






# Rekomendacje dotyczące ograniczania przenoszenia wirusa Zachodniego Nilu (WNV) przez transfuzje krwi oraz jej składników na terenie Polski

Piotr Grabarczyk<sup>1</sup>, Jowita Niczyporuk<sup>2</sup>, Piotr Czupryna<sup>3</sup>, Elżbieta Lachert<sup>4</sup>,  
Magdalena Łętowska<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Zakład Wirusologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

<sup>2</sup>Zakład Chorób Drobni, Państwowy Instytut Weterynaryjny — Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

<sup>3</sup>Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

<sup>4</sup>Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Grabarczyk P, Niczyporuk J, Czupryna P. et al. Limitation of West Nile Virus transmission through transfusion of blood/blood components — Polish recommendations. *J Transf Med* 2020; 13 (4): 239–248. DOI: 10.5603/JTM.2020.0009.

Należy cytować wersję pierwotną.

## Streszczenie

*Od wielu lat wirus Zachodniego Nilu znajduje się w centrum zainteresowania transfuzjologów ze względu na udokumentowane przenoszenie przez transfuzje krwi oraz jej składników. W ostatnich latach obserwuje się okresowe zwiększanie liczby zakażeń w Europie (2018 r.) oraz ogniska zakażeń wśród zwierząt oraz u ludzi na terenach, na których dotychczas obecność wirusa nie była obserwowana.*

*W niniejszej pracy dokonano aktualizacji danych dotyczących biologii oraz epidemiologii wirusa Zachodniego Nilu prezentowanych w publikacji „Journal of Transfusion Medicine” [1] oraz przedstawiono propozycje postępowania mającego na celu zapobieganiu przenoszenia wirusa przez transfuzje na wypadek pojawienia się zakażeń ludzi na terenie Polski. Zalecenia krajowe powstały na podstawie rekomendacji międzynarodowych, w wyniku współpracy transfuzjologów ze specjalistami chorób zakaźnych oraz z ośrodkami naukowymi monitorującymi epidemiologię wirusa.*

**Słowa kluczowe:** wirus Zachodniego Nilu, dawcy krwi, bezpieczeństwo transfuzji, Polska, zalecenia

*J. Transf. Med.* 2020; 13: 228–238

## Ogólne informacje dotyczące wirusa Zachodniego Nilu

Wirus Zachodniego Nilu (WNV, *West Nile Virus*) został po raz pierwszy wyizolowany z krwi chorej kobiety w prowincji Zachodni Nil w Ugandzie w 1937 roku [2]. Ostatnie dane epidemiologiczne świadczą o utrzymywaniu się epidemii w niektórych regionach

Europy oraz w Ameryce Północnej, można nawet mówić o jej nasilaniu się na pewnych obszarach. Choć dotychczas nie opisano w Polsce przypadków zakażenia ludzi, to jednak wyniki badań zwierząt mogą świadczyć o krążeniu tego wirusa w ekosystemie. Zmiany klimatyczne oraz zdolności adaptacyjne wirusa, które przyczyniły się do obecnej sytuacji epidemiologicznej, są powodem zainteresowania wirusem także w Polsce.

**Adres do korespondencji:** dr hab. n. med. Piotr Grabarczyk, kierownik Zakładu Wirusologii w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, ul. Chocimska 5, 00–957 Warszawa, e-mail: pgrabarczyk@ihit.waw.pl, tel. 22 3496 685, faks 22 3496 603

Wirus Zachodniego Nilu należy do rodziny *Flaviviridae* obejmującej także wirusa dengi (DENV, *dengue virus*), wirusa japońskiego zapalenia mózgu (JEV, *Japanese encephalitis virus*), wirusa kleszczowego zapalenia mózgu, wirusa zapalenia mózgu Doliny Murray czy wirusa żółtej gorączki (YFV), z rodzaju *Flavivirus*. Należy do serokompleksu japońskiego zapalenia mózgu, w którego skład wchodzi kilka istotnych pod względem klinicznym wirusów, odpowiedzialnych za ludzkie przypadki zapalenia mózgu: wirus japońskiego zapalenia mózgu, wirus zapalenia mózgu St. Louis, wirus zapalenia mózgu Murray Valley i wirus Kunjin (podtyp WNV występujący w Australii) odpowiedzialny za wywoływanie tzw. australijskiego zapalenia mózgu. Ścisłe pokrewieństwo antygenowe tych wirusów odpowiada za krzyżowe reakcje serologiczne [3].

Wirus Zachodniego Nilu jest zaliczany do grupy arbowirusów, czyli wirusów przenoszonych przez stawonogi [4]. Wirion WNV ma charakter osłonkowy i jest średnich rozmiarów (40–60 nm średnicy), zawiera pojedynczą cząsteczkę RNA o długości około 11 000 nukleotydów, kodującą jedną poliproteinę.

Wyodrębniono osiem linii filogenetycznych wirusa. Klasyfikacje poszczególnych linii oparto na analizie sekwencji genów kodujących białka strukturalne i niestrukturalne linii WNV-1-5 [5]. Linia 1 jest patogenna dla domowych i dzikich zwierząt oraz dla ludzi. Obecnie jest rozprzestrzeniona na całym świecie i ściśle powiązana z wystąpieniem gorączki Zachodniego Nilu u ludzi, należą do niej szczepy wysoce wirulentne. Na podstawie analizy filogenetycznej i geograficznej szczepy z linii 1 podzielono dodatkowo na trzy kłady oznakowane jako 1a, reprezentujący sześć klastrow: gałąź 1 to szczepy z Europy i Afryki, gałąź 2 — szczepy z Maroka, Francji, Portugalii, Włoch, Rosji i Rumunii, gałąź 3 zawiera szczepy z Rosji, gałąź 4 — to szczepy izolowane w Ameryce Północnej i Południowej, Izraelu, Tunezji i na Węgrzech, gałąź 5 — zawiera szczepy z Republiki Środkowej Afryki, natomiast gałąź 6 — szczepy izolowane w Senegalii i Nigerii. Do kładu 1b sklasyfikowano wirus Kunjin, rozprzestrzeniony w Australii i Oceanii oraz kład 1c, zawierający szczepy z Indii [6]. W linii 2 grupują się szczepy enzootyczne izolowane w Afryce Subsaharyjskiej i Madagaskarze. Szczepy te oznaczono jako słabo wirulentne [5]. Od 2004 roku szczepy te są także izolowane w Europie Centralnej i Wschodniej. Wyniki eksperymentów na zwierzętach sugerują, iż szczepy wirulentne można odnaleźć zarówno w linii WNV-1, jak i WNV-2. Mutacje w odpowiednich

regionach genomu są odpowiedzialne za wzrost wirulencji szczepów WNV, a najważniejszą z nich jest substytucja aminokwasu w białku niestrukturalnym NS3 w pozycji 249 na prolinę. Inną istotną mutacją, która ma wpływ na wirulencję szczepów WNV, to glikolizacja glikoproteiny E w pozycji 154. Linia ta rozprzestrzeniła się w Europie przez ostatnie 10 lat, powodując ogniska tej groźnej choroby u ludzi i koni [7]. Gałąź 2a reprezentuje szczepy z Madagaskaru oznaczone jako MAD78, gałąź 2b reprezentuje szczepy z Republiki Południowej Afryki (SA58b) oraz Cypru (CYP68), natomiast gałąź 2c zawiera szczepy izolowane z Madagaskaru (MAD88). Gałąź 2d zawiera szczepy z Demokratycznej Republiki Konga (CON58), Republiki Południowej Afryki (SA58A, SA89, SA00), Republiki Środkowej Afryki (CAR82), Ugandy (UGA37), Senegalii (SEN90), Rosji (RUSV07), Węgier (HUN04), Grecji (GRE10) oraz Włoch (ITA11b) [8].

Do linii WNV-3 opisywanej jako Rabensburg, należą szczepy izolowane od komarów *Culex pipiens* i *Aedes rossicus* w Czechach i granicy czesko-austriackiej [9, 10].

Do linii WNV-4 należą szczepy izolowane od kleszczy *Dermacentor marginatus* w południowo-zachodniej części Kaukazu w Rosji, od komarów z gatunku *Uranotaenia unguiculata* oraz z krwi żab w dolinie rzeki Wołgi [11, 12]. Szczepy te nie są patogenne dla ludzi.

Do linii WNV-5 sklasyfikowano 13 szczepów izolowanych w Indiach. Szczepy te pochodzą zarówno od ludzi, jak i od komarów z gatunku *Culex spp.* [13].

Linia WNV-6 to linia oznaczona jako Sawarank, Izolat Kunjin (Sarawak Kunjin), wykazuje wyraźne różnice w stosunku do klasycznych szczepów Kunjin australijskich. Materiał genetyczny wirusa reprezentujący linie 6 wyizolowano także z populacji komarów z gatunku *Culex pseudovishnui*. Jak do tej pory nie potwierdzono jego patogenności dla ludzi i zwierząt [14].

Linia WNV-7 to afrykański wirus Koutango izolowany z krwi myszokoczków, w regionie Koutango w Senegalii i Somalii. W toku prowadzonych badań wykazano jego wyższą wirulencję od genotypu WNV<sub>NY99</sub>, odpowiedzialnego za jedną z największych epidemii w Stanach Zjednoczonych [14].

Linia WNV-8 nosi nazwę rodowodu Yaounde, który początkowo wyodrębniono jako wirus Yaounde izolowany od ptaków, ssaków i komarów z gatunków *Culex spp.* i *Aedes spp.* w Kamerunie, Republice Środkowej Afryki, Republice Demokratycznej Konga, Senegalii, Ghanii i Wybrzeżu Kości Słoniowej. Dotychczas nie wykazano jego patogenności dla człowieka [15].

## Cykl życiowy

**Pierwotnym rezerwuarem** wirusa są ptaki tropikalne i wędrownie, które pomimo bardzo wysokiego poziomu wirēmii i długotrwałego zakażenia nie chorują. Inaczej jest z ptakami żyjącymi poza obszarami endemicznego występowania wirusa. Ptaki te są bardzo podatne na zakażenie, które objawia się osłabieniem, drgawkami, ataksją, zmianą wyglądu (np. ułożenie szyi w kształt litery S) oraz nietypowym zachowaniem (najczęściej obserwuje się zataczanie kół podczas pływania) [16, 17]. Masowe padanie ptaków, a następnie innych zwierząt, najczęściej koni, zazwyczaj wskazuje na wysokie prawdopodobieństwo występowania w bliskiej przyszłości zachorowań wśród ludzi [16]. Wirus zakaża ponad 300 gatunków ptaków [18].

**Wektorem** dla WNV są żywiące się krwią muchówki, a przede wszystkim komary i meszki. **Wirus jest przenoszony przez ponad 150 gatunków komarów, spośród których 12 występuje w Polsce.** Szczególnie istotne dla szerzenia się zakażenia wirusem są komary żywiące się zarówno krwią ptaków, jak i ssaków (np. *Culex spp.*, *Culiseta spp.*, *Anopheles spp.*) [16, 19]. Komary zakażają się WNV, żywiąc się krwią zarażonych ptaków i to właśnie u ptaków (za wyjątkiem kilku gatunków) wirus produkuje wystarczająco wysokie miana wirēmii, aby zainfekować komary [20]. Wirus namnaża się w nabłonku jelita środkowego komara. Następnie za pośrednictwem hemolimfy rozprzestrzenia się po całym organizmie, w tym do gruczołów ślinowych, gdzie jest wydzielany w wysokim stężeniu do śliny komara. Ze złożonych przez samicę komara jaj wykluwają się osobniki zakażone wirusem [17, 21]. Podczas ukłucia komara wirus wraz z wydzieliną gruczołów ślinowych zostaje wprowadzony do komórek skóry kolejnego żywiciela [22]. W ciele niektórych żywicieli przypadkowych, którymi mogą być ludzie i konie, może dochodzić do manifestacji objawów klinicznych zakażenia, jednak poziom wirēmii jest zbyt niski do tego, aby możliwe było zakażenie wektora.

Długość okresu, kiedy możliwe jest przeniesienie wirusa w ciągu roku, zależy od klimatu. Na terenach, gdzie panuje klimat umiarkowany, ciepły morski i kontynentalny warunki do namnażania się wirusa mogą występować w okresie letnim, podczas upałów. W obszarach tropikalnych i subtropikalnych transmisja wirusa trwa nieustannie [16]. Występowanie odpowiedniej temperatury jest czynnikiem koniecznym i ograniczającym zdolność komarów do transmisji wirusa. Dlatego lokalne temperatury podczas cyklu żywienia komarów są

istotne dla ustalenia, czy wirus będzie się rozprzestrzeniać [23].

Do niedawna uważano, że aby wirus mógł się namnażać w organizmie komara, konieczna jest temperatura co najmniej 22°C przez całą dobę w ciągu 12 dni [24]. Ostatnio wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że możliwości adaptacyjne wirusa są większe niż sądzono. Obecnie uważa się, że warunkiem do namnażania się wirusa jest temperatura nie niższa niż 14,3°C przez 12-dniowy okres zerowania wektora [23].

Udowodniono ponadto, że wraz ze wzrostem temperatury otoczenia skraca się czas niezbędny dla uzyskania przez komara zdolności przenoszenia wirusa. Wykazano, że nawet niewielki wzrost temperatury może mieć stosunkowo duży wpływ na zwiększenie transmisji WNV [25]. Nowe obserwacje dotyczące zależności między temperaturą otoczenia a przeniesieniem wirusa WNV przez komary tłumaczą fakt występowania zakażeń wśród ludzi w klimacie chłodniejszym, m.in. w Kanadzie, gdzie tylko w 2012 roku odnotowano w sumie 450 klinicznych przypadków i bezobjawowych infekcji WNV [26]. Wraz ze zmianami klimatycznymi jest prognozowane rozszerzenie się strefy występowania zakażeń WNV w Europie. Przewiduje się już w trzeciej dekadzie tego stulecia występowanie zakażeń WNV na południu naszego kraju [27].

Zakażony komar, żywiąc się krwią ptaków, ssaków i innych zwierząt, zakaża je WNV. Ssaki są dla wirusa żywicielem przypadkowym. Uważa się, że w naturalnych warunkach przeniesienie zakażenia z człowieka na człowieka nie występuje. Możliwe jest jednak przeniesienie wirusa poprzez przetoczenie krwi i/lub jej składników, przeszczepienie organów; udokumentowano także przypadki przeniesienia zakażenia wewnątrzmacicznie oraz drogą przezłożyskową [28], zakażenie dziecka przez mleko matki oraz poprzez styczność z materiałem biologicznym zawierającym wirusa (pracownicy laboratoryjni) [29].

## Aktualna sytuacja epidemiologiczna w Polsce i w Europie

Według danych Europejskiego Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób (ECDC, *European Centre for Disease Prevention and Control*) w 2018 roku odnotowano większą liczbę przypadków zakażenia WNV w porównaniu z sezonami przenoszenia w poprzednich latach, co było związane prawdopodobnie m.in. z dłuższą niż w poprzednich latach trwającym sezonem epidemicznym. Pierwszy przypadek zakażenia zgłoszono pod koniec maja, a ostatni przypadek odnotowano w grudniu.

Jedenaście państw członkowskich Unii Europejskiej/Europejskiego Obszaru Gospodarczego (UE/EOG) zgłosiło łącznie 1605 zakażeń WNV, z których 1548 (96%) zostało nabytych lokalnie, w tym 85% (n = 1311) zostało potwierdzonych. Większość przypadków nabytych lokalnie zgłoszono we Włoszech, Grecji i Rumunii. W porównaniu z 2017 rokiem odnotowano 12-krotny wzrost liczby przypadków we Włoszech, 7-krotny wzrost w Grecji i 4-krotny wzrost w Rumunii. W 2018 roku zgłoszono 992 przypadki neuroinwazyjnego przebiegu zakażenia, 468 przypadków nieinwazyjnych i 83 zakażenia wśród dawców krwi [30].

Natomiast w 2019 roku państwa członkowskie Unii Europejskiej i kraje sąsiadujące z UE zgłosiły 463 przypadki zakażenia WNV wśród ludzi: w Grecji (223), w Rumunii (66), we Włoszech (53), na Węgrzech (36), na Cyprze (16), w Bułgarii (5), w Austrii (4), w Niemczech (4), we Francji (2) i na Słowacji (1). Kraje sąsiadujące z UE zgłosiły 53 przypadki zakażenia: w Serbii (27), w Izraelu (10), w Turcji (10) i w Macedonii Północnej (6). W tym samym okresie zgłoszono 50 zgonów z powodu zakażeń wirusem Zachodniego Nilu. W tym sezonie transmisji zarówno Niemcy, jak i Słowacja zgłosiły pierwsze rodzime (autochtoniczne) infekcje wirusem Zachodniego Nilu [31].

### **Badania epidemiologiczne wirusa Zachodniego Nilu w Polsce**

Pierwsze doniesienia wskazujące pośrednio na obecność WNV w Polsce pochodzą z połowy lat 90. XX wieku. Dotyczą one badań populacji wróbla domowych (*Passer domesticus*) i wróbla mazurków (*Passer montanus*) z Łomianek pod Warszawą, na skraju Puszczy Kampinoskiej. Oba gatunki należą do populacji ptaków osiadłych. Obecność przeciwciał przeciwko WNV stwierdzono u 12,1% wróbla mazurków i 2,8% wróbla domowych [32]. W 2006 roku w populacji 97 wolno żyjących ptaków, należących do 10 gatunków, swoiste przeciwciała stwierdzono u 5 osobników (trzech bocianów białych, jednego łabędzia niemegego i jednej wrony) (5,2%): cztery z przebadanych ptaków pochodziły z Ptasiego Azylu w Ogrodzie Zoologicznym w Warszawie [33]. W 2009 roku opisano po raz pierwszy w Polsce technikę NRT-PCR opracowaną do identyfikacji wirusa Zachodniego Nilu w tkance mózgowej chorych ptaków [34]. W latach 2004–2009 przeprowadzono badania na obecność materiału genetycznego wirusa u ponad 15 tysięcy samic komarów z obszaru województwa kujawsko-pomorskiego, warmińsko-mazurskiego,

mazowieckiego i podlaskiego. Natomiast w latach 2007–2010 przeprowadzono badania tkanki mózgowej 2140 dzikich ptaków z różnych rejonów Polski. W obu badaniach nie stwierdzono RNA wirusa [35, 36]. Kolejne badania tkanki mózgowej ptaków dzikich wykonano w latach 2011–2015. W ich trakcie przebadano 7240 próbek, jednak w żadnej z nich nie wykryto materiału genetycznego wirusa [37].

W badaniach serologicznych przeprowadzonych w 2015 roku wykryto przeciwciała przeciwko WNV w 63 (13,29%) spośród 474 próbek surowicy dzikich ptaków oraz w jednej (0,26%) z 378 próbek surowicy koni [37]. Dalsze badania potwierdzają występowanie swoistych przeciwciał, świadczących o przebytych zakażeniach u zwierząt hodowlanych oraz dziko żyjących, jednak dotychczas nie wykazano żadnego przypadku aktywnego zakażenia na terenie naszego kraju [37, 38].

Dotychczasowe badania dotyczące ludzi mają charakter ograniczony. Diagnostykę WNV w Polsce utrudnia fakt krzyżowej reakcji przeciwciał przeciwko wirusowi kleszczowego zapalenia mózgu występującym endemicznie, m.in. w województwie podlaskim i warmińsko-mazurskim [39].

Szacuje się, że około 3–15% kleszczy może być zakażonych wirusem kleszczowego zapalenia mózgu [40]. Zapadalność na kleszczowe zapalenie mózgu w Polsce wynosi 0,69/100 tys. mieszkańców (dane NIŻ PZH za 2019 r.), przy czym większość przypadków pochodzi z dwóch wymienionych wcześniej województw. Mieszkańcy terenów endemicznych ekspozycy zawodowo (nieszczepieni przeciwko kleszczowemu zapaleniu mózgu) są seropozytywni od 25% do nawet 81% [41].

Objawy kleszczowego zapalenia mózgu mogą przypominać objawy zakażenia WNV. Przebieg choroby najczęściej jest dwufazowy. W trakcie pierwszej fazy występują objawy rzekomogrypowe, co wiąże się z obecnością wirusa we krwi. Podczas drugiej fazy wirus przenika do ośrodkowego układu nerwowego i może przebiegać pod postacią zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu lub zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, mózgu i rdzenia [42]. Przeciwciała przeciwko kleszczowemu zapaleniu mózgu są wykrywane u chorych po przebyciu zakażenia tym wirusem oraz u osób szczepionych (np. praktycznie wszyscy leśnicy od lat 90. XX wieku systematycznie są szczepieni przeciwko kleszczowemu zapaleniu mózgu).

Dlatego też pozytywne wyniki badań serologicznych w kierunku WNV wymagają potwierdzenia testem neutralizacji (*Plaque Reduction Neutralisation Test*), niedostępnym w Polsce.

W 2005 roku w Klinice Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Akademii Medycznej w Białymstoku u pacjentki z nawracającą gorączką, bólami głowy i mięśni stwierdzono wysoki poziom przeciwciał klasy IgM przeciwko WNV i boreliozie. W laboratorium referencyjnym nie uzyskano jednak ostatecznego potwierdzenia zakażenia WNV, czyniąc ten przypadek jedynie prawdopodobnym [29]. W 2006 roku badaniom na obecność przeciwciał klasy IgG przeciwko WNV w surowicy poddano 93 pracowników leśnych z województwa świętokrzyskiego i podlaskiego, w 29 (31%) próbkach otrzymano dodatnie wyniki w kierunku WNV w metodzie ELISA. Zostały one następnie poddane weryfikacji metodą immunofluorescencji pośredniej (IFA) w Krajowym Referencyjnym Laboratorium dla chorób odzwierzęcych w Budapeszcie, na Węgrzech. Swoistość pierwotnego wyniku reaktywnego potwierdzono w 5 próbkach, z czego w 2 wykryto dodatkowo IgG anty-KZM, a w pozostałych 3 badanie na obecność tych przeciwciał dało wynik wątpliwy [16]. W 2015 roku u 14 spośród 42 pacjentów z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu wykryto przeciwciała przeciwko WNV [43, 44]. Późniejsze badania metodami serologicznymi oraz metodami biologii molekularnej u pacjentów z objawami neurologicznymi również nie przyniosły bezpośredniego wykrycia zakażenia WNV w Polsce [45, 46].

### **Wirus Zachodniego Nilu a bezpieczeństwo przetoczeń i transplantacji**

W czasie epidemii w Ameryce Północnej w 2002 roku udokumentowano pierwsze przypadki zakażeń przeniesionych przez transfuzje krwi (TT-WNV, *transfusion transmitted WNV*). Opisano wówczas 23 przypadki przeniesienia zakażenia WNV przez przetoczenie: koncentratów krwinek czerwonych (KKCz), w tym także ubogoleukocytarnych; koncentratów krwinek płytkowych (KKP), jak również przez podanie zakażonego świeżo mrożonego osocza (FFP, *fresh frozen plasma*) [47]. Kolejnych 11 przypadków TT-WNV odnotowano w latach 2003–2008. W latach 2003–2012 stwierdzono łącznie 3725 przypadków zakażenia WNV dawców krwi [48]. Początkowo Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA, *Food and Drug Administration*) wprowadziła zalecenie, aby do celów klinicznych nie pobierać krwi od dawców, u których w tygodniu poprzedzającym donację wystąpiła gorączka i ból głowy. Dodatkowo wycofano z użycia FFP przeznaczone do produkcji leków krwiopochodnych z rejonów, gdzie obserwowano

szczególne nasilenie epidemii. To działanie pozwoliło prawdopodobnie uniknąć dalszych przypadków zakażenia, ponieważ w 3 na prawie 1500 donacji stwierdzono markery ostrego zakażenia WNV [49].

W połowie 2003 roku rozpoczęto badanie NAT (*nucleic acid testing*) w pulach po 6 (PCR, *polymerase chain reaction*) i 16 donacji (TMA, *transcription mediated amplification*), jednak niebawem okazało się, że czułość badania nie była wystarczająca, co powodowało występowanie przypadków potransfuzyjnego zakażenia WNV [50]. Takie przypadki wskazują na wysoką zakaźność WNV przez przetoczenie krwi, zwłaszcza w okresie tzw. okienka serologicznego, przed pojawieniem się przeciwciał na wczesnym etapie zakażenia.

Co prawda większość przypadków TT-WNV dotyczy etapu okienka serologicznego, jednak badania *in vitro* wykazują, że obecność przeciwciał w przetaczanej krwi i jej składnikach nie chroni całkowicie przed przeniesieniem zakażenia [51].

### **Inaktywacja**

Koncentracja WNV w okienku serologicznym zakażonych dawców może osiągać poziom nawet  $10^8$  do  $10^{10}$  wirionów/ml. Na podstawie oceny ryzyka, dynamiki i zakaźności wirusów można stwierdzić, że w niektórych przypadkach zmniejszenie miana o 6 log efektywnie zmniejsza ryzyko przeniesienia zakażenia przez transfuzję, w innych zaś jest niewystarczające. W przypadku WNV mało jest prawdopodobne, aby nawet podczas szczytu wirerii koncentracja wirionów osiągnęła poziom wyższy niż 4–5 log/ml, a taki poziom wirerii występuje krótko, zanim wirus zostanie zneutralizowany. Skuteczność rutynowo stosowanych metod inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w stosunku do WNV zastosowanych w systemach: Theraflex MB Plasma, Mirasol i Intercept jest bardzo wysoka i w każdym przypadku wynosi ponad 5 log (tab. 1). Metoda inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych opracowana wyłącznie na podstawie działania UVC (bez dodawania związku fotouczulającego) podobnie jak pozostałe metody w różnym stopniu inaktywuje wirusy. W przypadku tej metody potwierdzono skuteczną inaktywację wirusów, takich jak: VSV, wirus Sindbis i HCV, natomiast okazało się, że metoda z UVC jest mniej skuteczna w stosunku do HIV i WNV. System Theraflex UV Platelets skutecznie inaktywuje małe, bezotoczkowe wirusy DNA/RNA, takie m.in. jak PPV, zmniejszając ich liczbę średnio o 4-5 log.

Mechanizm działania, efektywność zmniejszania zakaźności WNV przez transfuzję oraz zastoso-

**Tabela 1.** Metody inaktywacji mające zastosowanie w obniżaniu ryzyka TT-WNV (*transfusion-transmitted WNV*)

Metoda inaktywacji/ redukcji patogenów	Mechanizm działania	Skuteczność (redukcja miana wirusa w log10)	Składniki krwi poddawane redukcji
<b>Błękit metylenowy</b> ( <i>System Theraflex, MB Plasma, Macopharma, Francja</i> ) [52, 53]	Pod wpływem światła widzialnego (590–670 nm) uszkadza za pośrednictwem wolnych rodników tlenowych łańcuchy kwasów nukleinowych wirusów i tym samym przerywa możliwość ich transkrypcji i replikacji	> 6,5	FFP
<b>Chlorowodorek amotosalenu</b> (pochodna psoralenu, <i>System Intercept, Cerus, USA</i> ) [54, 55]	Pod wpływem światła ultrafioletowego (320–400 nm) tworzy nierozdzielalne krzyżowe połączenia z kwasami nukleinowymi czynników chorobotwórczych, przez co uniemożliwia ich replikację	> 5,2	FFP i KKP
<b>Ryboflawina</b> (witamina B2, <i>System Mirasol PRT, Terumo BCT</i> ) [56]	Pod wpływem światła ultrafioletowego (265–370 nm) dochodzi do zahamowania replikacji czynników chorobotwórczych w wyniku reakcji z kwasami nukleinowymi oraz strukturami powierzchniowymi	5,19	FFP i KKP

**Tabela 2.** Kryteria oceny poziomu ryzyka zakażenia WNV na danym obszarze

Klasyfikacja obszaru pod względem ryzyka zakażenia WNV	Kryteria			
	Warunki (a) środowiskowe sprzyjające transmisji WNV na człowieka	Patogen (b) — obecność w wektorach i/lub u zwierząt	Transmisja (c) WNV na człowieka	Powtarzalność (d) sezonowa transmisji WNV wśród ludzi
Bez ryzyka	–	–	–	–
Predyspozycji	+	–	–	–
Zagrożony	+	+	–	–
Dotknięty chorobą	+	+	+	–
Endemiczny	+	+	+	+

wanie w odniesieniu do poszczególnych składników krwi przedstawiono w tabeli 1.

Oceniając skuteczność metod inaktywacji poszczególnych wirusów, w tym WNV, należy wziąć pod uwagę: stopień obniżenia jego zawartości (log10), zmianę stężenia wirusa w kolejnych fazach zakażenia, czułość testów przesiewowych oraz algorytm postępowania przyjęty w danym kraju podczas badań dawców.

Należy pamiętać o tym, że nawet w przypadku zastosowania NAT dla HIV, HCV i HBV nadal utrzymuje się ryzyko zakażenia w okresie okienka diagnostycznego. Łącząc zatem zalety testów biologii molekularnej (NAT) do wykrywania wysokiej wirerii z zaletami metod inaktywacji do ograniczania zakaźności związanej z niższą wirerią można wyeliminować infekcje w okresie okienka i w znacznym stopniu ograniczyć rozprzestrzenianie się nowych czynników chorobotwórczych.

W przypadku WNV wdrożenie jednej z trzech, wyżej wymienionych metod inaktywacji, spowoduje

duże znaczne ograniczenie ryzyka związanego z przetoczeniem FFP, zaś inaktywacja czynników zakaźnych z zastosowaniem metody z ryboflawiną lub psoralenem znacznie ogranicza ryzyko przeniesienia WNV związanego z przetoczeniem KKP.

Należy jednak nadal mieć na uwadze, że nie są jeszcze dostępne metody inaktywacji czynników chorobotwórczych w pełnej krwi oraz w koncentracji krwinek czerwonych.

### **Ocena ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu**

Rzeczywisty poziom ryzyka zakażenia WNV na danym obszarze zależy od warunków środowiska, obecności stawonogów–wektorów i patogenów, wcześniejszego przeniesienia na ludzi i sezonowego, nawracającego występowania choroby na danym obszarze.

**Obszar ryzyka** jest obszarem, w którym ludzie są narażeni na ryzyko (może być ono małe lub duże) zakażenia rodzimym WNV (tab. 2). Za-

leczenia dotyczące ograniczenia przenoszenia się WNV przez krew są różne w zależności od kategorii obszaru ryzyka.

Zdefiniowano 4 kategorie obszarów ryzyka:

- I. **Obszar predyspozycji** jest obszarem, gdzie istniejące warunki mogą ułatwić przenoszenie WNV na ludzi, ale odpowiedni czynnik chorobotwórczy nie został wykryty. Na takim obszarze występują warunki sprzyjające przenoszeniu zakażeń, co wiąże się z podatnością i/lub wrażliwością obszaru. **Podatność** jest zdeterminowana przez obecność i/lub rozprzestrzenianie się stawonogów–wektorów oraz przez inne czynniki ekologiczne i klimatyczne sprzyjające przeniesieniu WNV na ludzi. **Wrażliwość** obszaru jest uwarunkowana bliskością obszarów, na których aktualnie występują zakażenia WNV, lub na które z wysoką częstotliwością napływają zakażone osoby lub ich grupy i/lub zakażone stawonogi.
- II. **Obszar zagrożony** to obszar, gdzie WNV został wykryty w wektorach lub udokumentowano przeniesienie WNV na zwierzęta lub przeniesienie WNV na ludzi wystąpiło w ciągu ostatnich 5 lat.
- III. **Obszar dotknięty chorobą** jest obszarem, gdzie mają miejsce przeniesienia WNV na ludzi, tj. gdy zarejestrowano co najmniej jeden przypadek rodzimego zarażenia człowieka WNV, który został potwierdzony przy użyciu metod zawartych w definicji choroby. Niekiedy przypadek prawdopodobny może być wykorzystywany do określenia przeniesienia, ale tylko w szczególnych i uzgodnionych sytuacjach, kiedy potwierdzenie nie może być wykonane w najbliższym czasie.
- IV. **Obszar endemiczny** to obszar, na którym przeniesienie WNV na ludzi trwa od 5 sezonów.

Ryzyko przeniesienia WNV na ludzi na danym obszarze powinno być oceniane regularnie dla każdego sezonu transmisji przenoszenia zakażenia. Biorąc pod uwagę powyższe kryteria, terytorium Polski należy zaliczyć do obszaru predyspozycji. Teren naszego kraju spełnia warunek podatności obszaru — występuje u nas 12 gatunków komarów zdolnych do przenoszenia wirusa, a w okresie letnim, podczas długotrwałych upałów, mogą wystąpić warunki ekologiczne i klimatyczne sprzyjające przeniesieniu WNV na ludzi. Jednak dotychczas na obszarze Polski nie wykryto odpowiedniego czynnika chorobotwórczego — wszystkie badania mające na celu wykrycie RNA wirusa u komarów i ptaków dawały wynik ujemny [patrz powyżej:

„Badania epidemiologiczne Wirusa Zachodniego Nilu w Polsce”]. W ostatnim czasie nastąpiła zmiana dotycząca spełniania kryterium wrażliwości przez teren Polski. We wcześniejszych latach w krajach graniczących z Polską nie identyfikowano zakażeń WNV, jak również nie obserwowano istotnego napływu zakażonych osób i/lub zakażonych stawonogów. Jednak w okresie ostatnich dwóch lat (2018–2019) zaczęto wykrywać rodzime przypadki zakażenia WNV wśród ludzi w Czechach oraz na Słowacji oraz zaobserwowano epidemie zakażeń koni i ptaków w Niemczech [57, 58].

### Zalecenia dotyczące ograniczenia przenoszenia się wirusa Zachodniego Nilu przez krew

Niniejsze zalecenia zostały przygotowane na podstawie dokumentu: *Wirus Zachodniego Nilu i bezpieczeństwo krwi: Wprowadzenie do planu gotowości w Europie* [59], który powstał w następstwie obrad Grupy Roboczej ds. Bezpieczeństwa krwi i WNV (UE), jakie miało miejsce w dniach 25–26 stycznia 2012 roku w Salonikach. W spotkaniu, a następnie w przygotowaniu jednolitego stanowiska uczestniczyli eksperci z krajów dotkniętych epidemią WNV: z Grecji, Włoch, Rumunii i Francji. Przygotowane zalecenia stanowią drugą wersję dokumentu z 2011 roku [60]. Plan Gotowości zawiera m.in. wytyczne mające na celu ograniczenie przenoszenia WNV przez krew na terenie Europy, w związku z czym powinny być także realizowane na terenie Polski.

**Do środków zapewnienia bezpieczeństwa krwi (tab. 3) należą:**

- prowadzenie szczegółowego wywiadu epidemiologicznego u dawców krwi;
- odroczenie potencjalnie narażonych dawców krwi (dyskwalifikacje) i niszczenie zakażonych donacji;
- wdrożenie laboratoryjnych metod badań przesiewowych, takich jak badanie kwasów nukleinowych (NAT);
- stosowanie metod inaktywacji czynników chorobotwórczych;
- apelowanie do dawców, aby zgłaszali wszelkie objawy chorobowe, które wystąpiły po donacji;
- czuwanie nad bezpieczeństwem krwi.

### Okres czasowej dyskwalifikacji dla dawców krwi

Pobieranie krwi na obszarach niedotkniętych chorobą (obszary: **bez ryzyka, predyspozycji, zagrożony**):

**Tabela 3.** Środki dla zapewnienia bezpieczeństwa krwi w sezonie przenoszenia WNV (na podstawie [62])

Środki	Obszar bez ryzyka/ /Obszar predyspozycji	Obszar zagrożony	Obszar dotknięty chorobą/ /Obszar endemiczny
Odroczenie mieszkańców	Nie	Nie	Wstrzymanie poboru krwi
Odroczenie dawców, którzy wracają z obszarów dotkniętych chorobą	28 dni	28 dni	28 dni
Badania przesiewowe NAT u dawców, gdy duża ich liczba wraca z obszarów dotkniętych chorobą, w celu zapewnienia zapasów krwi	Do rozważenia	Do rozważenia	Zalecane
Badania przesiewowe NAT pobranej krwi będącej w kwarantannie i retrospektywne badania NAT zapasów próbek osocza	Nie	Do rozważenia	Tak
Procedury inaktywacji wirusa (osocze i płytki krwi)	Nie	Do oceny	Do oceny
Powołanie zespołu zarządzania kryzysowego we właściwym organie	Nie, chyba, że duża liczba dawców powróciła z obszarów dotkniętych chorobą	Nie dotyczy	Tak
Informowanie innych państw członkowskich właściwych organów) o rozpoczęciu badań NAT	Tak	Tak	Tak

\*chyba że wprowadzono badanie NAT

- odroczenie potencjalnych dawców krwi na okres 28 dni od chwili opuszczenia obszaru dotkniętego chorobą z trwającym przenoszeniem WNV na ludzi (na podstawie Dyrektywy 2004/33/WE);
  - zapewnienie placówkom służby krwi zaktualizowanych map z informacją o szerzeniu się wirusa wśród ludzi;
  - osoby z rozpoznaniem zakażeniem WNV mogą być przywrócone do oddawania krwi po **120 dniach** od postawienia diagnozy [61].
- Pobieranie krwi na obszarach dotkniętych chorobą i obszarach endemicznych:**
- geograficzne odroczenie dawcy — definiowanie sezonu odroczenia, we współpracy z krajowymi organami ds. zdrowia publicznego i innymi zainteresowanymi stronami, dla obywateli mieszkających na terenach dotkniętych chorobą w sezonie przenoszenia wirusa, chyba że zostały wprowadzone badania przesiewowe WNV NAT jako środek alternatywny.

### Inne środki zapobiegawcze

- Przeprowadzenie procedury spojrzenia wstecz *look-back* w przypadku potwierdzenia lub podejrzenia przeniesienia wirusa przez transfuzję w stosunku do próbek pobranych w okresie 120 dni przed donacją, która była reaktywna w badaniu ID-NAT (*individual donation NAT*) (Wytyczne FDA dla przemysłu, 2009 r.).

- Zgłaszanie do punktów oddawania krwi objawów występujących w ciągu 15 dni od donacji (gorączka, objawy grypopodobne, inne).
- Poddawanie kwarantannie składników krwi pobieranych przed ogłoszeniem epidemii WNV. Istotne jest także przekazywanie danych, które obejmuje dostarczanie informacji właściwym organom przy użyciu szablonu sprawozdawczego o realizowanych działaniach w obszarach dotkniętych i niedotkniętych chorobą w okresach trwającej transmisji WNV na ludzi (Dyrektywa 2005/61/WE) [59].

### Działania zapobiegające przeniesieniu wirusa Zachodniego Nilu przez transfuzję krwi i jej składników na terenie Polski w przypadku wykrycia zakażenia tym wirusem

Obecnie teren Polski spełnia kryteria obszaru predyspozycji i istnieje ryzyko pojawienia się rodzimych przypadków zakażenia WNV u zwierząt oraz u ludzi. W przypadku wykrycia WNV u zwierząt lub/i wektorów nasz kraj zostanie zaklasyfikowany do terenu zagrożenia. Należy wówczas rozpocząć kampanię uświadamiającą/przypominającą dawcom konieczność zgłaszania objawów towarzyszących zakażeniu WNV (ból głowy, gorączka), jeśli wystąpiły one przed donacją oraz w okresie 2 tygodni po donacji.



W przypadku potwierdzenia zakażenia WNV u ludzi dany teren jest uznawany za obszar dotknięty chorobą. Zgodnie z przedstawionymi powyżej wytycznymi międzynarodowymi należy podjąć wówczas następujące działania:

- 1) na terenie powiatu, gdzie wystąpił przypadek rodzimego zakażenia człowieka WNV, oraz na terenie powiatów sąsiadujących z powiatem, gdzie wystąpił przypadek rodzimego zakażenia WNV, należy wstrzymać pobieranie krwi oraz jej składników;
- 2) o fakcie wystąpienia rodzimego zakażenia WNV zostaną poinformowane wszystkie Centra Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa przez Instytut Hematologii i Transfuzjologii (Instytut);
- 3) na terenie całego kraju należy wprowadzić dyskwalifikację czasową (na okres 28 dni) dawców i kandydatów na dawców, którzy spędzili przynajmniej jedną noc na terenie powiatu, gdzie stwierdzono przypadek rodzimego zakażenia WNV oraz na terenie powiatów sąsiadujących z powiatem, gdzie odnotowano zakażenie WNV u człowieka;
- 4) działania 1) i 3) należy kontynuować do końca sezonu epidemicznego (do końca października) roku, w którym doszło do identyfikacji rodzimego zakażenia WNV na terenie Polski;
- 5) należy rozważyć wprowadzenie badania WNV RNA na okres trwania sezonu epidemicznego w osoczu dawców zamieszkujących lub przebywających przynajmniej jedną noc na terenie powiatu, gdzie zidentyfikowano rodzime zakażenie WNV. W przypadku pojedynczych przypadków (< 10) wystarczające powinno być badanie w MP z 4 lub 6 donacji. W przypadku większej liczby zakażeń konieczne jest rozpatrzenie wykonywania badań w indywidualnych donacjach. Metodologię badania WNV RNA należy uzgodnić z Instytutem.
- 6) w przypadku wprowadzenia badania WNV RNA należy przywrócić pobieranie krwi oraz można zrezygnować z dyskwalifikacji związanej z podróżą na tereny występowania zakażeń WNV;
- 7) w przypadku pojawienia się epidemii wśród zwierząt dziko żyjących lub hodowlanych i/lub > 10 przypadków zakażenia WNV u ludzi należy powołać zespół kryzysowy w celu ustalenia sposobu monitorowania sytuacji epidemiologicznej oraz działań zapobiegających przenoszeniu WNV przez transfuzję na terenie Polski.

Działania w zakresie zapobiegania przenoszenia WNV przez transfuzje należy konsultować z Instytutem.

Ze względu na dynamiczną sytuację epidemiologiczną na terenie Europy, zmianę statusu ryzyka WNV krajów sąsiadujących oraz niekorzystne prognozy epidemiologiczne dla Polski należy, we współpracy z odpowiednimi służbami epidemiologicznymi kraju, ekspertami w zakresie chorób zakaźnych oraz służbami weterynaryjnymi, aktualizować plan postępowania na wypadek wystąpienia rodzimych przypadków zakażenia WNV w Polsce.

## Piśmiennictwo

1. Tkaczuk K, Sulkowska E, Lachert E, et al. Wirus Zachodniego Nilu a bezpieczeństwo przetoczeń krwi i jej składników. *J Trans Med.* 2013; 6 (3): 69–84.
2. Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, et al. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda 1. *Am J Trop Med Hyg.* 1940; s1-20(4): 471–492, doi: [10.4269/ajtmh.1940.s1-20.471](https://doi.org/10.4269/ajtmh.1940.s1-20.471).
3. Martin DA, Biggerstaff BJ, Allen B, et al. Use of immunoglobulin m cross-reactions in differential diagnosis of human flaviviral encephalitis infections in the United States. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002; 9(3): 544–549, doi: [10.1128/cdli.9.3.544-549.2002](https://doi.org/10.1128/cdli.9.3.544-549.2002), indexed in Pubmed: [11986257](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11986257/).
4. Knap JP, Kubica-Biernat B. [Did West Nile Fever (WNF) appear in Poland? Position of the Expert Committee appointed by the Chief Sanitary Inspector]. *Przegl Epidemiol.* 2003; 57(3): 399–404, indexed in Pubmed: [14682157](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14682157/).
5. 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/).
6. May FJ, Davis CT, Tesh RB, et al. Phylogeography of West Nile virus: from the cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas. *J Virol.* 2011; 85(6): 2964–2974, doi: [10.1128/JVI.01963-10](https://doi.org/10.1128/JVI.01963-10), indexed in Pubmed: [21159871](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21159871/).
7. Mentoor JLD, Lubisi AB, 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 Announc.* 2016; 4(4), doi: [10.1128/genomeA.00740-16](https://doi.org/10.1128/genomeA.00740-16), indexed in Pubmed: [27469963](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27469963/).
8. McMullen AR, Albayrak H, May FJ, et al. Molecular evolution of lineage 2 West Nile virus. *J Gen Virol.* 2013; 94(Pt 2): 318–325, doi: [10.1099/vir.0.046888-0](https://doi.org/10.1099/vir.0.046888-0), indexed in Pubmed: [23136360](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23136360/).
9. Weissenböck H, Hubálek Z, Bakonyi T, et al. Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11(2): 225–231, doi: [10.3201/eid1102.041028](https://doi.org/10.3201/eid1102.041028), indexed in Pubmed: [15752439](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15752439/).
10. 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? *Euro Surveill.* 2014; 19(31): 2–5, doi: [10.2807/1560-7917.es2014.19.31.20867](https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.31.20867), indexed in Pubmed: [25138970](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25138970/).
11. Pesko KN, Ebel GD. West Nile virus population genetics and evolution. *Infect Genet Evol.* 2012; 12(2): 181–190, doi: [10.1016/j.meegid.2011.11.014](https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.11.014), indexed in Pubmed: [22226703](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22226703/).
12. Chancey C, Grinev A, Volkova E, et al. The global ecology and epidemiology of West Nile virus. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 376230, doi: [10.1155/2015/376230](https://doi.org/10.1155/2015/376230), indexed in Pubmed: [25866777](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25866777/).

13. Bondre VP, Jadi RS, Mishra AC, et al. West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage. *J Gen Virol.* 2007; 88(Pt 3): 875–884, doi: [10.1099/vir.0.82403-0](https://doi.org/10.1099/vir.0.82403-0), indexed in Pubmed: [17325360](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17325360/).
14. Prow NA, Hewlett EK, Faddy HM, et al. The Australian public is still vulnerable to emerging virulent strains of West Nile Virus. *Front Public Health.* 2014; 2: 146, doi: [10.3389/fpubh.2014.00146](https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00146), indexed in Pubmed: [25279370](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25279370/).
15. Moureau G, Cook S, Lemey P, et al. New insights into flavivirus evolution, taxonomy and biogeographic history, extended by analysis of canonical and alternative coding sequences. *PLoS One.* 2015; 10(2): e0117849, doi: [10.1371/journal.pone.0117849](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117849), indexed in Pubmed: [25719412](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25719412/).
16. Kondrusik M, Ferenczi E, Zajkowska J, et al. [The evaluation of serum presence of antibodies reacting with West Nile Fever virus (WNV) antigens among inhabitants from Podlaskie and Swietokrzyskie region]. *Przegl Epidemiol.* 2007; 61(2): 409–416, indexed in Pubmed: [17956061](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17956061/).
17. Samorek-Salamonowicz E. *Wirus Zachodniego Nilu — zagrożenie dla zdrowia publicznego.* W: Niczyporuk J.S. (red.). *Med Weterynaryjna* 2008: 1368–1370.
18. Kilpatrick A, LaDeau S, Marra P. Ecology of West Nile Virus transmission and its impact on birds in the western hemisphere. *The Auk.* 2007; 124(4): 1121, doi: [10.1642/0004-8038\(2007\)124\[1121:eownvt\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1642/0004-8038(2007)124[1121:eownvt]2.0.co;2).
19. Samorek-Salamonowicz E, Niczyporuk JS. West Nile virus other emerging threats to public health. *Post Mikrobiol.* 2010; 49: 187–90.
20. Strauss JH, Strauss EG. *Viruses and Human Disease*, wyd. 2, Academic Press. 2007; 3: 118.
21. Arjona A, Wang P, Montgomery RR, et al. Innate immune control of West Nile virus infection. *Cell Microbiol.* 2011; 13(11): 1648–1658, doi: [10.1111/j.1462-5822.2011.01649.x](https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2011.01649.x), indexed in Pubmed: [21790942](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21790942/).
22. Colpitts TM, Conway MJ, Montgomery RR, et al. West Nile Virus: biology, transmission, and human infection. *Clin Microbiol Rev.* 2012; 25(4): 635–648, doi: [10.1128/CMR.00045-12](https://doi.org/10.1128/CMR.00045-12), indexed in Pubmed: [23034323](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23034323/).
23. Konrad SK, Miller SN. Application of a degree-day model of West Nile virus transmission risk to the East Coast of the United States of America. *Geospat Health.* 2012; 7(1): 15–20, doi: [10.4081/gh.2012.100](https://doi.org/10.4081/gh.2012.100), indexed in Pubmed: [23242676](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23242676/).
24. West Nile Fever [monograph on the internet]. Epi-News, National surveillance of communicable diseases: Statens Serum Institut; 2003. Available from: <http://www.ssi.dk/English/News/EPI-NEWS/~media/Indhold/EN%20-%20engelsk/EPI-NEWS/2003/pdf/EPI-NEWS%20-%202003%20-%20No.;; 204: ashx>.
25. Kilpatrick AM, Meola MA, Moudy RM, et al. Temperature, viral genetics, and the transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* mosquitoes. *PLoS Pathog.* 2008; 4(6): e1000092, doi: [10.1371/journal.ppat.1000092](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000092), indexed in Pubmed: [18584026](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18584026/).
26. West Nile Virus MONITOR Surveillance Maps- Clinical Cases and Asymptomatic Infections Canada, October 27, 2012, Public Health Agency of Canada, <http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/map-carte/map-carte-surv2012-eng.php>.
27. 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/).
28. Pridjian G, Sirois PA, McRae S, et al. Prospective study of pregnancy and newborn outcomes in mothers with West Nile illness during pregnancy. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2016; 106(8): 716–723, doi: [10.1002/bdra.23523](https://doi.org/10.1002/bdra.23523), indexed in Pubmed: [27223334](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27223334/).
29. Hermanowska-Szpakowicz T, Grygorczuk S, Kondrusik M, et al. [Infections caused by West Nile virus]. *Przegl Epidemiol.* 2006; 60(1): 93–98, indexed in Pubmed: [16758745](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16758745/).
30. West Nile virus infection — Annual Epidemiological Report for 2018, <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/west-nile-virus-infection-annual-epidemiological-report-2018>.
31. Epidemiological update: West Nile virus transmission season in Europe, 2019, <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-west-nile-virus-transmission-season-europe-2019>.
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](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9533098/).
33. Hubálek Z, Wegner E, Halouzka J, et al. Serologic survey of potential vertebrate hosts for West Nile virus in Poland. *Viral Immunol.* 2008; 21(2): 247–253, doi: [10.1089/vim.2007.0111](https://doi.org/10.1089/vim.2007.0111), indexed in Pubmed: [18433332](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18433332/).
34. Niczyporuk JS., Samorek-Salamonowicz E. Study of the NRT-PCR method for the detection of the West Nile Virus. *Bull Vet Inst Puławy.* 2009; 53: 187–192.
35. Kubica-Biernat B., Kruminis-Lozowska W., Stanczak J., Cieniuch S. A study on the occurrence of West Nile virus in mosquitoes (Diptera: Culicidae) on the selected areas in Poland. *Wiad. Parazytol.* 2009;55: 259-263.
36. Niczyporuk JS, Samorek-Salamonowicz E, Mizak WK. The survey of wild birds for West Nile virus in Poland. *Pol J Vet Sci.* 2011; 14(4): 573–577, doi: [10.2478/v10181-011-0085-9](https://doi.org/10.2478/v10181-011-0085-9), indexed in Pubmed: [22439327](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22439327/).
37. Niczyporuk JS. Wirus Zachodniego Nilu w Polsce — realne zagrożenie w świetle doniesień prezentowanych na konferencji “Aktualne problemy dotyczące czynników zakaźnych przenoszonych przez krew”. *J Transf Med.* 2017; 10: 54–62.
38. Bażanów B, Jansen van Vuren P, Szymański P, et al. A survey on West Nile and Usutu viruses in horses and birds in Poland. *Viruses.* 2018; 10(2), doi: [10.3390/v10020087](https://doi.org/10.3390/v10020087), indexed in Pubmed: [29462983](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29462983/).
39. Czupryna P, Niczyporuk J, Samorek-Salamonowicz E, et al. Poszukiwanie RNA wirusa Zachodniego Nilu w płynie mózgowo-rdzeniowym u osób chorych na zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych z terenu województwa podlaskiego. *Przegl Epidemiol.* 2014; 68: 109.
40. Tylewska-Wierzbianańska S. Kleszczowe zapalenie mózgu u dzieci i dorosłych. *Forum Pediatrii* 2019; 5: 18–28.
41. Stefanoff P, Rogalska J, Zajkowska J, Czerska M, Seroka W, Czarowski MP. Surveillance of aseptic central nervous system infections in Poland: is it meeting its objectives? *Euro Surveill.* 2011;16(29): pii:19924.
42. Zajkowska J, Czupryna P. Kleszczowe zapalenie mózgu — epidemiologia, patogenez, obraz kliniczny, diagnostyka, profilaktyka i leczenie. *Forum Zakażeń* 2013; 4(1): 21–27.
43. 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](https://doi.org/10.1155/2015/234181), indexed in Pubmed: [25866767](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25866767/).
44. Pancewicz S, Moniuszko-Malinowska A. Zakażenia wybranymi wirusami z rodziny Flaviviridae, Wydanie I. Białystok: Uniwersytet Medyczny; 2017: 69–90.
45. Jabłońska J, Popiel M, Bukowska-Ośko I, et al. No evidence of West Nile virus infection among Polish patients with encephalitis.

- litis. *Cent Eur J Immunol.* 2016; 41(4): 383–385, doi: [10.5114/cej.2016.65137](https://doi.org/10.5114/cej.2016.65137), indexed in Pubmed: [28450801](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28450801/).
46. Moniuszko-Malinowska A, Dunaj J, Czupryna P, et al. Absence of serological evidence for WNV presence in symptomatic patients in Poland. *Infect Dis (Lond).* 2019; 51(10): 782–784, doi: [10.1080/23744235.2019.1651453](https://doi.org/10.1080/23744235.2019.1651453), indexed in Pubmed: [31402738](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31402738/).
  47. Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, et al. West Nile Virus transmission investigation team. Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med.* 2003; 349(13): 1236–1245, doi: [10.1056/NEJMoa030969](https://doi.org/10.1056/NEJMoa030969), indexed in Pubmed: [14500806](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14500806/).
  48. Stramer SL, Dodd RY. AABB Transfusion-transmitted diseases emerging infectious diseases subgroup. Transfusion-transmitted emerging infectious diseases: 30 years of challenges and progress. *Transfusion.* 2013; 53(10 Pt 2): 2375–2383, doi: [10.1111/trf.12371](https://doi.org/10.1111/trf.12371), indexed in Pubmed: [23926897](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23926897/).
  49. Tobler LH, Bianco C, Glynn SA, et al. NHLBI Retrovirus Epidemiology Study (REDS). Detection of West Nile virus RNA and antibody in frozen plasma components from a voluntary market withdrawal during the 2002 peak epidemic. *Transfusion.* 2005; 45(4): 480–486, doi: [10.1111/j.0041-1132.2005.04266.x](https://doi.org/10.1111/j.0041-1132.2005.04266.x), indexed in Pubmed: [15819666](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15819666/).
  50. Macedo de Oliveira A, Beecham BD, Montgomery SP, et al. West Nile virus blood transfusion-related infection despite nucleic acid testing. *Transfusion.* 2004; 44(12): 1695–1699, doi: [10.1111/j.0041-1132.2004.04130.x](https://doi.org/10.1111/j.0041-1132.2004.04130.x), indexed in Pubmed: [15584982](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15584982/).
  51. Lai L, Lee TH, Tobler L, et al. Relative distribution of West Nile virus RNA in blood compartments: implications for blood donor nucleic acid amplification technology screening. *Transfusion.* 2012; 52(2): 447–454, doi: [10.1111/j.1537-2995.2011.03289.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2011.03289.x), indexed in Pubmed: [21827506](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21827506/).
  52. Mohr H, Knüver-Hopf J, Gravemann U, et al. West Nile virus in plasma is highly sensitive to methylene blue-light treatment. *Transfusion.* 2004; 44(6): 886–890, doi: [10.1111/j.1537-2995.2004.03424.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2004.03424.x), indexed in Pubmed: [15157256](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15157256/).
  53. Williamson LM, Cardigan R, Prowse CV. Methylene blue-treated fresh-frozen plasma: what is its contribution to blood safety? *Transfusion.* 2003; 43(9): 1322–1329, doi: [10.1046/j.1537-2995.2003.00483.x](https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.2003.00483.x), indexed in Pubmed: [12919437](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12919437/).
  54. Gallian P, Vignoli C, Dombey AM, et al. Inactivation of a European strain of West Nile virus in single-donor platelet concentrate using the INTERCEPT blood system. *Vox Sang.* 2006; 91(4): 345–347, doi: [10.1111/j.1423-0410.2006.00844.x](https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2006.00844.x), indexed in Pubmed: [17105611](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17105611/).
  55. Lin L, Hanson CV, Alter HJ, et al. Inactivation of viruses in platelet concentrates by photochemical treatment with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light. *Transfusion.* 2005; 45(4): 580–590, doi: [10.1111/j.0041-1132.2005.04316.x](https://doi.org/10.1111/j.0041-1132.2005.04316.x), indexed in Pubmed: [15819680](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15819680/).
  56. Ruane PH, Edrich R, Gampp D, et al. Photochemical inactivation of selected viruses and bacteria in platelet concentrates using riboflavin and light. *Transfusion.* 2004; 44(6): 877–885, doi: [10.1111/j.1537-2995.2004.03355.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2004.03355.x), indexed in Pubmed: [15157255](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15157255/).
  57. West Nile virus infection Annual Epidemiological Report for 2018] - <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/west-nile-fever-annual-epidemiological-report-2018.pdf>.
  58. Weekly updates: 2019 West Nile virus transmission season - <https://www.ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc>.
  59. West Nile Virus and Blood Safty Introduction to a Preparedness Plan in Europe. In: Prepared by: Greece I, Romania and France, ed. West Nile Virus and Blood Safty Introduction to a Preparedness Plan in Europe. Based on the EU Satellite Meeting of the Working Group on Blood Safety and WNV, Thessaloniki, 25-26 January; 2012: 2012.
  60. West Nile Virus and Blood Safety Introduction to a Preparedness Plan in Europe. In: West Nile Virus and Blood Safety Introduction to a Preparedness Plan in Europe. Based on the EU Satellite Meeting of the Working Group on Blood Safety and WNV T, 27 January 2011, ed.; 2011.
  61. European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care of the Council of Europe (EDQM), wyd. 18.; 2020.
  62. Measures to ensure blood safety during the WNV season. W: Meeting Report: Expert consultation on West Nile virus infection, Thessaloniki, 25–26 January 2011 [monograph on the internet]. European Centre for Disease Prevention and Control; 2011. [http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1106\\_MER\\_WNV\\_Expert\\_Consultation.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1106_MER_WNV_Expert_Consultation.pdf).