratu Sanitarnego (GIS).

Piśmiennictwo

1. Belgrave RL. Chapter 35. West Nile Virus Robinson's Current Therapy in equine Medicine (17th Edition. ; 2015: 152–154.
2. Jurado-Tarifa E, Napp S, Lecollinet S, et al. Monitoring of West Nile virus, Usutu virus and Meaban virus in waterfowl used as decoys and wild raptors in southern Spain. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2016; 49: 58–64, doi: [10.1016/j.cimid.2016.10.001](https://doi.org/10.1016/j.cimid.2016.10.001), indexed in Pubmed: [27865265](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27865265/).
3. Semenza JC, Tran A, Espinosa L, et al. Climate change projections of West Nile virus infections in Europe: implications for blood safety practices. *Environ Health.* 2016; 15 Suppl 1: 28, doi: [10.1186/s12940-016-0105-4](https://doi.org/10.1186/s12940-016-0105-4), indexed in Pubmed: [26961903](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26961903/).
4. Paz S. Climate change impacts on West Nile virus transmission in a global context. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2015; 370(1665), doi: [10.1098/rstb.2013.0561](https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0561), indexed in Pubmed: [25688020](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25688020/).
5. Simonato M, Martinez-Sañudo I, Cavaletto G, et al. High genetic diversity in the *Culex pipiens* complex from a West Nile Virus epidemic area in Southern Europe. *Parasit Vectors.* 2016; 9: 150, doi: [10.1186/s13071-016-1429-1](https://doi.org/10.1186/s13071-016-1429-1), indexed in Pubmed: [26979749](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26979749/).
6. De Filette M, Ulbert S, Diamond M, et al. Recent progress in West Nile virus diagnosis and vaccination. *Vet Res.* 2012; 43: 16, doi: [10.1186/1297-9716-43-16](https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-16), indexed in Pubmed: [22380523](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22380523/).
7. Pisani G, Cristiano K, Pupella S, et al. West Nile Virus in Europe and Safety of Blood Transfusion. *Transfusion Medicine and Hemotherapy.* 2016; 43(3): 158–167, doi: [10.1159/000446219](https://doi.org/10.1159/000446219).
8. Mentoor J, Lubisi A, Gerdes T, et al. Full-Genome Sequence of a Neuroinvasive West Nile Virus Lineage 2 Strain from a Fatal Horse Infection in South Africa. *Genome Announcements.* 2016; 4(4): e00740–16, doi: [10.1128/genomea.00740-16](https://doi.org/10.1128/genomea.00740-16).
9. Smithburn KC, Hughes TP, Paul JH, et al. A Neurotropic Virus Isolated from the Blood of a Native of Uganda 1. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 1940; s1-20(4): 471–492, doi: [10.4269/ajtmh.1940.s1-20.471](https://doi.org/10.4269/ajtmh.1940.s1-20.471).
10. Platonov AE, Shipulin GA, Shipulina OY, et al. Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7(1): 128–132, doi: [10.3201/eid0701.700128](https://doi.org/10.3201/eid0701.700128), indexed in Pubmed: [11266303](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11266303/).
11. CD raport for 2008 West Nile Virus Activity in the United States (Reported to CDC as of December 16. ; 2008.
12. Zeller HG, Schuffenecker I. West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004; 23(3): 147–156, doi: [10.1007/s10096-003-1085-1](https://doi.org/10.1007/s10096-003-1085-1), indexed in Pubmed: [14986160](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14986160/).
13. Rudolf I, Bakonyi T, Sebesta O, et al. West Nile Virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: Expansion of the European WNV endemic area to the north. *Eurosurveillance* 2014; 19: 31.
14. Ziegler U, Jöst H, Müller K, et al. Epidemic Spread of Usutu Virus in Southwest Germany in 2011 to 2013 and Monitoring of Wild Birds for Usutu and West Nile Viruses. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015; 15(8): 481–488, doi: [10.1089/vbz.2014.1746](https://doi.org/10.1089/vbz.2014.1746), indexed in Pubmed: [26273809](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26273809/).
15. http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/pages/index.aspx.
16. Glávits R, Ferenczi E, Ivanics E, et al. Co-occurrence of West Nile Fever and circovirus infection in a goose flock in Hungary. *Avian Pathol.* 2005; 34(5): 408–414, doi: [10.1080/03079450500268039](https://doi.org/10.1080/03079450500268039), indexed in Pubmed: [16236574](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16236574/).
17. Pisani G, Cristiano K, Pupella S, et al. West Nile Virus in Europe and Safety of Blood Transfusion. *Transfusion Medicine and Hemotherapy.* 2016; 43(3): 158–167, doi: [10.1159/000446219](https://doi.org/10.1159/000446219).
18. Iwamoto M, Jernigan D, Guasch A, et al. Transmission of West Nile Virus from an Organ Donor to Four Transplant Recipients. *New England Journal of Medicine.* 2003; 348(22): 2196–2203, doi: [10.1056/nejmoa022987](https://doi.org/10.1056/nejmoa022987).
19. World Animal Health Information Database. (WAHID): 2016.
20. Yu Li, Takeda K, Gao Y. Characterization of virus-specific vesicles assembled by West Nile virus non-structural proteins. *Virology.* 2017; 506: 130–140, doi: [10.1016/j.virol.2017.03.016](https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.03.016), indexed in Pubmed: [28388487](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28388487/).
21. Adrián Diaz L, Komar N, Visintin A, et al. West Nile virus in birds, Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14(4): 689–691, doi: [10.3201/eid1404.071257](https://doi.org/10.3201/eid1404.071257), indexed in Pubmed: [18394305](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18394305/).
22. Wheeler SS, Langevin SA, Brault AC, et al. Detection of persistent West Nile virus RNA in experimentally and naturally infected avian hosts. *Am J Trop Med Hyg.* 2012; 87(3): 559–564, doi: [10.4269/ajtmh.2012.11-0654](https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0654), indexed in Pubmed: [22826479](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22826479/).
23. Tobler LH, Cameron MJ, Lanteri MC, et al. Interferon and interferon-induced chemokine expression is associated with control of acute viremia in West Nile virus-infected blood donors. *J Infect Dis.* 2008; 198(7): 979–983, doi: [10.1086/591466](https://doi.org/10.1086/591466), indexed in Pubmed: [18729779](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18729779/).
24. Nagy A, Bán E, Nagy O, et al. Detection and sequencing of West Nile virus RNA from human urine and serum samples during the 2014 seasonal period. *Arch Virol.* 2016; 161(7): 1797–1806, doi: [10.1007/s00705-016-2844-5](https://doi.org/10.1007/s00705-016-2844-5), indexed in Pubmed: [27038827](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27038827/).
25. OIE 2013. West Nile Disease, OIE Terrestrial Manual 2013, Chapter 2.1.20. Available at http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.20_WEST_NILE.pdf.
26. Cui J, Zhao Y, Wang H, et al. Equine Immunoglobulin and Equine Neutralizing F(ab') Protect Mice from West Nile Virus Infection. *Viruses.* 2016; 8(12), doi: [10.3390/v8120332](https://doi.org/10.3390/v8120332), indexed in Pubmed: [27993340](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27993340/).
27. Morrey JD, Day CW, Julander JG, et al. Effect of interferon-alpha and interferon-inducers on West Nile virus in mouse and hamster animal models. *Antivir Chem Chemother.* 2004; 15(2): 101–109, indexed in Pubmed: [15185728](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15185728/).
28. www.nyhq.org/posting/rahal.html.
29. Ng T, Hathaway D, Jennings N, et al. Equine vaccine for West Nile virus. *Dev Biol (Basel).* 2003; 114: 221–227, indexed in Pubmed: [14677692](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14677692/).
30. Monath TP, Seligman SJ, Robertson JS, et al. Brighton Collaboration Viral Vector Vaccines Safety Working Group (V3SWG). Live virus vaccines based on a yellow fever vaccine backbone: standardized template with key considerations for a risk/benefit assessment. *Vaccine.* 2015; 33(1): 62–72, doi: [10.1016/j.vaccine.2014.10.004](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.10.004), indexed in Pubmed: [25446819](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25446819/).
31. Tkaczuk K, Lachert E, Sulkowska E, et al. Wirus Zachodniego Nilu a bezpieczeństwo przetoczeń krwi i jej składników. *J Transf Med.* 2013; 3: 69–84.

32. Juricová Z, Pinowski J, Literák I, et al. Antibodies to alphavirus, flavivirus, and bunyavirus arboviruses in house sparrows (*Passer domesticus*) and tree sparrows (*P. montanus*) in Poland. *Avian Dis.* 1998; 42(1): 182–185, indexed in Pubmed: [9533098](#).
33. Wegner E, Hubalek Z. Parasitic, allergic and poisonous arthropods — medical and sanitary importance, in *Proceedings of the 10th International Symposium on Materials*, p. 51, Kazimierz Dolny, Poland. ;2008.
34. Kondrusik M, Ferenczi E, Zajkowska J, et al. Obecność przeciwciał reagujących z antygenem wirusa Zachodniego Nilu (WNV) wśród mieszkańców województw podlaskiego i świętokrzyskiego. *Przeł Epidemiol.* 2007; 61: 409–416.
35. Hermanowska-Szpakowicz T, Grygorczuk S, Kondrusik M, et al. Zakażenie wirusem zachodniego Nilu. *Przeł Epidemiol.* 2006; 60: 93–98.
36. Niczyporuk JS, Samorek-Salamonowicz E, Lecollinet S, et al. Occurrence of West Nile virus antibodies in wild birds, horses, and humans in Poland. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 234181, doi: [10.1155/2015/234181](#), indexed in Pubmed: [25866767](#).
37. Paz S. Climate change impacts on West Nile virus transmission in a global context. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2015; 370(1665), doi: [10.1098/rstb.2013.0561](#), indexed in Pubmed: [25688020](#).
38. Benjelloun A, El Harrak M, Belkadi B. West Nile Disease Epidemiology in North-West Africa: Bibliographical Review. *Transbound Emerg Dis.* 2016; 63(6): e153–e159, doi: [10.1111/tbed.12341](#), indexed in Pubmed: [25753775](#).