

Matylda Kłudkowska

**Ocena ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu
u osób podróżujących do krajów strefy
międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych
Promotor: dr hab. n. med. Małgorzata Paul

Katedra i Klinika Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2017

*Bardzo serdeczne podziękowania pragnę złożyć mojemu Promotorowi,
Pani dr hab. n. med. Małgorzacie Paul za inspirację, życzliwość
i wielokierunkową pomoc w realizacji niniejszej rozprawy doktorskiej*

Ponadto bardzo serdecznie pragnę podziękować Panu Profesorowi Jerzemu Stefaniakowi, Kierownikowi Katedry i Kliniki Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych w Poznaniu za niezwykle cenne merytoryczne uwagi dotyczące niniejszej rozprawy oraz ogromną życzliwość i naukę

Chciałabym jednocześnie bardzo podziękować moim Współpracownikom, Pani magister Krystynie Frąckowiak, Panu doktorowi Łukaszowi Pielokowi oraz Pani Adrianie Kędziorze, których pomoc, nieocenione zaangażowanie i wsparcie bardzo pomogły w realizacji tej pracy

Bardzo serdecznie dziękuję Lekarzom z Katedry i Kliniki Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych za udostępnienie dokumentacji medycznej hospitalizowanych pacjentów oraz Paniom Pielęgniarkom za pomoc w pobieraniu materiału biologicznego do badań naukowych

Niniejszą rozprawę doktorską dedykuję mojej Rodzinie i Przyjaciółom

Badania były finansowane przez:

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z funduszy przeznaczonych na działalność statutowo-naukową Katedry i Kliniki Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych; projekt badawczy nr 502-01-02204312-03681.

Spis treści

| | |
|--|-----------|
| 1. WSTĘP..... | 8 |
| 1.1. PRZYNALEŻNOŚĆ SYSTEMATYCZNA, BUDOWA ORAZ REPLIKACJA WIRUSA ZACHODNIEGO NILU | 8 |
| 1.2. CYKL ŻYCIOWY I DROGI TRANSMISJI WIRUSA ZACHODNIEGO NILU W ŚRODOWISKU NATURALNYM..... | 10 |
| 1.3. PATOGENEZA I OBRAZ KLINICZNY ZAKAŻENIA WIRUSEM ZACHODNIEGO NILU U CZŁOWIEKA | 18 |
| 1.4. ROZPRZESTRZENIENIE GEOGRAFICZNE I FILOGENETYKA WIRUSA ZACHODNIEGO NILU | 22 |
| 1.5. RYS HISTORYCZNY I EPIDEMIOLOGIA ZAKAŻEŃ WYWOŁYWANYCH PRZEZ WIRUSA ZACHODNIEGO NILU NA ŚWIECIE..... | 27 |
| 1.5.1. <i>Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Afryce</i> | 27 |
| 1.5.2. <i>Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Europie</i> | 30 |
| 1.5.3. <i>Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Azji.....</i> | 37 |
| 1.5.4. <i>Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Ameryce Północnej.....</i> | 41 |
| 1.5.5. <i>Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Ameryce Środkowej i Południowej.....</i> | 42 |
| 1.5.6. <i>Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Australii i Oceanii</i> | 44 |
| 1.6. ZASADY LABORATORYJNEGO ROZPOZNAWANIA ZAKAŻEŃ WYWOŁYWANYCH PRZEZ WIRUSA ZACHODNIEGO NILU..... | 45 |
| 1.7. INNE ARBOWIRUSY O ISTOTNYM ZNACZENIU KLINICZNYM DLA OSÓB PODRÓŻUJĄCYCH | 47 |
| 2. CELE PRACY | 51 |
| 3. MATERIAŁ I METODY | 52 |
| 3.1. MIEJSCE I CZAS PRZEPROWADZENIA BADAŃ | 52 |
| 3.2. PACJENCI ZAKWALIFIKOWANI DO BADAŃ EPIDEMIOLOGICZNYCH, KLINICZNYCH ORAZ IMMUNODIAGNOSTYCZNYCH W KIERUNKU ZAKAŻENIA WIRUSEM ZACHODNIEGO NILU | 52 |
| 3.2.1. <i>Pacjenci zakwalifikowani do grupy badanej.....</i> | 52 |
| 3.2.2. <i>Pacjenci zakwalifikowani do grupy kontrolnej</i> | 53 |
| 3.3. ANALIZA EPIDEMIOLOGICZNA CZYNNIKÓW RYZYKA ZAKAŻENIA WIRUSEM ZACHODNIEGO NILU..... | 54 |
| 3.3.1. <i>Ankieta epidemiologiczna dla pacjentów podróżujących za granicę.....</i> | 54 |
| 3.3.2. <i>Ankieta epidemiologiczna dla pacjentów niewyjeżdżających za granicę.....</i> | 56 |
| 3.4. OCENA KLINICZNA PACJENTÓW | 59 |
| 3.5. BADANIA IMMUNODIAGNOSTYCZNE W KIERUNKU WIRUSA ZACHODNIEGO NILU | 59 |
| 3.5.1. <i>Pobieranie materiału do badań laboratoryjnych.....</i> | 59 |
| 3.5.2. <i>Wykrywanie swoistych przeciwciał IgM przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu we krwi obwodowej za pomocą techniki immunoenzymatycznej.....</i> | 60 |
| 3.5.3. <i>Wykrywanie swoistych przeciwciał IgG przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu we krwi obwodowej za pomocą techniki immunoenzymatycznej.....</i> | 62 |
| 3.6. ZGODNOŚĆ PRZEPROWADZONYCH BADAŃ KLINICZNYCH I LABORATORYJNYCH Z ZASADAMI ETYKI | 64 |
| 3.7. ANALIZA STATYSTYCZNA UZYSKANYCH WYNIKÓW BADAŃ | 65 |

| | |
|---|------------|
| 3.8. ANALIZA GEOGRAFICZNO-ŚRODOWISKOWA UZYSKANYCH WYNIKÓW BADAŃ | 65 |
| 4. PREZENTACJA WYNIKÓW | 66 |
| 4.1. OCENA WYSTĘPOWANIA POTENCJALNYCH CZYNNIKÓW RYZYKA ZAKAŻENIA WIRUSEM ZACHODNIEGO NILU U OSÓB PODRÓŻUJĄCYCH DO KRAJÓW STREFY TROPICALNEJ I ŚRÓDZIEMNOMORSKIEJ | 66 |
| 4.1.1. <i>Porównanie występowania potencjalnych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu w próbie populacji misjonarzy oraz u pozostałych osób podróżujących do krajów o klimacie gorącym</i> | 79 |
| 4.2. OKREŚLENIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA SWOISTYCH PRZECIWCIAŁ IGM I IGG W KIERUNKU WIRUSA ZACHODNIEGO NILU U OSÓB POWRACAJĄCYCH DO POLSKI Z PODRÓŻY MIĘDZYNARODOWYCH | 89 |
| 4.2.1. <i>Analiza stężenia swoistych przeciwciał IgM w kierunku wirusa Zachodniego Nilu w grupie osób podróżujących do krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej oraz w grupie kontrolnej.....</i> | 91 |
| 4.2.2. <i>Analiza stężenia swoistych przeciwciał IgG w kierunku wirusa Zachodniego Nilu w grupie osób podróżujących do krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej oraz w grupie kontrolnej.....</i> | 92 |
| 4.3. ANALIZA POTENCJALNYCH CZYNNIKÓW RYZYKA ZAKAŻENIA WIRUSEM ZACHODNIEGO NILU WŚRÓD OSÓB SEROPOZYTYWNYCH POWRACAJĄCYCH Z KRAJÓW STREFY TROPICALNEJ I ŚRÓDZIEMNOMORSKIEJ | 93 |
| 4.4. ANALIZA DOLEGLIWOŚCI CHOROBYCH I OBJAWÓW KLINICZNYCH WYSTĘPUJĄCYCH U PACJENTÓW GRUPY BADANEJ POWRACAJĄCYCH Z KRAJÓW STREFY MIĘDZYZWOTNIKOWEJ I SUBTROPICALNEJ | 96 |
| 4.5. CHARAKTERYSTYKA DOLEGLIWOŚCI CHOROBYCH I OBJAWÓW KLINICZNYCH WYSTĘPUJĄCYCH U OSÓB SEROPOZYTYWNYCH W KIERUNKU WIRUSA ZACHODNIEGO NILU, POWRACAJĄCYCH Z KRAJÓW STREFY TROPICALNEJ I ŚRÓDZIEMNOMORSKIEJ | 97 |
| 4.6. SZCZEGÓŁOWA ANALIZA EPIDEMIOLOGICZNO – KLINICZNA PACJENTÓW SEROPOZYTYWNYCH W KIERUNKU WIRUSA ZACHODNIEGO NILU, POWRACAJĄCYCH DO POLSKI Z KRAJÓW STREFY MIĘDZYZWOTNIKOWEJ I SUBTROPICALNEJ | 100 |
| 4.7. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA I CHARAKTERU OBJAWÓW KLINICZNYCH U OSÓB PODRÓŻUJĄCYCH Z WYKAZANĄ OBECNOŚCIĄ SWOISTYCH PRZECIWCIAŁ PRZECIWKO WIRUSOWI ZACHODNIEGO NILU I PACJENTÓW SERONEGATYWNYCH | 107 |
| 4.8. OKREŚLENIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA SWOISTYCH PRZECIWCIAŁ PRZECIWKO WIRUSOWI ZACHODNIEGO NILU WŚRÓD MIESZKAŃCÓW POLSKI NIEWYJEŻDZAJĄCYCH POZA GRANICE KRAJU | 109 |
| 4.9. PRÓBA OKREŚLENIA POTENCJALNYCH CZYNNIKÓW RYZYKA ZAKAŻENIA WIRUSEM ZACHODNIEGO NILU NA TERENIE POLSKI..... | 110 |
| 5. DYSKUSJA..... | 117 |
| 5.1. BADANIA NAD WYSTĘPOWANIEM ZAKAŻEŃ WYWOŁYWANYCH PRZEZ WIRUSA ZACHODNIEGO NILU I INNE ARBOWIRUSY U LUDZI NA OBSZARACH ENDEMICZNYCH | 117 |
| 5.2. GŁÓWNE POTENCJALNE CZYNNIKI RYZYKA ZAKAŻENIA WIRUSEM ZACHODNIEGO NILU U OSÓB PODRÓŻUJĄCYCH..... | 128 |
| 5.3. MIGRACJE PTAKÓW A EPIDEMIOLOGIA ZAKAŻEŃ WIRUSEM ZACHODNIEGO NILU NA ŚWIECIE | 134 |
| 5.4. BADANIA NAD WYSTĘPOWANIEM WIRUSA ZACHODNIEGO NILU W POLSCE..... | 137 |
| 5.5. WĘDRÓWKI PTAKÓW A RYZYKO ROZPRZESTRZENIENIA WIRUSA ZACHODNIEGO NILU NA TERENIE NASZEGO KRAJU | 139 |
| 6. WNIOSKI | 144 |

| | |
|--|------------|
| 7. STRESZCZENIE | 145 |
| 8. PIŚMIENNICTWO..... | 152 |
| 9. SPIS TABEL..... | 172 |
| 10. SPIS RYCIN | 173 |
| 11. OBJAŚNIENIA UŻYWANYCH SYMBOLI I SKRÓTÓW | 177 |
| 12. ANEKS | 179 |

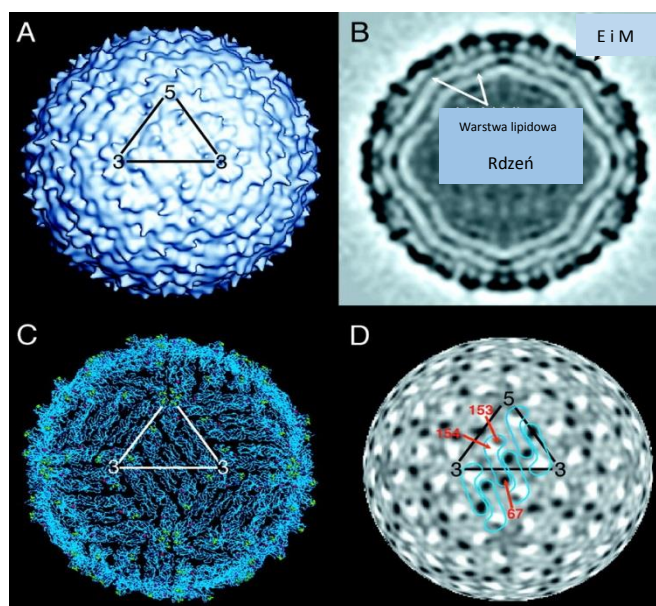
1. WSTĘP

1.1. Przynależność systematyczna, budowa oraz replikacja wirusa Zachodniego Nilu

Wirus Zachodniego Nilu (ang. *West Nile Virus*, WNV) należy do rodziny *Flaviviridae*, rodzaju *Flavivirus* oraz serokompleksu wirusa japońskiego zapalenia mózgu. Rodzina *Flaviviridae* zawiera aktualnie ponad 70 różnych wirusów i podzielona jest na trzy rodzaje: *Flavivirus* (wirus Zachodniego Nilu, wirus dengi, wirus żółtej gorączki, wirus japońskiego zapalenia mózgu), *Hepacivirus* (wirusy zapalenia wątroby typu C i G) oraz *Pestivirus* (wirusy innych ssaków). Prototypowym wirusem dla całej grupy systematycznej był wirus żółtej gorączki (YFV), przebiegającej z uszkodzeniem wątroby i hiperbilirubinemią (żółtaczką w obrazie klinicznym), od którego nazwę czerpie cała rodzina (z łac. *flavus* oznacza żółty). Rodzaj *Flavivirus* zawiera ponad 50 różnych wirusów, z których około 40 jest patogennych dla człowieka. Większość flawiwirusów można zaliczyć do grupy arbowirusów (ang. *arthropod-borne viruses*), czyli patogenów infekcyjnych przenoszonych przez stawonogi. W zależności od gatunku wektora można je podzielić kolejno na wirusy przenoszone przez komary lub kleszcze. Wyizolowano również flawiwirusy o nieznanym wektorze oraz zakaźne tylko dla stawonogów (Moureau i wsp., 2015). Serokompleks wirusa japońskiego zapalenia mózgu zawiera neurotropowe wirusy z rodzaju *Flavivirus* wywołujące zapalenie mózgu u ludzi – wirus Zachodniego Nilu, wirus japońskiego zapalenia mózgu (JEV), wirus zapalenia mózgu Saint Louis (SLEV) i wirus zapalenia mózgu doliny Murray (MVEV).

Wirus Zachodniego Nilu to niewielki, sferyczny wirion o średnicy około 50 nm. Centralną część komórki wirusa zajmuje genom, osłonięty przez ikosaedralny kapsyd zbudowany z białek kapsydu C, które pośredniczą w tworzeniu się cząstek wirusa. Nukleokapsyd pokryty jest dwuwarstwową otoczką lipidową zawierającą 180 cząsteczek białka błonowego prM/M oraz glikoproteinę otoczkową E zorganizowanych w postaci 60 asymetrycznych wypustek złożonych z heterodimerów prM/E (Ryc.1) (Shoba i wsp., 2016). Glikoproteina otoczkowa E odpowiedzialna jest za wiązanie z receptorem komórek gospodarza podczas wnikania wirionów do ich wnętrza (Colpitts i wsp., 2012). Rolą białka błonowego prM jest ochrona niedojrzałych cząstek wirusa przed przedwczesną egzocytozą z komórki gospodarza przez blokowanie fuzji z glikoproteiną otoczkową E. Białko błonowe jest rozszczepiane w procesie dojrzewania wirionu (Chancey i wsp., 2015). Materiałem genetycznym wirusa Zachodniego Nilu jest jednoniciowy RNA o dodatniej polarności, składający się z blisko 11000 reszt

nukleotydowych. Genom zbudowany jest z regionu niekodującego 3' (około 96 reszt nukleotydowych), pojedynczej otwartej ramki odczytu (około 10300 reszt nukleotydowych) oraz regionu niekodującego 5' (337 – 649 reszt nukleotydowych). Obszary niekodujące 3' i 5' biorą udział w tworzeniu pętli macierzystych, które uczestniczą w procesach replikacji, transkrypcji, translacji oraz składaniu cząstek wirusa (Brinton, 2014). Wirusowy RNA ulega translacji na pojedynczą poliproteinę, która następnie rozszczepiana jest przez kompleks wirusowej proteazy serynowej oraz proteazy gospodarza na trzy białka strukturalne (białko kapsydu C, glikoproteinę otoczkową E, białka błonowe prM/M) i siedem białek niestukturalnych (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) (Brinton, 2014). Białka niestukturalne WNV spełniają wiele istotnych funkcji w czasie infekcji. Białko niestukturalne NS1 jest wysoce immunogenne. Jego rola w procesie tworzenia wirionu nie została udowodniona, jednak sugeruje się jego udział w procesie replikacji. Białko niestukturalne NS3 ma aktywność proteazy serynowej odszczepiającej inne białka niestukturalne z powstającej w wyniku translacji poliproteiny wirusowej. Białko niestukturalne NS5 służy jako polimeraza wirusowa i koduje metylotransferazy niezbędne w procesie replikacji. Białka niestukturalne NS2A, NS2B, NS4A, NS4B hamują jedną lub więcej składowych wrodzonej odpowiedzi immunologicznej gospodarza na zakażenie wirusowe (Colpitts i wsp., 2012).



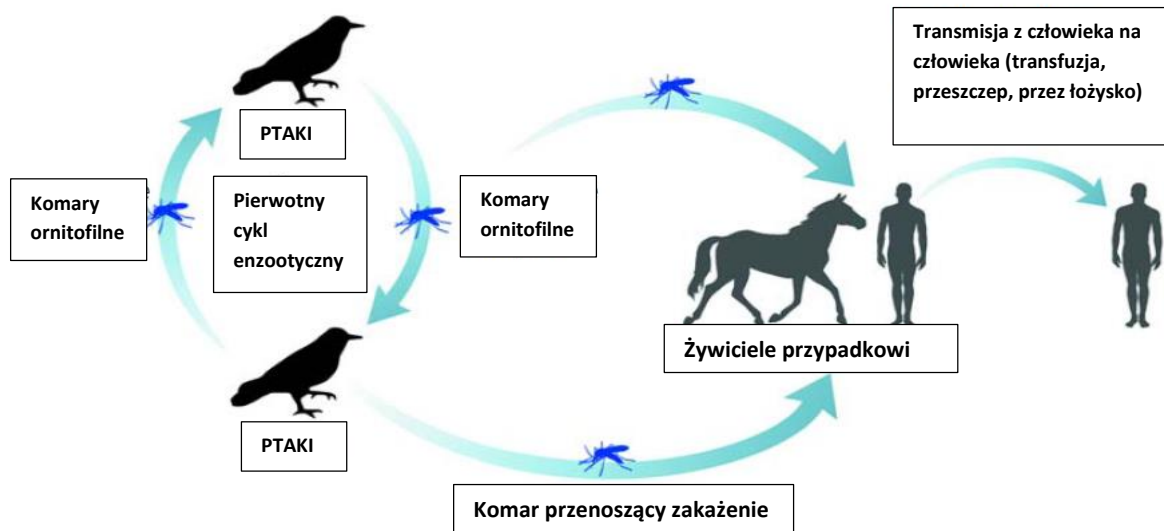
Ryc. 1. Budowa wirusa Zachodniego Nilu. Objasnienia: (A) – struktura niesymetrycznego ikosaedru zaznaczona za pomocą trójkąta, (B) – przekrój pokazujący koncentryczne ułożenie kolejnych warstw wirionu, (C) – sposób ułożenia glikoproteiny otoczkowej E, (D) – zestaw trzech homodimerów glikoproteiny E (niebieska linia) (Mukhopadhyay i wsp., 2003).

Cząstki wirusa Zachodniego Nilu wnikają do komórek żywiciela na drodze endocytozy za pośrednictwem receptora obecnego na powierzchni komórki. Rolę receptora dla wirusa mogą pełnić białka DC-SIGN, receptory mannozowe i kilka glikozaminoglikanów. Wirus transportowany jest następnie przez endosomy. Wczesny endosom zawierający wirusa zaczyna dojrzewać podczas internalizacji z powierzchnią komórki gospodarza. W trakcie tego procesu pH wewnątrz endosomu spada z obojętnego do lekko kwaśnego, a podczas dalszego dojrzewania pH staje się jeszcze bardziej kwaśne. W późnym endosomie glikoproteina otoczkowa ulega zmianom konformacyjnym i dochodzi do zlania się podwójnej błony lipidowej wirionu z komórką gospodarza. Powoduje to uwolnienie materiału genetycznego wirusa do cytoplazmy komórki gospodarza. Po dysocjacji białek kapsydu RNA wirusa ulega replikacji. Od dodatniego bieguna matrycy genomu wirusowego polimeraza RNA zależna od RNA rozpoczyna tworzenie kopii komplementarnych nici o ujemnej polarności, które posłużą jako szablony dla nowo tworzących się nici o dodatniej polarności. Jednocześnie dochodzi do translacji materiału genetycznego na poliproteinę wirusową, co skutkuje ekspresją dziesięciu białek wirusowych i uaktywnia się proces składania cząstek wirionu. W retikulum endoplazmatycznym białko niestrukturalne NS3 o aktywności peptydazy serynowej oraz peptydazy sygnałowe komórki gospodarza rozszczepiają poliproteinę w wielu miejscach. Ikosaedralna struktura kapsydu powstaje poprzez owinięcie białek kapsydu C wokół nowo replikowanego RNA wirusa i utworzenia cząstek nukleokapsydu. Białka strukturalne służące do składania cząstek wirionów gromadzone są w retikulum endoplazmatycznym, gdzie łączą się z nukleokapsydami i pączkują do cytoplazmy poprzez sieć aparatu Golgiego. Wirus przemieszcza się do powierzchni komórki w pęcherzykach egzocytarnych i dojrzewa w momencie odszczepienia białka błonowego prM. Skutkuje to uwolnieniem dojrzałego wirusa z komórki gospodarza (Colpitts i wsp., 2012).

1.2. Cykl życiowy i drogi transmisji wirusa Zachodniego Nilu w środowisku naturalnym

W środowisku naturalnym wirus Zachodniego Nilu krąży w enzootycznym cyklu pomiędzy ptakami (rezerwuarem) a komarami (wektorem). Wektory mogą przenosić wirusa na człowieka i inne ssaki, jednak cykl ten określa się mianem pustego, gdyż w organizmach ssaków poziom wirusii jest na tyle niski, że nie dochodzi do zakażenia owadów. Najpoważniejsze skutki infekcji

wywołanej wirusem Zachodniego Nilu obserwowano u ludzi i koni, gdzie często ostry przebieg choroby może doprowadzić do zgonu (Ryc.2).



Ryc. 2. Cykl życiowy wirusa Zachodniego Nilu (Huhn i wsp., 2003).

Wykazano, że jedynie u niektórych gatunków ptaków poziom wirerii jest na tyle wysoki, by podczas pobierania krwi mogło dojść do przeniesienia wirusa do ciała komarów. Ptaki odgrywające szczególną rolę w rozprzestrzenianiu się wirusa na świecie można podzielić na kilka grup. Niektóre ich gatunki, szczególnie z rodziny *Corvidae* charakteryzują się wysoką wrażliwością na zakażenia WNV, a podczas epidemii w USA obserwowano masowe padanie wrony amerykańskiej czy modrosójki błękitnej (Ryc. 3).



Ryc. 3. Martwa modrosójka błękitna znaleziona podczas epidemii wirusa Zachodniego Nilu w Teksasie w Stanach Zjednoczonych w 2012 roku (Maxmen, 2012).

Drugą grupę żywicieli w naturalnym środowisku przyrodniczym stanowią ptaki o mniejszej wrażliwości na zakażenie WNV, jak drozd wędrowny lub wilgowron mniejszy (Ryc. 4). Kolejna grupa obejmuje gatunki ptaków osiadłych, u których obserwuje się wysoki poziom wirerii, ale małą śmiertelność w przebiegu zakażenia – np. wróbel zwyczajny (Ryc. 4) oraz dzięcioł kosmaty (LaDeau i wsp., 2007; Chancey i wsp., 2015).



Ryc. 4. Wilgowrony mniejsze oraz wróbel zwyczajny jako przedstawiciele ptaków o różnej wrażliwości na zakażenie wirusem Zachodniego Nilu (www.allaboutbirds.org).

U niektórych gatunków ptaków poziom wirerii jest zbyt niski, by doszło do przeniesienia wirusa do organizmu wektora. Ptaki te, jak na przykład drób domowy, służyć mogą jako praktyczny wskaźnik alarmujący o potencjalnej możliwości wystąpienia epidemii u ludzi na danym terenie geograficznym (Dridi i wsp., 2013; Chaintoutis i wsp., 2015). Bardzo dużą rolę w rozprzestrzenianiu się wirusa Zachodniego Nilu na świecie przypisuje się lokalnemu przemieszczaniu się osiadłych gatunków ptaków oraz dalekim podróżom ptaków migrujących, które pokonują dziesiątki tysięcy kilometrów pomiędzy terenami lęgowymi a zimowiskami (Shoba i wsp., 2016). Przeciwciała przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu wykryto u 326 gatunków ptaków, jednak nie wszystkie w równym stopniu mogą pełnić rolę rezerwuaru wirusa. Gatunki ptaków o największym znaczeniu w cyklu życiowym WNV zestawiono w Tabeli I.

Tabela I.**Najważniejsze gatunki ptaków będących rezerwuarem wirusa Zachodniego Nilu na poszczególnych kontynentach i krajach świata.**

| KRAJ | GATUNKI PTAKÓW |
|-------------------|---|
| EUROPA | |
| Włochy | Sójka zwyczajna, wrona siwa, myszołów zwyczajny, pójdzka zwyczajna, kaczka krzyżówka, czarnowron (Monaco i wsp., 2015) |
| Grecja | Sroka zwyczajna, wrona siwa, turkawka zwyczajna (Valiakos i wsp., 2011; Valiakos i wsp., 2012) |
| Słowenia | Myszołów zwyczajny, kaczka krzyżówka, łabędź niemy, bocian biały, kos, wrona siwa (Račnik i wsp., 2013) |
| Serbia | Łabędź niemy, bielik zwyczajny, bażant zwyczajny, mewa romańska, wrona siwa, wąsatka (Petrović i wsp., 2013) |
| Czechy | Łyska zwyczajna, zimorodek zwyczajny, trzcinniczek zwyczajny, rokitniczka, łożówka, brzęczka, potrzos zwyczajny, kapturka, remiza, modraszka zwyczajna, szpak zwyczajny (Hubálek i wsp., 2008; Straková i wsp., 2015) |
| Słowacja | Jastrząb zwyczajny, wróbel mazurek, wróbel zwyczajny, dzwonec zwyczajny, sikorka, pustułka zwyczajna, kapturka, grubodziób zwyczajny (Csank i wsp., 2016) |
| Węgry | Krogulec zwyczajny, jastrząb zwyczajny (Erdélyi i wsp., 2007) |
| Rumunia | Kur bankiwa, wróbel zwyczajny, mewa romańska, gawron, wrona siwa (Savuta i wsp., 2008) |
| Austria | Jastrząb zwyczajny, gęgawa, orłosep, orzeł przedni, puszczyk uralski (Wodak i wsp., 2011) |
| Francja | Sroka zwyczajna, sroka czarnodzioba, wróbel zwyczajny, otus (Jourdain i wsp., 2008; Balanca i wsp., 2009) |
| Hiszpania | Kuropatwa czerwona, bażant zwyczajny, pokrzewka aksamitna, kos zwyczajny (Llorente i wsp., 2013; Ferraguti i wsp., 2016) |
| Portugalia | Orzeł przedni, sowa zwyczajna, bocian biały, ibis (Barros i wsp., 2011) |
| Rosja | Turkawka wschodnia, gołąb skalny, kamieniuszka, rybitwa rzeczna, kaczka pstrodzioba, mewa śmieszka, szlachar, kormoran zwyczajny (Murata i wsp., 2011) |
| Polska | Bocian biały, zięba zwyczajna, łabędź niemy, wrona siwa (Hubálek i wsp., 2008b; Niczyporuk i wsp., 2015) |
| AFRYKA | |
| Maroko | Kos zwyczajny, wróbel zwyczajny, wierzbówka zwyczajna (Figuerola i wsp., 2009) |
| Senegal | Dzierzba rudogłowa, świergotek drzewny, krętogłów zwyczajny, drożdówka rdzawa (Chevalier i wsp., 2009) |
| AZJA | |
| Indie | Modrzyk zwyczajny, kormoran skromny, czapla złotawa, czapla nadobna, ibis czarny, kaczka pstrodzioba, czapla siodłata, łyska zwyczajna, kaczka krzyżówka, batalion, czapla purpurowa (Shoba i wsp., 2016) |
| Chiny | Mandarynka, mewa chińska, żuraw mandżurski, paw złoty (Lan i wsp., 2013) |

| AMERYKA PÓLNOČNA | |
|--------------------------------------|---|
| USA | Wrona amerykańska, modrosójka błękitna, wrona rybożerna, sikora dwubarwna, drozd wędrowny, strzyżyk śpiewny, sikora jasnoskrzydła, wilgowron mniejszy, kardynał szkarłatny, paskówka śpiewna, dzięcioł kosmaty, przedrzeźniacz ciemny, błękitnik rudogardły, pipil rudoboczny (LaDeau i wsp., 2007) |
| Kanada | Wrona amerykańska, modrosójka błękitna, kruk zwyczajny, bernikla kanadyjska, kaczka krzyżówka, dzierzba siwa, ogorzałka mała (Bertelsen i wsp., 2004; Himsworth i wsp., 2009; Cox i wsp., 2015) |
| AMERYKA ŚRODKOWA I POŁUDNIOWA | |
| Dominikana | Kukawik namorzynowy, jaszczurkojad szary, drozd karaibski (Komar i wsp., 2003) |
| Kuba | Czapla śniada, drozd karaibski (Dupuis i wsp., 2005) |
| Gwatemala | Wilgowron meksykański, wilgowron mniejszy, drozd zwyczajny (Morales-Betoulle i wsp., 2013) |
| Kolumbia | Flaming karmazynowy (Osorio i wsp., 2012) |
| Argentyna | Drozd, garncarz rdzawy, jastrząb, tęgoster płaskodzioby (Diaz i wsp., 2008) |
| Puerto Rico | Wilgowron czarny, wróbel zwyczajny, czapla zielona, lasówka nadwodna, cukrzyk, drzemlik, cytrynka czarnolica (Dupuis i wsp., 2005; Komar i wsp., 2012) |
| AUSTRALIA I OCEANIA | |
| Australia | Ślepowron szary (Prow, 2013) |

Wektorami odpowiedzialnymi za przenoszenie zakażenia wirusem Zachodniego Nilu są komary, głównie z rodzaju *Culex*, a najważniejszym gatunkiem wydaje się być *Culex pipiens* (komar pospolity, komar brzęczący) o zasięgu niemal kosmopolitycznym (Ryc. 5). Możliwość transmisji zakażeń wykazano jednak u 65 gatunków, ale nie każda laboratoryjnie potwierdzona zdolność ma znaczenie w naturalnym cyklu krążenia wirusa. Największą rolę przypisuje się komarom, które jednocześnie odżywiają się krwią ptaków i ssaków (Tabela II). Gatunki te określa się mianem mostu łączącego żywicieli specyficznych (ptaki) i żywicieli niespecyficznych (ssaki). Po posiłku wirus w ciele komara trafia do jelita środkowego, gdzie po replikacji w komórkach nabłonka trafia do hemolimfy, a następnie do gruczołów ślinowych. Podczas ukłucia komara wirus wraz z wydzieliną gruczołów ślinowych trafia do komórek skóry kolejnego żywiciela (Colpitts i wsp., 2012). W ciele niektórych żywicieli przypadkowych (ludzie, konie) może dochodzić do ekspresji objawów klinicznych infekcji, jednak poziom wirerii jest zbyt niski, by doszło do zakażenia wektora. Epidemie wywoływane przez wirusa najczęściej współwystępowały ze wzrostem populacji komarów w sezonie letnim w krajach

o klimacie ciepłym oraz porą deszczową w krajach tropikalnych o klimacie równikowym, zwrotnikowym lub podzwrotnikowym.



Ryc. 5. Komar z gatunku *Culex pipiens* - główny wektor wirusa Zachodniego Nilu o rozprzestrzenieniu kosmopolitycznym
(<https://research.pasteur.fr/en/culex-pipiens-2-jpg>).

Pierwszej izolacji kwasu nukleinowego WNV dokonano z populacji komarów z rodzaju *Culex*. W późniejszym czasie rodzaj ten uznano za wiodący w transmisji zakażeń wirusem z ptaków na ludzi, konie i inne gatunki ssaków. Wykazano ponadto wertykalną transmisję wirusa u wektora, potwierdzając jego obecność w kilku grupach badanych samców i larw komarów (Hubálek i Halouzka, 1999; Dinu i wsp., 2015).

Tabela II.

Najważniejsze wektory wirusa Zachodniego Nilu w poszczególnych krajach świata.

| KRAJ | WEKTOR |
|---------------|--|
| EUROPA | |
| Włochy | <i>Culex pipiens</i> , <i>Aedes caspius</i> , <i>Aedes albopictus</i> (Engler i wsp., 2013; Monaco i wsp., 2015) |
| Turcja | <i>Culex pipiens</i> , <i>Culex quinquefasciatus</i> , <i>Culex perexiguus</i> , <i>Aedes caspius</i> (Ergunay i wsp., 2014) |
| Grecja | <i>Culex pipiens</i> , <i>Aedes caspius</i> (Patsoula i wsp., 2015) |
| Serbia | <i>Culex pipiens</i> , <i>Anopheles maculipennis</i> (Kemenesi i wsp., 2014) |
| Czechy | <i>Culex pipiens</i> , <i>Culex modestus</i> , <i>Aedes rossicus</i> (Rudolf i wsp., 2014) |
| Węgry | <i>Culex pipiens</i> , <i>Ochlerotatus annulipes</i> , <i>Coquillettidia richardii</i> (Szentpali-Gavaller i wsp., 2014) |

| | |
|-------------------------------------|--|
| Rumunia | <i>Culex pipiens</i> , <i>Culex modestus</i> , <i>Anopheles hyrcanus</i> , <i>Coquillettidia richardii</i> (Dinu i wsp., 2015) |
| Austria | <i>Culex pipiens</i> (Bakanoyi i wsp., 2013; Kolodziejek i wsp., 2015) |
| Francja | <i>Culex pipiens</i> , <i>Culex modestus</i> (Mackenzie i wsp., 2002) |
| Hiszpania | <i>Culex pipiens</i> , <i>Culex perexiguus</i> (Engler i wsp., 2013) |
| Portugalia | <i>Anopheles maculipennis</i> (Mackenzie i wsp., 2002) |
| Rosja | <i>Culex pipiens</i> , <i>Culex modestus</i> , <i>Aedes caspius</i> , <i>Coquillettidia richardii</i> (Mackenzie i wsp., 2002; Fyodorova i wsp., 2006) |
| Ukraina | <i>Aedes constans</i> , <i>Aedes caspius</i> , <i>Anopheles maculipennis</i> (Hubálek i Halouzka, 1999) |
| Bulgaria | <i>Culex pipiens</i> , <i>Coquillettidia richardii</i> (Hubálek i Halouzka, 1999) |
| Polska | Potencjalny wektor <i>Culex pipiens</i> (Weitze i wsp., 2015) |
| AFRYKA | |
| Tunezja | <i>Culex pipiens</i> (Wasfia i wsp., 2016) |
| Egipt | <i>Culex univittatus</i> , <i>Culex pipiens</i> , <i>Culex antennatus</i> (Murgue i wsp., 2001; Paramasivan i wsp., 2003) |
| Senegal | <i>Culex neavei</i> , <i>Culex tritaeniorynchus</i> (Fall i wsp., 2013) |
| Wybrzeże Kości Słoniowej | <i>Culex guiarti</i> (Hubálek i Halouzka, 1999) |
| Etiopia | <i>Culex ethiopicus</i> , <i>Mansonia uniformis</i> (Hubálek i Halouzka, 1999) |
| Republika Środkowej Afryki | <i>Culex nigripes</i> , <i>Culex perfuscus</i> , <i>Culex weschei</i> (Hubálek i Halouzka, 1999) |
| Kenia | <i>Culex quinquefasciatus</i> (LaBeaud i wsp., 2011) |
| Uganda | <i>Coquillettidia metallica</i> (Hubálek i Halouzka, 1999) |
| Republika Południowej Afryki | <i>Culex univittatus</i> , <i>Culex theileri</i> , <i>Culex neavei</i> , <i>Culex pipiens</i> (Jupp i wsp., 2001; Mackenzie i wsp., 2002; Paramasivan i wsp., 2003) |
| Madagaskar | <i>Anopheles coustani</i> , <i>Anopheles pauliani</i> , <i>Mansonia uniformis</i> , <i>Aedomyia madagascariensis</i> (Maquart i wsp., 2016) |
| AZJA | |
| Izrael | <i>Culex perexiguus</i> , <i>Culex pipiens</i> , <i>Aedes albopictus</i> , <i>Aedes caspius</i> (Orshan i wsp., 2008; Lustig i wsp., 2016) |
| Pakistan | <i>Culex vishnui</i> complex, <i>Culex tritaeniorynchus</i> (Hubálek i Halouzka, 1999; Paramasivan i wsp., 2003) |
| Iran | <i>Aedes caspius</i> (Bagheri i wsp., 2015) |
| Indie | <i>Culex vishnui</i> complex, <i>Culex quinquefasciatus</i> , <i>Culex tritaeniorynchus</i> (Hubálek i Halouzka, 1999; Khan i wsp., 2011) |
| Chiny | <i>Culex pipiens</i> , <i>Culex tritaeniorynchus</i> (Lu i wsp., 2014) |
| AMERYKA PÓLNOCNA | |
| Stany Zjednoczone Ameryki | <i>Culex tarsalis</i> (zachodnia część kraju), <i>Culex pipiens</i> (północno-wschodnia część kraju), <i>Culex restuans</i> (północna część kraju), <i>Culex quinquefasciatus</i> (południowa część kraju); pozostałe gatunki: <i>Culex stigmatosoma</i> , <i>Culex thriambus</i> , <i>Culex nigripalpus</i> (Hayes i wsp., 2005; Colpitts i wsp., 2012) |
| Kanada | <i>Culex pipiens</i> , <i>Culex restuans</i> , <i>Culex tarsalis</i> (Diamond, 2009) |

| AMERYKA ŚRODKOWA I POŁUDNIOWA | |
|--------------------------------------|--|
| Meksyk | <i>Culex quinquefasciatus</i> , <i>Culex nigripalpus</i> , <i>Culex interrogator</i> , <i>Culex tarsalis</i> (Elizondo-Quiroga i wsp., 2005; Elizondo-Quiroga i wsp., 2013; Mann i wsp., 2013) |
| Gwatemala | <i>Culex quinquefasciatus</i> , <i>Culex mollis</i> (Morales-Betoulle i wsp., 2013) |
| Kolumbia | <i>Culex erraticus</i> (Lopez i wsp., 2015) |
| Puerto Rico | <i>Culex nigripalpus</i> , <i>Culex bahamensis</i> (Barrera i wsp., 2008; Carabello i wsp., 2015) |
| AUSTRALIA I OCEANIA | |
| Australia | <i>Culex annulirostris</i> , <i>Culex australicus</i> , <i>Aedes alternans</i> , <i>Culex quinquefasciatus</i> (Prow, 2013) |
| Papua-Nowa Gwinea | <i>Culex annulirostris</i> (Jonduo i wsp., 2012) |

Większość infekcji wywoływanych przez wirusa Zachodniego Nilu przenoszona jest przez komary. Opisano również inne drogi transmisji, jak np. przetoczenie zakażonej krwi. W Stanach Zjednoczonych Ameryki wirus Zachodniego Nilu pojawił się w 1999 roku, a już w 2002 roku potwierdzono 23 przypadki przetoczenia krwi od pacjentów w trakcie trwania wirerii. Od 2003 roku prowadzone są stałe badania molekularne, mające na celu wyeliminowanie krwi do przetoczenia potencjalnie zawierającej cząsteczkę wirusa. Dzięki temu w samych tylko Stanach Zjednoczonych, które są obszarem hiperendemicznym dla występowania WNV wstrzymano tysiące transfuzji (Kolodziejek i wsp., 2015; Grinev i wsp., 2016). Możliwą drogą transmisji zakażenia wirusem Zachodniego Nilu jest także przeszczepienie narządów wewnętrznych i tkanek od osoby we wczesnej fazie choroby. Pierwszy taki przypadek opisano w 2002 roku w USA, a w konsekwencji u biorcy organu doszło do rozwinięcia zagrażającej życiu neuroinfekcji. Do tej pory organy od dawców we wczesnej fazie zakażenia przeszczepiono 24 osobom na świecie. Co ciekawe, w 75% przypadków transplantacji narządów, taka droga zakażenia biorcy powodowała rozwinięcie się poważnych objawów zapalenia mózgu i opon mózgowo – rdzeniowych. Tylko 25% osób pozostawało bezobjawowych (Winston i wsp., 2014). Uznaje się, że możliwą drogą zakażenia wirusem Zachodniego Nilu z pominięciem wektora może być także droga przezłożyskowa. Prawdopodobnie pierwszy przypadek wertykalnej transmisji wirusa odnotowano w 2002 roku u 20-letniej Amerykanki z udokumentowaną ciężką neuroinfekcją w drugim trymestrze ciąży. U noworodka urodzonego o czasie siłami natury potwierdzono wrodzone zakażenie wirusem Zachodniego Nilu na podstawie obecności przeciwciał klasy IgM zarówno u matki,

jak i dziecka (Pridjian i wsp., 2016). Wykazano także możliwą drogę transmisji wirusa u myszy podczas karmienia mlekiem matki. Podobne dane uzyskano w jednym przypadku u ludzi, gdzie u niemowlęcia doszło do zakażenia WNV prawdopodobnie podczas karmienia piersią. Obecność RNA wirusa potwierdzono ostatecznie w dwóch próbkach mleka pochodzących od kobiety zakażonej w trakcie ciąży (Blázquez i Sáiz, 2010). Zakażenie wirusem Zachodniego Nilu jest więc jedną z nowo pojawiających się infekcji z grupy TORCH, szczególnie niebezpiecznych dla podróżujących kobiet ciężarnych, o istotnym ryzyku zagrożenia dla płodu w okresie prenatalnym.

W Polsce brak jest dotychczasowych doniesień na temat epidemiologicznego ryzyka występowania zakażeń wirusem Zachodniego Nilu wśród osób niewyjeżdżających poza granice kraju, ale korzystających z aktywności rekreacyjno-wypoczynkowej i sportowej w naturalnym środowisku przyrodniczo-geograficznym wirusa i wektora. W rozprawie podjęto się trudnego zadania udokumentowania potencjalnej możliwości rodzimego szerzenia się gorączki Zachodniego Nilu na terytorium Polski, z uwzględnieniem diagnostyki różnicowej endemicznie występującego kleszczowego zapalenia mózgu oraz boreliozy z Lyme. Zasugerowano wskazanie regionu kraju o znaczącym ryzyku występowania, pomijanych dotąd w diagnostyce klinicznej i niepotwierdzonych jednoznacznie, autochtonicznych przypadków zakażenia WNV wśród mieszkańców Polski. Podkreślono znaczenie uwarunkowań przyrodniczo-środowiskowych oraz ryzykownych zachowań związanych z wykonywanym zawodem, zamiłowaniem lub pasją, sposobem spędzania czasu wolnego, uprawianą aktywnością sportowo-rekreacyjną lub przyzwyczajeniami pacjentów, zwiększających podatność na zachorowanie.

1.3. Patogeneza i obraz kliniczny zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u człowieka

Po ukłuciu powierzchni skóry człowieka przez komara wirus Zachodniego Nilu uwalnia się z gruczołów ślinowych owada i wędruje następnie do keratynocytów, komórek Langerhansa i komórek dendrytycznych skóry. Komórki te migrują do węzłów chłonnych, w których wirus namnaża się i skąd następuje jego rozsiew do krwioobiegu. Wirus wędruje wraz z krwią do organów wewnętrznych, w których odbywa się jego replikacja na bardzo wysokim poziomie (np. śledziony), ale także do organów niespecyficycznych, takich jak nerki czy wątroba oraz do ośrodkowego układu nerwowego. Wiremia u człowieka rozpoczyna się zwykle 3-4 dni po

pierwotnym zakażeniu i trwa około 8-10 dni. W niektórych przypadkach wiremia na niskim poziomie może utrzymywać się nawet powyżej 40 dni (Barzon i wsp., 2015b).

Wirus Zachodniego Nilu charakteryzuje się silnym działaniem neurotropowym oraz stwarza bezpośrednie zagrożenie dla życia i zdrowia osób w starszym wieku i z chorobami przewlekłymi (cukrzyca, schorzenia cywilizacyjne), pacjentów z osłabioną funkcją układu odpornościowego (AIDS, transplantacje tkankowe i narządowe, chemioterapia, uogólniona steroidoterapia, radioterapia, leczenie immunosupresyjne i immunomodulacyjne) oraz u noworodków, niemowląt i małych dzieci z fizjologiczną niedojrzałością układu immunologicznego. Przebycie zakażenia w przeszłości gwarantuje długotrwałą odporność na kolejne zachorowanie. Pacjent z objawami chorobowymi nie jest zakaźny dla otoczenia i nie podlega obowiązkowi izolacji. U nieco ponad 75% osób, u których doszło do zakażenia wirusem Zachodniego Nilu przebieg może być bezobjawowy. Gorączka Zachodniego Nilu występuje u około 25% chorych, a manifestuje się pojawieniem objawów grypopodobnych, takich jak gorączka, osłabienie ogólne, bóle głowy, bóle mięśni, rzadziej osłabienie siły mięśniowej, wielopostaciowa lub plamisto-grudkowa wysypka skórna, zaburzenia koncentracji, ból w okolicy szyi, bóle stawów, nudności lub wymioty, bóle brzucha, biegunka i nadwrażliwość na światło (Weatherhead i wsp., 2015). Okres inkubacji choroby wynosi zwykle od 2 do 14 dni. Większość klasycznych przypadków gorączki Zachodniego Nilu przebiega z samoistnym, całkowitym ustąpieniem objawów, a śmiertelność jest bardzo niska. Niekiedy zdarza się jednak przewlekanie objawów chorobowych, a uczucie zmęczenia, bóle głowy i zaburzenia koncentracji mogą być odczuwane nawet kilka tygodni po pierwotnym zakażeniu (Sejvar, 2014).

Neuroinfekcje w przebiegu zakażenia wirusem Zachodniego Nilu przybierają najczęściej postać zapalenia mózgu, opon mózgowo – rdzeniowych lub ostrego porażenia wiotkiego i notowane są u jednej na 150 zakażonych osób (około 1% chorych). Szacuje się, że spośród pacjentów z rozpoznaną neuroinfekcją o etiologii WNV 30% – 40% chorowało na zapalenie opon mózgowo – rdzeniowych, 50% - 60% na zapalenie mózgu, a u 5% - 10% doszło do rozwinięcia ostrego porażenia wiotkiego (Kleinschmidt-DeMasters i Beckham, 2015). Zapalenie opon mózgowo – rdzeniowych o etiologii WNV przebiega najczęściej z towarzyszeniem wysokiej gorączki, bardzo silnych bólów głowy, objawów sztywności karku, fotofobii oraz nudności i/lub wymiotów oraz biegunki. W płynie mózgowo – rdzeniowym stwierdza się wówczas pleocytozę poniżej 500 komórek w 1 mm³ (Weatherhead i wsp., 2015). W przebiegu zapalenia mózgu obserwowane są natomiast zaburzenia świadomości, drgawki padaczkowe, niedowład połowiczny, objawy ogniskowego uszkodzenia ośrodkowego układu

nerwowego (Weatherhead i wsp., 2015). Dodatkowo wystąpić może zespół pozapiramidowy, objawiający się zaburzeniami chodu, drgawkami, utrudnieniem mowy, spowolnieniem ruchowym lub sztywnością mięśniową (Sejvar, 2014). Śmiertelność z powodu zapalenia mózgu o etiologii WNV waha się średnio pomiędzy 10% a 30%, jednak wyższe wartości obserwowane są u osób starszych (Sejvar, 2014). W manifestacji klinicznej ostrego porażenia wiotkiego wywołanego infekcją WNV najważniejszymi objawami klinicznymi są: znaczne osłabienie siły mięśniowej, niedowłady, niekiedy całkowity paraliż kończyny lub kończyn. Ciężkie zakażenie może rozszerzać się niekiedy także na mięśnie oddechowe, prowadząc do ich nieodwracalnego uszkodzenia i zatrzymania oddechu u chorego (Sejvar, 2014).

Manifestacja kliniczna zakażenia w ośrodkowym układzie nerwowym występuje najczęściej u osób powyżej 50 roku życia, a śmiertelność w tej grupie jest zdecydowanie wyższa i wynosi od 15% do 29%. Czynniki ryzyka wystąpienia zapalenia mózgu lub opon mózgowo – rdzeniowych w przebiegu infekcji WNV są: bezdomność i związana z nią wysoka ekspozycja na ukłucia komarów, choroby układu sercowo-naczyniowego, przewlekła niewydolność nerek, zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu C, cukrzyca, wyniszczająca choroba nowotworowa oraz głęboka immunosupresja o innej etiologii (Colpitts i wsp., 2012; Patel i wsp., 2015). Neuroinfekcje wywołane przez wirusa Zachodniego Nilu mogą powodować także długoterminowe następstwa fizyczne, takie jak obniżenie siły mięśniowej, znaczne osłabienie ogólne, przewlekłe bóle głowy, problemy z utrzymaniem równowagi, niedowidzenie, bóle stawów, drżenia kończyn, ból lub sztywność karku. Obecne mogą być także niebezpieczne powikłania o charakterze poznawczym, intelektualnym lub psychologicznym, jak np. utrata pamięci, stany depresyjne, zaburzenia koncentracji, nadpobudliwość, dezorientacja, agresja, czy niestabilność emocjonalna (Patel i wsp., 2015).

Zakażeniu wirusem Zachodniego Nilu może towarzyszyć także rzadziej występująca manifestacja oczna, najczęściej w formie zapalenia siatkówki i naczyńki z licznymi rozsianymi ogniskami lub w liniowych skupiskach oraz zapalenie ciała szklistego. Mogą pojawiać się także wylewy krwawe do siatkówki, zapalenie błony naczyniowej bez zmian ogniskowych, zmiany zarostowe naczyń siatkówki lub zapalenie nerwu wzrokowego (Mets i wsp., 2008; Sejvar, 2014). Za grupę ryzyka uznaje się chorych na cukrzycę, u których w przebiegu zakażenia WNV opisywano przypadki zmian niedokrwiennych w obrębie plamki żółtej (Mets i wsp., 2008).

Zakażenie wirusem Zachodniego Nilu nabyte w czasie trwania ciąży może doprowadzić do transmisji przezłożyskowej wirusa i rozwoju infekcji wrodzonej. Pierwszy taki przypadek odnotowano w Stanach Zjednoczonych w 2002 roku, gdzie u terminowo urodzonego

noworodka matki zakażonej w 27 tygodniu ciąży stwierdzono nieprawidłowości rozwojowe w zakresie ośrodkowego układu nerwowego oraz zmiany zapalne w obrębie narządu wzroku. U dziecka obserwowano zapalenie siatkówki i naczyńówki oraz rozległe uszkodzenia tkanki mózgowej z ubytkiem istoty białej w płacie potylicznym i brakiem wykształcenia zakrętów w istocie szarej mózgu (Sirois i wsp., 2014). W latach 2003-2004 w Stanach Zjednoczonych zakażenia WNV zarejestrowano u 77 kobiet ciężarnych, a większość infekcji było nabytych w trzecim trymestrze ciąży. U trzech noworodków wykazano wertykalną transmisję wirusa Zachodniego Nilu, co udokumentowano badaniami laboratoryjnymi na podstawie obecności przeciwciał klasy IgM w surowicy krwi. U jednego noworodka pochodzącego od matki z neuroinfekcją nabytą 6 dni przed porodem wykryto zapalenie opon mózgowo – rdzeniowych o etiologii WNV. U drugiego noworodka, którego matka nabyła ostrą gorączkę Zachodniego Nilu przed porodem stwierdzono wysypkę skórą i tętniaka rozwarstwiającego aorty (Barzon i wsp., 2015a). U matki trzeciego niemowlęcia stwierdzono gorączkę Zachodniego Nilu trzy tygodnie przed porodem. Dziecko urodzone terminowo zmarło kilka dni później z powodu zapalenia mózgu wywołanego przez WNV z towarzyszącym brakiem wykształcenia zakrętów mózgu. U pozostałej dwójki niemowląt nie stwierdzono zaburzeń rozwojowych, co wykazano w badaniach kontrolnych po 12 miesiącach (Barzon i wsp., 2015a). Późniejsze badania przeprowadzone u tych dzieci po upływie trzech lat nie wykazały żadnego opóźnienia rozwoju psychoruchowego i fizycznego (Sirois i wsp., 2014). Dodatkowo w latach 2005-2008, przeanalizowano 28 przypadków kobiet zakażonych wirusem Zachodniego Nilu w czasie trwania ciąży. U żadnego z noworodków nie potwierdzono wrodzonej infekcji wirusem (Pridjian i wsp., 2016). Wertykalną drogę transmisji potwierdzono na modelu doświadczalnym u myszy szczepu FVB/N, a liczba zakażonych płodów była znacznie wyższa u zwierząt zakażonych we wczesnej fazie trwania ciąży (Julander i wsp., 2006).

W rozprawie przedstawiono najważniejsze objawy kliniczne obserwowane w próbie populacji pacjentów hospitalizowanych w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu po powrocie z krajów odmiennej strefy klimatyczno-środowiskowej i sanitarno-higienicznej, w zależności od kierunku, celu i charakteru podróży, pory roku oraz długości pobytu na obszarach strefy gorącej. Opisano po raz pierwszy obraz kliniczny gorączki Zachodniego Nilu importowanej do Polski z krajów strefy tropikalnej i subtropikalnej przez osoby podróżujące oraz przypadek możliwego autochtonicznego zakażenia u pacjenta niewyjeżdżającego poza terytorium kraju z potwierdzonym immunologicznie zakażeniem wywołanym przez WNV. Zwrócono uwagę na potencjalne czynniki ryzyka zakażenia WNV związane

z naturalnym środowiskiem przyrodniczym miejsca pobytu towarzyszącego podróżom, działalnością zawodową, aktywnością wypoczynkową oraz nieprzestrzeganiem zasad higieny tropikalnej podczas wyjazdów międzynarodowych.

Zgodnie z aktualnie obowiązującą *Ustawą o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi* z dnia 5 grudnia 2008 r. (Dz.U. Nr 234, poz. 1570, z późniejszymi zmianami), każdy przypadek zakażenia wirusem Zachodniego Nilu podlega w Polsce obowiązkowemu zgłoszeniu do Powiatowej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej najbliższej miejsca zamieszkania pacjenta oraz ścisłemu rejestrowi Państwowego Zakładu Higieny – Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego w Warszawie (pozycja nr 54). Podobnie jak inne postaci zapalenia mózgu, pełnoobjawowe przypadki zakażenia WNV podlegają w naszym kraju prawnemu obowiązkowi hospitalizacji. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 23 grudnia 2011 roku, w sprawie *Listy czynników alarmowych, rejestrów zakażeń szpitalnych i czynników alarmowych oraz raportów o bieżącej sytuacji epidemiologicznej szpitala*, potwierdzenie zakażenia wirusem Zachodniego Nilu wymaga procedury zgłoszenia niebezpiecznego patogenu alarmowego (tzw. *alertpatogen*) w ciągu 24 godzin od rozpoznania do Państwowego Powiatowego Inspektora Sanitarnego (Dz.U. Nr 294, poz. 1741).

1.4. Rozprzestrzenienie geograficzne i filogenetyka wirusa Zachodniego Nilu

Wirus Zachodniego Nilu należy do najbardziej rozpowszechnionych arbowirusów na świecie. Po jego pierwszej izolacji w 1937 roku na terenie Afryki obserwowano ekspansywne rozprzestrzenianie się patogenu w wielu rejonach geograficznych. Zanotowano już autochtoniczne przypadki na terenie Europy, Azji czy Australii. Pojawienie się wirusa na terenie obu Ameryk oznaczało, że jest to pierwszy arbowirus obecny aktualnie na wszystkich zamieszkałych przez człowieka kontynentach świata – w Eurazji, Afryce, Ameryce Północnej i Południowej oraz Australii, z wyjątkiem Arktyki i Antarktydy (Ryc. 6). W przeciwieństwie do innych wirusów serokompleksu japońskiego zapalenia mózgu o ograniczonym, endemicznym rozprzestrzenieniu geograficznym, wirus Zachodniego Nilu występuje kosmopolitycznie, rozszerzając w ostatnich latach w gwałtownym tempie swój zasięg również w krajach klimatu umiarkowanego. Stąd też zakażenie WNV zostało zakwalifikowane przez Światową Organizację Zdrowia w Genewie do grupy chorób szczególnie zagrażających życiu i zdrowiu człowieka oraz zwiększających swoją częstość występowania z niepokojącą

szybkością w nowych, dotąd niezasielonych biotopach kuli ziemskiej (ang. *emerging infectious disease*).

Wirus Zachodniego Nilu dzięki dużej zmienności sekwencji nukleotydowych został podzielony na pięć głównych rodowodów oraz cztery prawdopodobne (Ryc. 6 i 7):

➤ Rodowód 1:

Rodowód 1 wirusa Zachodniego Nilu jest najszerszej występującym rodowodem patogenu, o zasięgu niemal kosmopolitycznym. Epidemie wywoływane tą wersją wirusa notowane były w Afryce, Azji, Europie, Ameryce Północnej, Ameryce Południowej oraz w Australii i Oceanii. Rodowód ten podzielony został na trzy kłady:

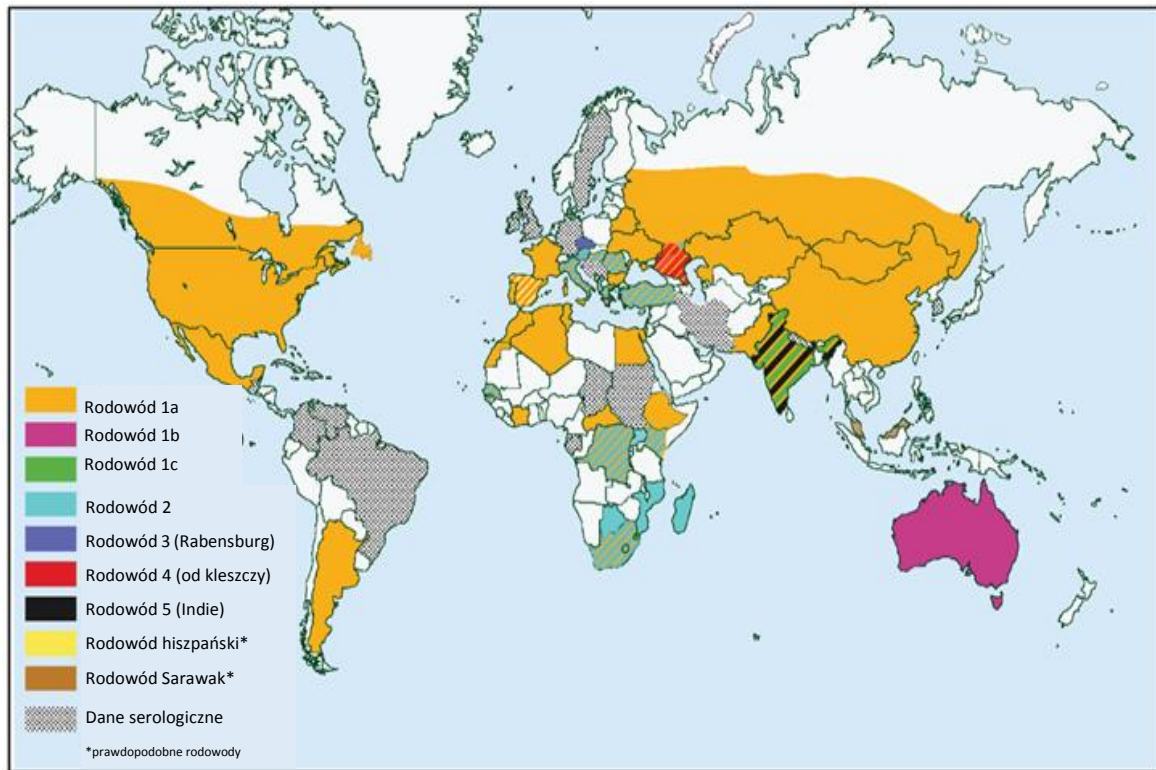
- Kład 1a:
 - Gałąź 1 – zawiera izolaty z Etiopii, Egiptu, Portugalii, Francji, izolat pochodzący od nietoperza z Indii oraz kilka częściowo zsekwencjonowanych izolatów z Rosji, Europy i Bliskiego Wschodu;
 - Gałąź 2 – podzielona jest na dwa typy – typ śródziemnomorski (izolaty z Maroka, Francji, Portugalii, Włoch) oraz typ wschodnioeuropejski (izolaty z Rosji i Rumunii);
 - Gałąź 3 – zawiera tylko izolaty z Astrachanu w Rosji;
 - Gałąź 4 – izolaty z Ameryki Północnej i Południowej, Izraela, Tunezji i Węgier;
 - Gałąź 5 – zawiera izolaty z Republiki Środkowej Afryki;
 - Gałąź 6 – zawiera izolaty z Senegalu i Nigerii;
- Kład 1b – wirus Kunjin, rozprzestrzeniony w Australii i Oceanii;
- Kład 1c – zawiera izolaty z Indii (May i wsp., 2011).

➤ Rodowód 2:

Początkowo rodowód 2 WNV związany był tylko z epidemiami w krajach Afryki Środkowej i na Madagaskarze. W późniejszym czasie rodowód ten został zarejestrowany również na terenie Europy, powodując bardzo liczne zakażenia u ludzi i zwierząt na Węgrzech, w Grecji, Rosji, Turcji oraz we Włoszech. Rodowód 2 WNV po analizie zsekwencjonowanych izolatów podzielony został na cztery gałęzie:

- Gałąź 2a – zawiera izolaty z Madagaskaru (MAD78);
- Gałąź 2b – zawiera izolaty z Republiki Południowej Afryki (SA58b) oraz Cypru (CYP68);
- Gałąź 2c – zawiera izolaty z Madagaskaru (MAD88);

- Gałąź 2d – zawiera izolaty z Republiki Demokratycznej Konga (CON58), Republiki Południowej Afryki (SA58A, SA89, SA00), Republiki Środkowej Afryki (CAR82), Ugandy (UGA37), Senegalu (SEN90), Rosji (RUSV07), Węgier (HUN04), Grecji (GRE10) oraz Włoch (ITA11b) (McMullen i wsp., 2013).



Ryc. 6. Aktualne rozprzestrzenienie geograficzne wirusa Zachodniego Nilu z podziałem na rodowody (Ciota i Kramer, 2013).

➤ Rodowód 3 – Rabensburg:

Wyizolowany został z populacji komarów *Culex pipiens* po powodziach w 1997 roku na granicy czesko – austriackiej w pobliżu miasteczka Rabensburg. Rodowód ten na terenie Czech ponownie izolowano w 1999 roku z grupy komarów *Culex pipiens* oraz w 2006 roku z *Aedes rossicus*. Początkowo genotyp ten został uznany za nowy gatunek flawiwirusa, jednak późniejsza analiza molekularna potwierdziła jego pokrewieństwo z WNV. Badania wykazały jednak duże różnice sekwencji nukleotydowych i genotyp ten został uznany za nowy rodowód 3 wirusa Zachodniego Nilu (Bakonyi i wsp., 2005; Rudolf i wsp., 2014).

➤ Rodowód 4:

Po raz pierwszy został wykryty w 1988 roku u kleszczy *Dermacentor marginatus* w południowo – zachodniej części Kaukazu w Rosji. W 2002 roku rodowód ten ponownie

wyizolowano od komarów *Uranotaenia unguiculata* oraz w 2005 roku z krwi żab w dolinie rzeki Wołgi (Pesko i Ebel, 2012; Chancey i wsp., 2015). W późniejszych latach wyizolowano go w Rumunii oraz w 2013 roku w Austrii od komarów *Uranotaenia unguiculata*, odżywiających się krwią płazów (Pachler i wsp., 2014; Dinu i wsp., 2015). Nigdy nie wykazano jego patogenności dla człowieka (Chancey i wsp., 2015).

➤ Rodowód 5:

Do rodowodu 5 WNV zaliczonych zostało 13 izolatów zarejestrowanych na terenie Indii od 1955 roku. Rodowód ten izolowany był zarówno z próbek pochodzących od ludzi, jak i z populacji komarów *Culex* spp. (Bondre i wsp., 2007). Potencjalnie rodowód ten może charakteryzować się mniejszą wirulentnością niż rodowód 1a, którego ko-cyrkulację potwierdzono na terenie Indii w latach 1967 – 1968, izolując go od pacjenta z zakażeniem ośrodkowego układu nerwowego oraz nietoperza (Bondre i wsp., 2007).

➤ Prawdopodobny rodowód 6 Sarawak (Malezja):

Rodowód WNV_{SARAWAK} został wyizolowany w 1966 roku z populacji komarów *Culex pseudovishnui* zebranych w pobliżu miasta Sarawak na Borneo. Nie potwierdzono dotąd jego chorobotwórczości dla ludzi i zwierząt (Macdonald i wsp., 1965; Prow i wsp., 2014b).

➤ Prawdopodobny rodowód 7 Koutango (Senegal):

WNV_{KOU} po raz pierwszy wyizolowano w 1968 roku z krwi myszokoczków w regionie Koutango w Senegalu, a następnie z krwi tych samych zwierząt w Somalii. Mało jest danych na temat jego potencjalnej chorobotwórczości dla człowieka. Podczas prowadzenia badań nad tym rodowodem odnotowano jednak objawowe zakażenie u pracownika laboratorium w Senegalu. Badania *in vivo* przeprowadzone nad tym rodowodem wykazały, że jest on bardziej wirulentny niż genotyp WNV_{NY99}, odpowiedzialny za jedną z największych dotąd epidemii w Stanach Zjednoczonych (Prow i wsp., 2014b).

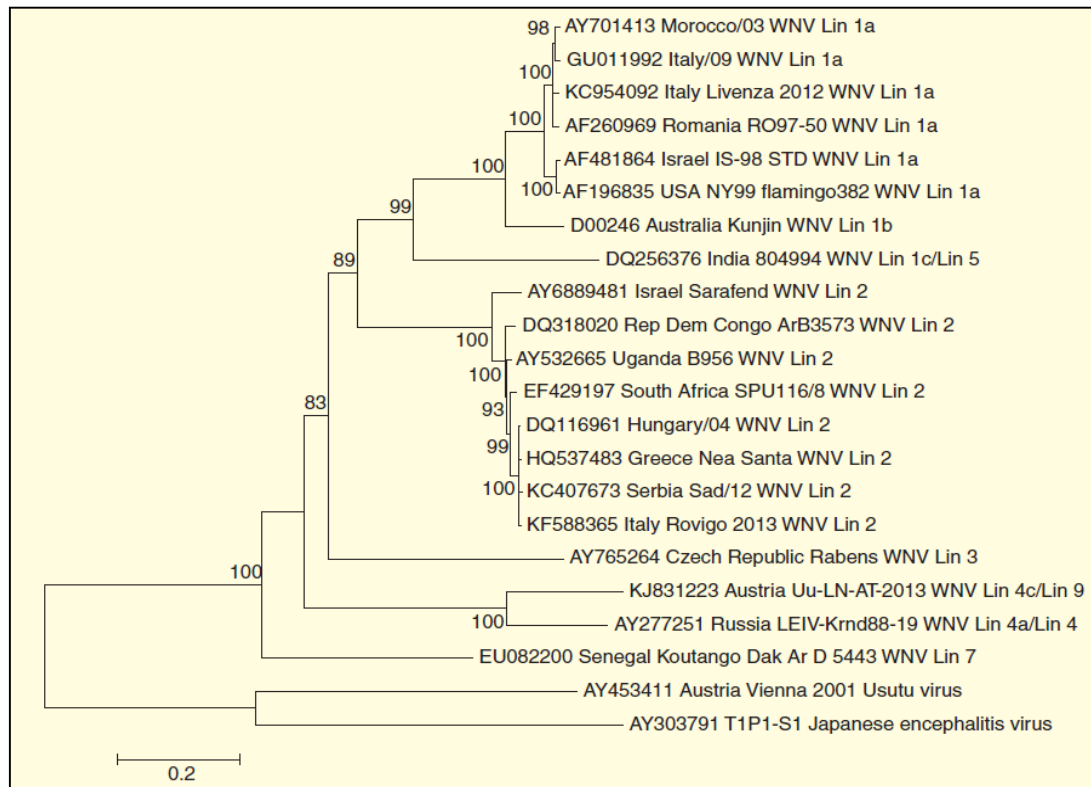
➤ Prawdopodobny rodowód Yaounde:

Początkowo traktowany był jako odrębny gatunek flawiwirusa – wirus Yaounde. Izolowany był od ptaków, ssaków i komarów *Culex* spp. i *Aedes* spp. w Kamerunie, Republice Środkowej Afryki, Republice Demokratycznej Kongo, Senegalu, Ghanie i Wybrzeżu Kości Słoniowej. Nie wykazano jego patogenności dla człowieka. Analiza molekularna potwierdziła jego bliskie pokrewieństwo z wirusem Zachodniego Nilu (Williams i wsp., 2012; Moureau i wsp., 2015).

➤ Prawdopodobny rodowód hiszpański:

Wykryty został w populacji komarów *Culex pipiens* zebranych na południu Hiszpanii w 2006 roku (Vazquez i wsp., 2010). Badania molekularne potwierdziły, że jest on najbliższym spokrewnionym z rodowodem 4 WNV (Pesko i Ebel, 2012).

Zakażenie wirusem Zachodniego Nilu jest stosunkowo rzadko uwzględniane w diagnostyce różnicowej dolegliwości chorobowych i objawów klinicznych o nieznannej etiologii u pacjentów podróżujących do krajów odmiennej strefy geograficzno-klimatycznej. Ze względu na brak dotychczasowych danych na temat częstości występowania zakażeń WNV u Polaków wyjeżdżających na obszary endemicznego występowania wirusa, w pracy tej podjęto się po raz pierwszy próby wykrycia gorączki Zachodniego Nilu wśród pacjentów powracających do Polski z krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej. Zaproponowano wskazanie strefy lub regionów geograficznych, w których istnieje aktualnie największe ryzyko zakażenia wirusem podczas zagranicznych wyjazdów o charakterze wypoczynkowym lub zawodowym.

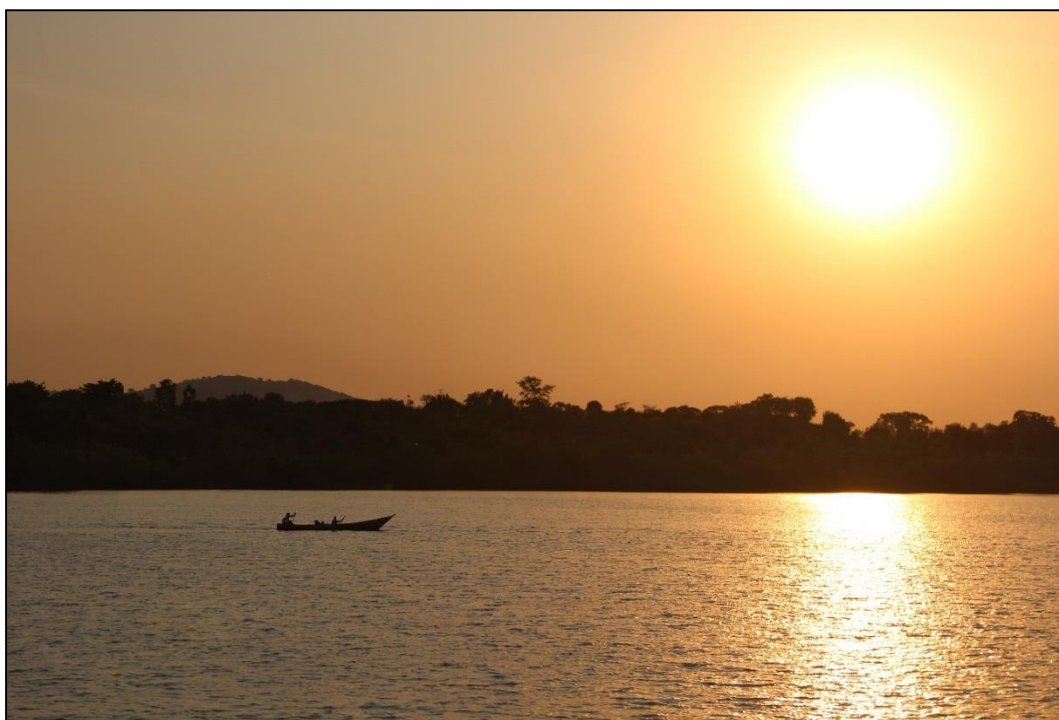


Ryc. 7. Podział wirusa Zachodniego Nilu na rodowody i klady w zależności od stopnia zróżnicowania sekwencji nukleotydowych (Barzon i wsp., 2015b).

1.5. Rys historyczny i epidemiologia zakażeń wywoływanych przez wirusa Zachodniego Nilu na świecie

1.5.1. Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Afryce

Wirus Zachodniego Nilu po raz pierwszy został wyizolowany w 1937 roku od gorączkującej kobiety z miasta Omongo w dystrykcie Zachodniego Nilu w Ugandzie (Ryc. 8). Krew pacjentki pobrano podczas prowadzenia badań epidemiologicznych mających na celu zdefiniowanie strefy endemicznego występowania wirusa żółtej gorączki. Próbkę pochodzącą od kobiety podano następnie domózgowo myszom doświadczalnym, u których kilka dni później zaobserwowano objawy zapalenia mózgu. Nasunęło to podejrzenie wykrycia nowego typu neurotropowego wirusa (Smithburn i wsp., 1940). Swoją nazwę „wirus Zachodniego Nilu” zawdzięcza lokalizacji geograficznej miejsca jego pierwszej izolacji. W latach 1939-1940 badano obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusom neurotropowym (WNV, SLEV, JEV) u ludności endemicznej w Ugandzie, Sudanie, Demokratycznej Republice Konga i Kenii. W niektórych regionach seropozytywność w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu osiągała nawet 50% (Chancey i wsp., 2015).



Ryc. 8. Jinja, miasteczko portowe nad Jeziorem Wiktorii w prowincji Zachodniego Nilu w Ugandzie (Afryka Wschodnia) – początek źródeł Nilu. Kolekcja własna.

Kolejne doniesienie na temat izolacji wirusa „identycznego z wirusem Zachodniego Nilu” odnotowano w roku 1950 w surowicy pacjentów z Egiptu (Melnick i wsp., 1951). W latach 1950-1954 w kraju tym przeprowadzono bardzo szeroką analizę seropozytywności wśród lokalnej społeczności, wykazując ją u ponad 60% badanych mieszkańców Doliny Nilu (Hurlbut i wsp., 1956). W badaniach udokumentowano także sezonowość występowania infekcji, enzootyczny cykl krążenia wirusa pomiędzy komarami a ptakami oraz pierwsze infekcje u koni. W opracowaniach z tego okresu opisane są także przypadki eksperymentalnego zakażenia wirusem Zachodniego Nilu osób z rozpoznaniem chorób rozrostowych krwi celem zbadania potencjalnych właściwości leczniczych WNV (Murgue i wsp., 2001). W 1959 roku w Egipcie przeprowadzono również badania seropozytywności wśród koni. Obecność swoistych przeciwciał stwierdzono u 54% badanych osobników, a jeden przypadek okazał się śmiertelny (Murgue i wsp., 2001).

W roku 1951 i 1955 seropozytywność w kierunku wirusa Zachodniego Nilu wykazano u ludności endemicznej w Nigerii, a w roku 1954 w Republice Południowej Afryki (Chancey i wsp., 2015). W latach 60-tych XX wieku przeprowadzono także kolejne badania obecności swoistych przeciwciał przeciwko WNV u mieszkańców Kenii. W zależności od regionu wykryto je u 3% populacji mieszkającej w pobliżu Jeziora Wiktorii, u 13,8% zamieszkujących w centralnej części kraju oraz u 65% populacji zamieszkującej tereny przybrzeżne (Mackenzie i wsp., 2002; Diamond, 2009). W tym samym czasie podobne badania przeprowadzono w Tunezji, a seropozytywność wykazano u 5% badanych, głównie u dzieci (Diamond, 2009).

Największa afrykańska epidemia zakażenia wirusem Zachodniego Nilu dotyczyła dawnej Prowincji Przylądkowej w Republice Południowej Afryki, gdzie w 1974 roku po ulewnych deszczach patogen został wyizolowany od sześciu chorych pacjentów, a późniejsza analiza seropozytywności wykazała obecność przeciwciał u 55% badanych osób (nawet 18 tys. możliwych przypadków). Dokonano także bardzo licznych izolacji wirusa u komarów (McIntosh i wsp., 1976; Jupp, 2001; Mackenzie, 2002).

W 1989 roku w północnym Senegalu seropozytywność w kierunku WNV wynosiła 45% u dzieci do 5-tego roku życia, 80% u dzieci od szóstego do piętnastego roku życia oraz 98% u dorosłych (Mackenzie i wsp., 2002; Diamond, 2009). Dla porównania, w 1991 roku w południowo – wschodniej części kraju uzyskano znacznie niższe wartości – 18% u dzieci oraz 22,7% u dorosłych (Mackenzie i wsp., 2002).

W 1994 roku w Algierii odnotowano 50 przypadków zakażenia wirusem, z czego 20 sklasyfikowano jako zapalenie mózgu. W doniesieniu tym raportowano o ośmiu przypadkach śmiertelnych, głównie u małych dzieci (Le Guenno i wsp., 1996). W 1996 roku

odnotowano 94 zakażenia wirusem Zachodniego Nilu wśród koni, z czego 42 były przypadkami śmiertelnymi (Murgue i wsp., 2001). Doniesienie z południowo – wschodniej Tunezji z 1997 roku opisywało 173 pacjentów hospitalizowanych z powodu zapalenia mózgu lub opon mózgowo – rdzeniowych, u 8 zakończonych zgonem (Sejvar, 2003).

W latach 1996-1997 przeprowadzono także analizę seropozytywności na wyspach Oceanu Indyjskiego - Reunion oraz Mauritius. Obecność swoistych przeciwciał wykazano u 11,4% ludności wyspy Reunion oraz 18,4% u mieszkańców Mauritiusa (Mackenzie i wsp., 2002).

W 2002 roku w Sudanie zanotowano co najmniej 31 przypadków zapalenia mózgu, głównie u dzieci (Depoortere i wsp., 2004). Rok później kolejna epidemia WNV miała miejsce w Tunezji, podczas której zarejestrowano 31 potwierdzonych przypadków (Benjelloun i wsp., 2016).

W latach 2003-2012 podobne badania seropozytywności zostały przeprowadzone na populacji psów. Wykazano w nich wysoką seropozytywność u zwierząt w Czadzie, nieco niższą w Senegalu, Dżibuti i Demokratycznej Republice Konga, najniższą natomiast na Wybrzeżu Kości Słoniowej. U żadnego z 245 psów z Gabonu nie stwierdzono obecności swoistych przeciwciał (Davoust i wsp., 2014).

W latach 2006 – 2007 w badaniach przeprowadzonych na populacji komarów w północno – wschodniej części Kenii wykazano obecność wirusa u 21% badanych owadów (LaBeaud i wsp., 2011). W tym samym czasie badania gorączkujących pacjentów w Gwinei wykazały obecność przeciwciał w klasie IgG u 23% chorych (Jentes i wsp., 2010).

Surowice pacjentów z podejrzeniem gorączki krwotocznej Lassa pochodzące od chorych z dwóch szpitali w Sierra Leone kolekcjonowane były sukcesywnie od 2006 do 2008 roku. Po wykluczeniu zakażenia poddano je analizie w kierunku innych czynników infekcyjnych, w tym WNV. Obecność przeciwciał klasy IgM wykazano u trzech spośród 250 przebadanych próbek. Potwierdza to obecność wirusa Zachodniego Nilu również na terenie Sierra Leone (Schoepp i wsp., 2014).

W latach 2008 – 2009 poszukiwanie swoistych przeciwciał w kierunku WNV u ludności endemicznej w Republice Południowej Afryki wykazało ich obecność u 17,5% badanych, u siedmiu osób obserwowano bardzo ciężki przebieg kliniczny z pełną manifestacją objawów neurologicznych (Zaayman i Venter, 2012). W latach 2009-2013 poszukiwania swoistych przeciwciał przeciwko WNV przeprowadzono także w Mali, gdzie immunoglobuliny w klasie IgM wykazano u 0,27% gorączkujących pacjentów, natomiast w klasie IgG u 39,1% chorych (Safronetz i wsp., 2016).

W 2010 roku w Afryce Saharyjskiej – w Tunezji zakażenie wirusem Zachodniego Nilu zostało potwierdzone u dwojga dzieci mieszkających w pobliżu granicy z Algierią (północna część kraju), natomiast rok później trzy przypadki zdiagnozowano u kobiet w wieku odpowiednio 61, 70, i 77 lat mieszkających w pobliżu oazy na południu kraju (Benjelloun i wsp., 2016). W 2012 roku potwierdzono w tym kraju 86 przypadków pełnoobjawowych neuroinfekcji wywołanych przez wirusa Zachodniego Nilu zakończonych zgonem u 12 osób (13,9%), a seropozytywność u koni w tym samym roku wykryto u 42,3% badanych zwierząt (Benjelloun i wsp., 2016). W 2011 roku przeprowadzono także analizę seropozytywności wśród mieszkańców centralnej i północno – zachodniej części Maroka. Obecność swoistych przeciwciał wykazano u niemalże 12% badanej populacji (Benjelloun i wsp., 2016). W tym samym roku wykonano także podobne badania u ptaków migrujących i osiadłych na terenie tego pustynnego kraju, a przeciwciała wykryto u 6 – 50% badanych zwierząt (Benjelloun i wsp., 2016).

Dane epidemiologiczne z 2015 roku opisują również seropozytywność u 10,3% ludności endemicznej w północno – zachodniej i zachodniej części Zambii (Mweene-Ndumba i wsp., 2015).

Podsumowując, na terenie kontynentu afrykańskiego wirus Zachodniego Nilu został wyizolowany w Senegal, Algierii, Wybrzeżu Kości Słoniowej, Etiopii, Nigerii, Ugandzie, Republice Środkowej Afryki, Republice Południowej Afryki, Egipcie, Kenii, Tunezji, Maroku, Demokratycznej Republice Konga oraz na Madagaskarze i Wyspie Reunion (Mackenzie i wsp., 2002).

1.5.2. Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Europie

Obecność wirusa Zachodniego Nilu w Europie stwierdzono po raz pierwszy w 1958 roku w Albanii, gdzie w surowicy krwi obwodowej dwóch pacjentów wykryto swoiste przeciwciała przeciwko wirusowi (Bárdos i wsp., 1959). Pierwsza epidemia zakażeń WNV na terenie Europy miała miejsce we Francji w Camargue – krainie geograficznej na południu kraju, położonej w delcie Rodanu. Teren ten zamieszkiwany jest przez ponad 400 gatunków ptaków i słynne dzikie białe konie z Camargue. W 1962 roku w tej samej prowincji odnotowano 80 przypadków neuroinfekcji u koni, u których obserwowano ataksję i ogólne osłabienie. U około 30% zwierząt choroba zakończyła się zgonem. W tym samym czasie u kilkorga osób zamieszkujących na tym terenie zaobserwowano objawy zapalenia mózgu, a niektórzy z nich posiadali w surowicy

swoiste przeciwciała przeciwko arbowirusom grupy B. Ostatecznego rozpoznania czynnika etiologicznego dokonano dopiero w 1964 roku, kiedy wirus Zachodniego Nilu został wyizolowany z populacji komarów oraz z krwi dwóch entomologów prowadzących te badania. Dopiero w późniejszym czasie 13 przypadków u ludzi, w tym jeden śmiertelny, zostało potwierdzonych jako zakażenie WNV. W 1965 roku odnotowano także kilka przypadków zapalenia mózgu u koni, a wirus wyizolowano z rdzenia kręgowego jednego z martwych zwierząt oraz z populacji komarów (Murgue i wsp., 2001). Podczas prowadzenia tych obserwacji naukowych odnotowywano także pierwsze śmiertelne przypadki zapalenia mózgu u ludzi wywołane przez WNV w innych krajach Europy.

Po uzyskaniu informacji o prawdopodobnej aktywności wirusa na północy Hiszpanii, w latach 1961-1970 przeprowadzono analizę seropozytywności u ludności zamieszkującej na tych terenach. Swoiste przeciwciała przeciwko WNV stwierdzono w surowicy 9,8% badanej próby (Mackenzie i wsp., 2002).

Pierwszej izolacji wirusa Zachodniego Nilu w Rosji dokonano w 1963 roku od kleszczy *Hyalomma marginatum* zebranych z gawronów w delcie Wołgi w obwodzie astrachańskim. W roku 1966 w surowicy honorowych dawców krwi z tego regionu stwierdzono również obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi (Fyodorova i wsp., 2006).

W latach 1966-1967 w regionie Alentejo na południu Portugalii przeprowadzono analizę seropozytywności u bydła i owiec, a przeciwciała przeciwko WNV wykazano u 15% zwierząt, natomiast w roku 1969 wirus został wyizolowany od populacji komarów *Anopheles maculipennis* w odległości 20 km na południe od miasta Beja (Mackenzie i wsp., 2002).

W 1970 roku w Rumunii przeprowadzono analizę seropozytywności wśród ludności zamieszkującej tereny bytowania bardzo wielu gatunków ptaków migrujących. Obecność swoistych przeciwciał wykazano u 26% badanych osób (Mackenzie i wsp., 2002).

Z roku 1974 pochodzi pierwsze doniesienie na temat obecności wirusa Zachodniego Nilu na terenie południowej Ukrainy. Dotyczy ono kilku przypadków neuroinfekcji u ludzi oraz obecności swoistych przeciwciał u dzikich ptaków i zwierząt domowych (Hubálek i Halouzka, 1999; Ziegler i wsp., 2013).

W latach 1960-1978 na Słowacji wirus Zachodniego Nilu był izolowany z populacji komarów *Aedes constans*, a swoiste przeciwciała zostały wykryte w surowicy 5,4% ptaków oraz 5,3% małych ssaków (Csank i wsp., 2016). W roku 1985 odnotowano 38 przypadków zakażenia WNV u ludzi, w tym 16 z towarzyszeniem objawów neurologicznych w zachodniej części Ukrainy (Mackenzie i wsp., 2002).

Jedną z głównych europejskich epidemii zakażenia wirusem Zachodniego Nilu z przypadkami zajęcia ośrodkowego układu nerwowego u ludzi stwierdzono w Rumunii, w Bukareszcie i jego okolicach po rozległej powodzi, która wydarzyła się w 1996 roku. W doniesieniu tym raportowano o 835 pacjentach z objawami neurologicznymi, 343 potwierdzonych zakażeniach i 17 zgonach. Po jej wybuchu przeprowadzono badania obecności przeciwciał u ptactwa domowego, wykazując je u 41% badanych zwierząt (Mackenzie i wsp., 2002). W kolejnych latach po wybuchu pierwszej epidemii w Rumunii odnotowano już tylko 13 przypadków neuroinfekcji, w tym jeden zakończony zgonem (Mackenzie i wsp., 2002).

W 1997 roku stwierdzono także pojedyncze przypadki zakażenia wirusem po powodzi w graniczących z Polską Czechach (Rudolf i wsp., 2014).

W 1998 roku zakażenie wirusem stwierdzono także we Włoszech w Toskanii u 14 koni i cztery bezobjawowe przypadki u ludzi. U sześciu zwierząt były to przypadki śmiertelne, a z tkanki mózgowej martwych zwierząt wyizolowano czynnik etiologiczny – rodowód 1a WNV (Murgue i wsp., 2001; Chancey i wsp., 2015).

Kolejna wielka epidemia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu miała miejsce w Rosji w lipcu i sierpniu 1999 roku. Odnotowano wtedy 826 pacjentów z objawami neurologicznymi, 183 potwierdzone przypadki, w tym 40 zgonów. Większość przypadków dotyczyła mieszkańców dwóch obwodów – astrachańskiego i wołgogradzkiego, a zachorowania obserwowano głównie u ludności miejskiej. Sprzyjały temu ulewne deszcze, w wyniku których doszło do lokalnych podtopień piwnic w budynkach wielopiętrowych, co stwarzało idealne warunki do rozmnażania komarów (podobnie jak w Bukareszcie w 1996 roku) (Fyodorova i wsp., 2006). W latach 2000-2006 liczba przypadków neuroinfekcji u ludzi była już zdecydowanie mniejsza (Platonov i wsp., 2008).

W roku 2000 w południowej Francji pomiędzy wrześniem a listopadem w tzw. krainie Mała Camargue (departament Gard), bagiennej nizinie położonej na południe od Camargue, potwierdzono kolejnych 76 przypadków zakażenia wirusem Zachodniego Nilu z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego u koni. U 21 zwierząt zakażenie miało skutek śmiertelny. Nie stwierdzono w tym czasie infekcji u ludzi. W tym samym roku przeprowadzono także badania seropozytywności u 5.133 koni hodowanych na terenie objętym epidemią. Obecność swoistych przeciwciał w klasie IgG wykazano u 8,3% badanych zwierząt, z czego 41,4% posiadało również przeciwciała w klasie IgM (Murgue i wsp., 2001).

W 2003 roku na Węgrzech szczep wirusa blisko spokrewniony z odmianą pochodzącą ze Stanu Nowy Jork WNV_{NY99} wywołał epidemię zapalenia mózgu u gęsi. Rodowód 1a WNV

został wyizolowany z tkanki mózgowej 6-tygodniowej gęsi domowej, co potwierdziło jego obecność na terenie Europy (Bakonyi i wsp., 2006).

W 2003 roku w mieście Fréjus, w południowo – wschodniej Francji u czterech pacjentów zdiagnozowano zakażenie wirusem Zachodniego Nilu. U dwóch osób infekcja ta miała charakter klasycznej gorączki Zachodniego Nilu, u dwóch natomiast pełnoobjawowego zapalenia mózgu i opon mózgowo – rdzeniowych (Del Giudice i wsp., 2004). Rok później kolejne doniesienie z krainy Camargue udokumentowało 32 przypadki zapalenia mózgu u koni. W 2005 roku przeprowadzono badania obecności przeciwciał i materiału genetycznego wirusa u srok (ptaki osiadłe) zamieszkujących ten obszar geograficzny. Analiza ta wykazała jednoznacznie, że ptaki te mogą być rezerwuarem wirusa w tym regionie Francji (Jourdain i wsp., 2008). W roku 2004 na terenie Europy pojawił się rodowód 2 wirusa Zachodniego Nilu (Bakonyi i wsp., 2006).

Badania przeprowadzone w 2003 roku w Hiszpanii w Andaluzji wykazały obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi w populacji ptaków. Pierwszy przypadek zakażenia WNV u ludzi odnotowano w 2004 roku w południowo – zachodniej części kraju. Rok później przeprowadzono badania seropozytywności wśród populacji andaluzyjskich koni, co potwierdziło obecność swoistych przeciwciał przeciwko WNV u 8% badanych zwierząt. Pierwszej izolacji wirusa dokonano jednak dopiero w 2007 roku w prowincji Castilla – La Mancha u dwóch orłów przednich, u których zaobserwowano wystąpienie objawów neurologicznych (Abad-Cobo, 2016).

W 2007 roku w Rosji ponownie zaobserwowano wzrost liczby przypadków zakażenia wirusem Zachodniego Nilu z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego. W trakcie tego roku odnotowano aż 64 przypadki neuroinfekcji (Platonov i wsp., 2008).

W 2008 roku we Włoszech zidentyfikowano pierwsze potwierdzone przypadki zajęcia ośrodkowego układu nerwowego wywołane przez WNV u ludzi na terenie wiejskim w pobliżu rzeki Po oraz w regionie Emilia – Romagna i Wenecji Euganejskiej (Delbue i wsp., 2014). Zakażenia te wywołał rodowód 1a WNV, a północno – wschodnia część Włoch stała się terenem endemicznego występowania wirusa. W kolejnych latach zanotowano zakażenia wirusem także w centralnej i południowej części kraju, skąd coraz częściej izolowano także rodowód 2 WNV (Monaco i wsp., 2015).

W związku z ciągłym rozprzestrzenianiem się wirusa w 2008 roku również na Węgrzech, odnotowano kolejne 22 przypadki neuroinfekcji wśród ludzi oraz 12 u koni (Chancey i wsp., 2015). Zakażenia te spowodował rodowód 2 WNV, który jeszcze w tym samym roku został wyizolowany z tkanki mózgowej martwych sokołów znalezionych w Austrii blisko granicy

z Węgrami. Analiza molekularna potwierdziła, że zarówno genotyp z Węgier, jak i ten z Austrii wykazywały 99% podobieństwo do genotypu wyizolowanego na Węgrzech w 2004 roku (Wodak i wsp., 2011; Bakanoyi i wsp., 2013).

W latach 2008-2011 zbadano surowice 395 koni pochodzących z różnych regionów Czech i Słowacji. Obecność swoistych przeciwciał wykazano tylko u koni ze Słowacji. Seropozytywność nie była wysoka i wynosiła 8,3% (Hubálek i wsp., 2013).

W 2010 roku doszło do kolejnej epidemii w Rumunii, w wyniku której neuroinfekcję stwierdzono u 57 osób, a u pięciu z nich zakończyła się ona zgonem. Za wywołanie tego zakażenia tym razem odpowiadał rodowód 2 WNV. Przypadki notowano zarówno w południowo – wschodniej części kraju, jak i w Transylwanii u podnóża Karpat (Dinu i wsp., 2015). W tym samym roku notowano także pojedyncze przypadki zakażenia wirusem w Andaluzji w Hiszpanii (Abad-Cobo i wsp., 2016). Analiza seropozytywności u koni z centralnej części kraju wykazała ją jednak zaledwie u 1,35% badanych zwierząt (Abad-Cobo i wsp., 2016).

Również w 2010 roku wielka epidemia WNV wybuchła w Grecji w regionie Centralnej Macedonii na północy kraju. W jej wyniku stwierdzono 197 przypadków neuroinfekcji wywołanych przez WNV ze śmiertelnością na bardzo wysokim poziomie - 17% (Papa, 2013). Po przeprowadzeniu analizy molekularnej wyizolowanego patogenu stwierdzono, że za wystąpienie tej ekspansywnej epidemii, podobnie jak w Rumunii, odpowiedzialny jest rodowód 2 WNV. Późniejsza analiza seropozytywności przeprowadzona wśród lokalnej społeczności wykazała obecność swoistych przeciwciał przeciwko WNV u 6,4% populacji (Ladbury i wsp., 2013). W kolejnych latach w tym kraju obserwowano stałe rozprzestrzenianie się wirusa, jednak liczba przypadków zakażeń z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego rzadko przekraczała 100 pacjentów. W 2013 roku przeprowadzono uogólnione badania seropozytywności dla całej populacji Grecji, a wykazano ją jedynie u 2,1% badanych osób (Hadjichristodoulou i wsp., 2015).

W 2010 roku w zachodniej części Turcji przy granicy z Grecją stwierdzono trzy przypadki gorączki Zachodniego Nilu wśród ludzi. Było to pierwsze doniesienie na temat obecności wirusa w tym kraju. W badaniach przeprowadzonych w latach 2011-2013 wyizolowano wirusa Zachodniego Nilu z populacji komarów i z tkanki mózgowej padłych koni oraz potwierdzono seropozytywność u ludzi (Ergunay i wsp., 2014). W 2012 roku stwierdzono również przypadek zapalenia mózgu wywołanego przez WNV u 63-letniego mężczyzny pochodzącego z Ankary (Ocal i wsp., 2014).

W 2010 roku dokonano pierwszej izolacji wirusa Zachodniego Nilu z populacji komarów w Serbii, jednocześnie potwierdzając obecność rodowodu 2 WNV w tym kraju (Escribano-Romero i wsp., 2015). W latach 2010-2012 przeprowadzono także analizę seropozytywności wśród różnych gatunków zwierząt, wykazując ją u 26,8% koni, 15,4% trzody chlewnej, 17,6% dzików oraz 18,7% saren (Escribano-Romero i wsp., 2015). U ludzi pierwszych 69 przypadków odnotowano dopiero w 2012 roku (ECDC, 2012). Jednak rok później, w 2013 roku na terenie Serbii miała miejsce jedna z największych epidemii zakażeń wywołanych przez WNV w Europie. Badaniami laboratoryjnymi potwierdzono wówczas 302 przypadki zakażenia u ludzi i aż 35 zgonów (11,6%) (ECDC, 2013).

W Polsce pierwszy prawdopodobny przypadek zakażenia WNV u człowieka zaobserwowano w 2010 roku. Gorączkę Zachodniego Nilu stwierdzono u 55-letniej mieszkanki niewielkiej miejscowości niedaleko Białegostoku. U pacjentki, która nigdy nie wyjeżdżała poza granice kraju wykazano wysokie stężenie przeciwciał przeciwko WNV w klasie IgM (Hermanowska-Szpakowicz i wsp., 2006).

W 2011 roku w centralnej części Włoch odnotowano duże doniesienie na temat zakażeń wywołanych przez wirusa Zachodniego Nilu, a po jego izolacji i badaniach molekularnych stwierdzono, że jest to pierwszy przypadek wystąpienia rodowodu 2 WNV na terenie tego kraju. Genotyp odpowiedzialny za zakażenia był blisko spokrewniony z genotypami węgiersko – greckimi (Delbue i wsp., 2014).

W 2011 roku odnotowano także wzrost liczby zakażeń WNV u ludzi w Rosji, gdzie stwierdzono 153 przypadki zachorowań (najwięcej w obwodach wołgogradzkim i woronieckim) (ECDC, 2011).

W tym samym roku wirus po raz pierwszy pojawił się na terenie Macedonii, gdzie pierwszy przypadek zakażenia stwierdzono w lipcu, a kolejne cztery notowano w sierpniu (6-letnia dziewczynka), wrześniu (49-letnia kobieta, 21-letni mężczyzna) oraz w październiku 2011 roku (46-letni mężczyzna) (Spiroski i wsp., 2013).

W latach 2011-2012 zbadano seropozytywność w populacji ukraińskich koni pochodzących z różnych regionów kraju. Wykazano ją u 13,5% badanych zwierząt. W okresie tym zaobserwowano także ponowne wystąpienie zakażeń wśród ludzi (Ziegler i wsp., 2013).

W 2012 roku wirus pojawił się na terenie Chorwacji, która po raz pierwszy zanotowała pięć przypadków izolowanego zapalenia opon mózgowo – rdzeniowych oraz dwa przypadki zapalenia opon mózgowo – rdzeniowych, którym towarzyszyło ostre porażenie wiotkie u ludzi (Pem-Novosel i wsp., 2013; Perić i wsp., 2013).

Jedną z większych epidemii zakażeń wirusem Zachodniego Nilu u ludzi we Włoszech miała miejsce w 2012 roku w północno – wschodniej części kraju. Stwierdzono wtedy 25 przypadków neuroinfekcji, 17 przypadków klasycznej gorączki Zachodniego Nilu, 14 przypadków wyodrębnionych podczas przesiewowych badań krwiodawców i dwa przypadki bezobjawowe. Zakażenia spowodował rodowód 1a WNV, genotyp Livenza (Barzon i wsp., 2013). Rok później ogólna liczba zakażeń wirusem wyniosła 40 przypadków, a występowały one głównie w regionach Veneto i Emilia – Romagna, które były miejscem pierwszej epidemii we Włoszech w 2008 roku. Śmiertelność z powodu zakażeń wywołanych przez WNV we Włoszech w latach 2008-2011 wyniosła 16% (Delbue i wsp., 2014). W roku 2013 przeprowadzono bardzo duże badania entomologiczne na terenie południowo – wschodnich Włoch, dzięki którym wykazano, że za większość zakażeń w tym okresie odpowiadał rodowód 2 WNV. Jednak w regionie Rovigo obecny był także rodowód 1a WNV (Calzolari i wsp., 2015). W 2014 roku na tym samym terenie stwierdzono także występowanie genotypu Volgograd 2007 rodowodu 2 WNV odpowiedzialnego za wcześniejsze infekcje na terenie Europy Wschodniej (Ravagnan i wsp., 2015).

Również w 2013 roku wirus po raz pierwszy zaalarmował w Bośni i Hercegowinie, gdzie stwierdzono przypadki neuroinfekcji o etiologii WNV (Ahmetagić i wsp., 2015). W tym samym roku w Chorwacji odnotowano 20 przypadków zakażeń centralnego układu nerwowego wywołanych przez WNV (Vilibic-Cavlek i wsp., 2014).

W latach 2011-2013 na terenie Rumunii przeprowadzono szerokie badania entomologiczne, w wyniku których na terenie kraju potwierdzono obecność rodowodu 1a WNV oraz 2 WNV, ale również nowego rodowodu 4 WNV (Dinu i wsp., 2015).

W roku 2013 w graniczącej z Polską Słowacji dokonano izolacji wirusa Zachodniego Nilu z tkanki mózgowej martwych ptaków. Wśród gatunków, od których izolowano WNV były uszatka zwyczajna, grubodziób zwyczajny, rudzik, dzwonec zwyczajny, słowik rdzawy, bogatka zwyczajna, wróbel zwyczajny, wróbel mazurek, dzięcioł zwyczajny, kapturka, jastrząb zwyczajny, myszołów zwyczajny, krogulec zwyczajny, pustułka zwyczajna oraz kos zwyczajny. Potwierdzono także jednoczesne współwystępowanie rodowodów 1 WNV i 2 WNV na terenie tego kraju (Csank i wsp., 2016). Badania entomologiczne przeprowadzone w Czechach w 2013 roku wykazały na terenie kraju obecność zarówno rodowodu 2 WNV, jak i rodowodu 3 WNV (rodowód Rabensburg) (Rudolf i wsp., 2014).

W tym samym roku na terenie Chorwacji odnotowano niewielką epidemię zapalenia mózgu wywołanego przez rodowód 2 WNV – 22 przypadki zachorowań (Kurołta i wsp., 2014).

W 2014 roku u honorowego krwiodawcy z Wiednia w badaniach przesiewowych wykazano obecność przeciwciał przeciwko WNV oraz materiału genetycznego wirusa w pobranej próbce krwi. Badaniami potwierdzono obecność rodowodu 2 WNV. W późniejszych badaniach entomologicznych wykryto również wirusa w populacji komarów w okolicach Wiednia (Kolodziejek i wsp., 2015).

W 2015 roku odnotowano jeden przypadek zakażenia wirusem Zachodniego Nilu z objawami neurologicznymi na terenie wiejskim w prowincji Algarve w Portugalii. Jednocześnie stwierdzono także kilka przypadków neuroinfekcji u koni (Zé-Zé i wsp., 2015).

W latach 2011-2015 zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u ludzi na terenie Europy notowano w Grecji, Włoszech, Rumunii, Rosji, Serbii, Macedonii, Bośni i Hercegowinie, Chorwacji, Turcji, Bułgarii, Ukrainie, Czarnogórze, Czechach, Kosowie, Albanii, Słowenii, Austrii, Francji, Portugalii oraz na Węgrzech (ECDC, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015).

1.5.3. Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Azji

Pierwszą epidemię zakażeń wywołanych przez wirusa Zachodniego Nilu stwierdzono w 1951 i 1952 roku w pobliżu miasta Haifa w Izraelu. Odnotowano tam aż 123 przypadki gorączki Zachodniego Nilu u 303 mieszkańców wioski, z czego 52% stanowiły dzieci poniżej szóstego roku życia. Nie odnotowano jednakże przypadków śmiertelnych (Murgue i wsp., 2001). W Indiach pierwsze wzmianki na temat wirusa Zachodniego Nilu pochodzą z 1952 roku, kiedy to obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi stwierdzono u pacjentów w Bombaju, a następnie w stanie Tamilnadu (Anukumar i wsp., 2014). W latach 50-tych XX wieku opisywane były kolejne przypadki gorączki Zachodniego Nilu u ludzi w Izraelu i Indiach (Bernkopf i wsp., 1953; Shoba i wsp., 2016). W 1957 roku pojawiło się pierwsze doniesienie na temat neuroinwazyjnego przebiegu zakażenia WNV u kilkunastu starszych osób w domu opieki społecznej w Izraelu (Sejvar, 2003).

Badania seropozytywności u mieszkańców Iranu przeprowadzone w 1967 roku wykazały obecność swoistych przeciwciał przeciwko WNV u 25% badanej populacji. Z tego okresu nie ma jednak żadnych doniesień na temat pełnoobjawowych zakażeń u ludzi w tym kraju (Diamond, 2009).

Wirus Zachodniego Nilu krążył w Indiach od lat 50-tych XX wieku. Dane z 1968 roku opisują dwa przypadki neuroinwazyjnych zakażeń u dzieci z miasta Vellore w stanie

Tamilnadu, a w 1970 roku opisano izolację wirusa z surowicy pacjenta ze stanu Karnataka, z gorączką o nieustalonej etiologii (George i wsp., 1984).

W latach 1977-1979 przeprowadzone zostały bardzo szerokie badania na populacji komarów w stanie Karnataka na południu Indii, podczas których został wyizolowany wirus Zachodniego Nilu. Potwierdzono jednocześnie jego współwystępowanie z innym neurotropowym patogenem – wirusem japońskiego zapalenia mózgu (George i wsp., 1987). W roku 1977, 1979 oraz 1981 odnotowano kilka przypadków potwierdzonych dodatnim wynikiem badania serologicznego w okręgu Kolar w stanie Karnataka (George i wsp., 1984). W latach 1970-2000 w Indiach notowane były pojedyncze doniesienia na temat zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u ludzi, a z ognisk epidemicznych izolowano rodowody 1a i 1c (lub 5) WNV (Chancey i wsp. 2015).

W latach 70-tych XX wieku wirus Zachodniego Nilu zaczął rozprzestrzeniać się na terenie Azji Południowej i Południowo – Wschodniej. Dane z 1970 potwierdzają pierwszą izolację rodowodu 1a WNV w Malezji (Mackenzie i Williams, 2009). W badaniach serologicznych wykazano obecność wirusa Zachodniego Nilu w Tajlandii, Myanmarze, Półwyspie Malezyjskim oraz na Borneo i Filipinach (Kanamitsu i wsp., 1979; Mackenzie i Williams, 2009; Chancey i wsp. 2015).

Badanie seropozytywności przeprowadzone w 1980 roku u ludności endemicznej w prowincji Pendżab w Pakistanie wykazało obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu u aż 40% badanych osób. Jeszcze wyższe wartości uzyskano podczas badania surowicy koni z tej samej prowincji – seropozytywność wykazano u 55% badanych zwierząt (Khan i wsp., 2016).

W 1981 roku w Indiach odnotowano trzy śmiertelne przypadki zapalenia mózgu wywołanego przez WNV u 14-letniego pacjenta, 6-letniego chłopca i 4-letniej dziewczynki (George i wsp., 1984; Chancey i wsp. 2015). Z tkanki mózgowej pobranej od dzieci podczas badania sekcyjnego wyizolowano wirusa Zachodniego Nilu. W 1985 roku pierwszej izolacji rodowodu 1a WNV dokonano w Kambodży, a w 1988 wykazano seropozytywność u ptaków z chińskiej prowincji Junnan (Mackenzie i Williams, 2009; Chancey i wsp. 2015).

Analiza próbek pobieranych od pacjentów z Indii z gorączką o nieustalonej etiologii w latach 1992-2001 wykazała jednoznacznie obecność swoistych przeciwciał u 88 chorych. Oznaczało to, że wirus Zachodniego Nilu był stale obecny w tym kraju i powinien być zawsze uwzględniany w diagnostyce różnicowej u gorączkujących osób (Diamond, 2009).

W 1999 roku w Izraelu uśmiercono kilka tysięcy gęsi, gdyż obecność wirusa Zachodniego Nilu stwierdzono w stadach hodowanych dla celów handlowych (Murgue i wsp., 2001).

Doniesienie to poprzedzało największą epidemię u ludzi, podczas której odnotowano aż 417 potwierdzonych przypadków zakażenia, w tym neuroinfekcję u 170 osób i 35 zgonów (Lustig i wsp., 2016; Rahav i wsp., 2016). Zbadano także seropozytywność u koni w Izraelu, którą wykazano u 39% badanej populacji w roku 1999 oraz 66,1% trzy lata później (Aharonson-Raz i wsp., 2014).

W 2004 roku zaskakującego odkrycia epidemiologicznego dokonano w Indonezji. Z surowicy gorączkującego 15-letniego chłopca wyizolowano rodowód 2 WNV, który dotąd kojarzony był wyłącznie z zakażeniami w Afryce, głównie na Madagaskarze (Myint i wsp., 2014). Z tego samego roku pochodzi pierwsze doniesienie na temat izolacji wirusa u gorączkujących pacjentów z objawami neurologicznymi w regionie Sinciang w Chinach (Chancey i wsp. 2015).

W 2006 roku w stanie Assam w północno – wschodniej części Indii potwierdzono 13 przypadków zapalenia mózgu o etiologii WNV, w tym trzy zakończone zgonem u dzieci. W związku z tym, że jest to teren endemicznego występowania wirusa japońskiego zapalenia mózgu, to najczęściej właśnie ten patogen podejrzewany był o wywołanie neuroinfekcji o ciężkim przebiegu klinicznym. Po raz kolejny udokumentowano krzyżowanie się stref geograficznych występowania obu tych wirusów (Khan i wsp., 2011).

W latach 2008-2010 przeprowadzono bardzo szeroko zakrojone badania seropozytywności wśród ludności endemicznej Afganistanu. Wykazano ją aż u 30,4% badanej populacji, co wskazuje jednoznacznie na stałą transmisję WNV w tym regionie (Elyan i wsp., 2014). W podobnym czasie w Iranie analizie poddano 632 gorączkujących pacjentów, u których dodatkowo wystąpił epizod utraty przytomności. Wykazano jednak tylko dwa przypadki zakażenia wirusem Zachodniego Nilu (Chinikar i wsp., 2012).

Na przełomie 2009 i 2010 roku w stanie Tamilnadu w południowo – wschodnich Indiach zagadkowa infekcja wirusowa spowodowała zachorowania u blisko 2000 osób. Najwięcej przypadków obserwowano wśród ludności zamieszkującej tereny przybrzeżne. Zakażenie wirusem Zachodniego Nilu potwierdzono u 35 pacjentów. Dokonano jednocześnie izolacji wirusa i potwierdzono obecność rodowodu 1c lub 5 WNV. Dodatkowo, u kilkunastu osób rozpoznano zapalenie siatkówki – nietypową manifestację kliniczną zakażenia wirusem Zachodniego Nilu (Shukla i wsp., 2012).

W latach 2009-2010 w Nepalu przeanalizowano surowice chorych z objawami gorączkowymi. Zakażenie wirusem Zachodniego Nilu potwierdzono u 14 osób. Jednocześnie od dwóch pacjentów udało się wirusa wyizolować. Po analizie materiału genetycznego uznano, że za zakażenia odpowiadał rodowód 1a WNV. Jednak stwierdzono dodatkowo niewielki

fragment materiału genetycznego identycznego z rodowodem 2 wirusa. Możliwe jest współwystępowanie obu rodowodów wirusa Zachodniego Nilu na terenie Nepalu (Rutvisuttinunt i wsp., 2014).

W 2011 roku w Chinach potwierdzono dziewięć przypadków klasycznej gorączki Zachodniego Nilu oraz dwa przypadki zapalenia mózgu o tej samej etiologii. W krótkim czasie po wykryciu tej obserwacji wykonano badania populacji komarów z tego samego terenu. Z populacji komarów wyizolowano rodowód 1a WNV, identyczny z serotypem z Rosji z 1999 roku (Lu i wsp., 2014).

Również w 2011 roku miała miejsce epidemia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w stanie Kerała, na południu Indii. Potwierdzono 32 przypadki zapalenia mózgu i opon mózgowo – rdzeniowych o etiologii WNV. Badania techniką RT-PCR potwierdziły obecność rodowodu 1a WNV, serotyp Rosja 1999 (Anukumar i wsp., 2011).

Na przestrzeni lat 2011-2013 dokonano analizy seropozytywności w kierunku WNV u ptaków i ludzi w Malezji. Wykazano ją u 4,41% populacji badanych zwierząt oraz u 1,21% ludzi (Marlina i wsp., 2014).

Do 2013 roku na Sri Lance nie notowano przypadków zakażeń wirusem Zachodniego Nilu u ludzi, pomimo że obecność wirusa wykazano w dwóch sąsiadujących z wyspą stanach w Indiach – Kerała i Tamilnadu. W okresie wzrostu zachorowań na neuroinfekcje na Sri Lance potwierdzono zakażenie wirusem Zachodniego Nilu u trzech pacjentów – dwóch z objawami zapalenia mózgu i opon mózgowo – rdzeniowych oraz jednego z izolowanym zapaleniem mózgu (Lohitharajah i wsp., 2015).

W latach 2012-2013 przeprowadzono badania seropozytywności w populacji koni w dwóch prowincjach w Pakistanie – Pendżab w centralnej części kraju oraz Chajber Pasztunchwa na północy kraju. Do regionów tych każdego roku docierają ogromne stada ptaków migrujących z Syberii, Europy i Centralnej Azji, a seropozytywność u koni osiągnęła aż 55,5% (Zohaib i wsp., 2015). W roku 2012 podobne badania przeprowadzone zostały u koni z różnych regionów Jordanii. Obecność przeciwciał wykazano u 24,9% badanych zwierząt, a najwyższe wartości obserwowano u zwierząt z Doliny Jordanu oraz regionu Balka (Abutarbush i Al-Majali, 2014). W roku 2013 podobne badania u koni w Izraelu wykazały obecność swoistych przeciwciał przeciwko WNV u 85,5% badanych zwierząt (Aharonson-Raz i wsp., 2014).

W roku 2015 szerokie opracowania epidemiologiczne przeprowadzono u mieszkańców prowincji Sindh, a obecność swoistych przeciwciał wykazano u 6,6% badanej populacji (Khan i wsp., 2016). Dane z 2016 roku dotyczące badań przeprowadzonych u ludności endemicznej Iraku jednoznacznie stwierdzają obecność swoistych przeciwciał przeciwko WNV u 11,6%

badanych osób (Barakat i wsp., 2016). Na przestrzeni lat 2000-2014 rokrocznie kolekcjonowano w Izraelu populacje komarów, a późniejsza ich analiza wykazała obecność na terenie kraju rodowodu 1a oraz 2 WNV, a ponadto bardzo wielu różnorodnych genotypów wirusa (Lustig i wsp., 2016).

1.5.4. Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Ameryce Północnej

W sierpniu 1999 roku odnotowano zwiększoną liczbę przypadków zapalenia mózgu w mieście Queens, w Stanie Nowy Jork. Stwierdzono wtedy 59 przypadków neuroinfekcji, z czego dziewięć zakończonych zgonem. Po przeprowadzeniu wielokierunkowych badań ustalono, że czynnikiem etiologicznym był wirus Zachodniego Nilu. Genotyp odpowiedzialny za wywołanie tej epidemii – WNV_{NY99} należy do rodowodu 1a WNV. Późniejsze badania wykazały jego pokrewieństwo z genotypem, który odpowiedzialny był za zakażenia w Tunezji w 1997 roku oraz w Izraelu w 1998 roku (Nash i wsp., 1999; Gray i Webb, 2014; Chancey i wsp., 2015). Analiza seropozytywności wśród ludności zamieszkującej tereny w obrębie miasta Queens wykazała, że blisko 2,6% populacji mogło przebyć tę infekcję (Chancey i wsp., 2015).

W lecie 2000 roku wirus Zachodniego Nilu wywołał kolejne zakażenia u ludzi w stanach New Jersey oraz Connecticut (USA). W opracowaniu tym informowano o 19 przypadkach z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego i dwóch zgonach (Chancey i wsp., 2015). W 2001 roku wirus zdobywał kolejne terytoria i obecny był już w dziesięciu stanach USA, w których łącznie zgłoszono 64 przypadki neuroinfekcji oraz dziewięć zgonów. W roku 2002 zakażenie wirusem zgłaszano już w 40 stanach u 4.156 osób, z czego niemal 3 tysiące przypadków zapalenia mózgu lub opon mózgowo – rdzeniowych i 284 zgony. W roku kolejnym liczba potwierdzonych przypadków zakażenia WNV wyniosła niemal 10 tys., jednak neuroinfekcje utrzymywały się na podobnym poziomie – poniżej 3 tys. zachorowań.

W 2004 roku wirus obecny był już we wszystkich stanach kontynentalnych USA, a Stany Zjednoczone Ameryki Północnej uznano za teren endemicznego jego występowania. Rok 2006 to kolejna rozległa epidemia zakażeń, podczas której raportowano o 1,5 tys. przypadków neuroinfekcji i 177 zgonach. W roku tym za wywołanie epidemii odpowiedzialny był nowy genotyp wirusa – WN02, który zastąpił dotychczas notowany WNV_{NY99} (Chancey i wsp., 2015). W latach 2008-2011 obserwowano stałe zmniejszanie się liczby przypadków. Rok 2012 przyniósł jednak kolejną epidemię, gdzie przypadków przebiegających z zajęciem

ośrodkowego układu nerwowego zgłoszono niemal 3 tys., a śmiertelność kształtowała się na poziomie 10%. Większość obserwowanych przypadków zanotowano w stanie Teksas (Murray i wsp., 2013; Chancey i wsp., 2015). W latach 2013-2014 liczba przypadków neuroinfekcji spadła o połowę.

W latach 1999-2013 ogólnie zarejestrowano niemal 40 tysięcy zakażeń wirusem Zachodniego Nilu u ludzi, z czego około 17,5 tys. były to przypadki zakażenia centralnego układu nerwowego skutkujące 10% śmiertelnością. Dane szacunkowe poparte badaniami epidemiologicznymi każą sądzić, że na każdy przypadek neuroinfekcji wywołanej przez WNV przypada około 150-350 zakażeń bezobjawowych lub gorączki Zachodniego Nilu. Oznacza to, że w USA w okresie 14 lat zakażeniu WNV mogło ulec od 2,6 do 6,1 mln osób (Chancey i wsp., 2015). W latach 1999-2006 odnotowano także blisko 25 tys. przypadków zachorowań u koni (Diamond, 2009).

W 2001 roku wirus Zachodniego Nilu po raz pierwszy został wyizolowany w Kanadzie u 128 martwych ptaków i komarów w prowincji Ontario. Pierwsze przypadki u ludzi odnotowano w 2002 roku – łącznie 414 zakażeń w prowincjach Ontario i Quebec. W 2003 roku wirus rozszerzał swoją strefę występowania, która obejmowała już nie tylko prowincje wschodnie, ale także centralne i zachodnie (Manitoba, Saskatchewan i Alberta). Do Kolumbii Zachodniej wirus dotarł jednak dopiero w 2009 roku (Chancey i wsp., 2015). W 2012 roku odnotowano duży wzrost liczby przypadków zachorowań, a zakażenie potwierdzono u 428 osób (Lindsey i wsp., 2013).

W latach 2002-2012 w Kanadzie zgłoszono łącznie 5.339 zakażeń wirusem Zachodniego Nilu, w tym 980 przypadków neurologicznych i 73 zgony. Po epidemii zakażeń w 2003 roku przeprowadzono badania seropozytywności w Ontario i Prowincjach Preriowych. Wykazały one, że w południowej części prowincji Ontario obecność swoistych przeciwciał w klasie IgG potwierdzono u 3,1% populacji badanej. W prowincji Saskatchewan, gdzie w trakcie epidemii odnotowano najwięcej przypadków, seropozytywność wyniosła 10% (Kulkarni i wsp., 2015).

1.5.5. Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Ameryce Środkowej i Południowej

Pierwsze doniesienia na temat obecności wirusa Zachodniego Nilu na obszarze Ameryki Środkowej pochodzą z 2001 roku z Kajmanów (wyspa Cayman Brac). U jednego z mieszkańców, który nigdy nie opuścił terytorium wyspy stwierdzono przypadek

neuroinfekcji, której czynnikiem etiologicznym był WNV (Komar i Clark, 2006). W 2002 roku, seropozytywność wykazano u ptaków i koni między innymi na Jamajce, Gwadelupie, Dominikanie i w Meksyku (Quirin i wsp., 2004; Komar i Clark, 2006; Elizondo-Quiroga i wsp., 2013). W 2003 roku obecność wirusa stwierdzono także w Belize, Gwatemali i Salwadorze, gdzie seropozytywność wykazano u niemalże 25% koni hodowlanych (Komar i Clark, 2006; Elizondo-Quiroga i wsp., 2013; Chancey i wsp., 2015). W tym samym roku wirus Zachodniego Nilu był czynnikiem etiologicznym trzech przypadków zapalenia mózgu u ludności endemicznej na Kubie i jednego na Bahamach (Komar i Clark, 2006; Pupo i wsp., 2006). W 2004 roku przeprowadzone zostały badania potwierdzające występowanie WNV u ptaków migrujących i osiadłych w Puerto Rico, a po przejściu huraganu Jeanne na Haiti stwierdzono dwa przypadki zakażenia wirusem u ludzi (Komar i Clark, 2006; Elizondo-Quiroga i wsp., 2013). W tym samym roku wirus pojawił się także na obszarze Trynidadu i Tobago (u ptaków i koni) oraz Kostaryki (u koni) (Elizondo-Quiroga i wsp., 2013; Chancey i wsp., 2015). Dodatkowo wykazano jego obecność u komarów i gorączkującej kobiety z miasta Etchojoa w północnym Meksyku (Elizondo-Quiroga i wsp., 2005).

W roku 2004 wirus Zachodniego Nilu pojawił się na terenie Ameryki Południowej. Pierwsze doniesienie dotyczy dwunastu seropozytywnych koni pochodzących z północnej części Kolumbii (Mattar i wsp., 2005). W tym samym roku potwierdzono także obecność wirusa u ptaków i koni w Wenezueli (Bosch i wsp., 2007). W 2005 roku wykryto obecność przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu u ptaków, a w 2006 roku spowodował on śmierć trzech koni w Argentynie (Morales i wsp., 2006; Diaz i wsp., 2008). W grudniu 2006 roku w Argentynie odnotowano także 4 przypadki zakażenia wirusem u ludzi (Chancey i wsp., 2015).

W 2008 roku przeprowadzono badania u ptaków w Kolumbii. Wykazały one obecność swoistych przeciwciał przeciwko WNV u 62% badanych flamingów amerykańskich (Osorio i wsp., 2012).

W Brazylii obecność wirusa Zachodniego Nilu potwierdzono w 2009 roku u koni z równiny Pantanal (Pauvalid-Correa i wsp., 2014). Również w 2009 roku w Meksyku odnotowano śmiertelny przypadek zakażenia wirusem u 40-letniego mężczyzny, u którego choroba przez kilkanaście dni miała przebieg łagodny, a następnie doszło do zaostrzenia przebiegu klinicznego, rozwoju objawów neurologicznych, śpiączki i zgonu (Rios-Ibarra i wsp., 2010). W 2011 roku w Boliwii analizie poddano populację 160 koni. Przeciwciała przeciwko WNV występowały u 31,8% analizowanych zwierząt (Mazzei i wsp., 2013). Pierwszy potwierdzony

przypadek zakażenia WNV u ludzi w Brazylii odnotowano w 2014 roku u rolnika z rozpoznaniem zapalenia mózgu i porażeniem wiotkim (Vieira i wsp., 2015).

1.5.6. Epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu w Australii i Oceanii

Wirus Kunjin (WNV_{KUN}), czyli rodowód 1b wirusa Zachodniego Nilu występujący na terenie Australii i Oceanii po raz pierwszy został wyizolowany od komarów w 1960 roku w pobliżu miasta Kowanyama na północy stanu Queensland. Swoją nazwę zawdzięcza jednemu z aborygeńskich plemion zamieszkujących na tym terenie. Początkowo wirus Kunjin uznany został za zupełnie nowy patogen i zaliczony do grupy B arbowirusów. Późniejsze badania wykazały jednak jego pokrewieństwo z flawiwirusami, a w konsekwencji z WNV (Mackenzie i wsp., 2002). W 1972 roku na podstawie badań serologicznych potwierdzono występowanie tego rodowodu WNV także na terenie Papui – Nowej Gwinei (Kanamitsu i wsp., 1979).

W latach 70-tych i 80-tych XX wieku przeprowadzono szereg badań epidemiologicznych na populacjach komarów. Potwierdziły one jednoznacznie rozprzestrzenianie się WNV_{KUN} w stanach Australia Zachodnia, Terytorium Północne oraz Queensland. W kolejnych latach, szczególnie po ulewnych deszczach, obserwowano migrację ptaków wodnych na nowe tereny w centralnej części kraju. Jednocześnie wzrastała liczba przypadków izolowania wirusa z populacji komarów (Mackenzie i wsp., 2002).

W 1974 roku na terenie Nowej Południowej Walii w Dolinie Murray miała miejsce duża epidemia zachorowań na zapalenie mózgu u ludzi. Za główny czynnik etiologiczny uznano wtedy wirusa zapalenia mózgu doliny Murray, jednak późniejsza analiza serologiczna potwierdziła także aktywność wirusa Kunjin (Mackenzie i wsp., 2002).

Po ulewnym lecie w roku 1999/2000 odnotowano kilka zakażeń spowodowanych przez WNV_{KUN} u ludzi w zachodniej i centralnej części Australii. Kolejne deszczowe lato skutkowało rozszerzeniem strefy występowania wirusa, a jego seropozytywność wykazano na terenie Nowej Południowej Walii i stanu Wiktorii (Mackenzie i wsp., 2002).

W roku 2011 miała miejsce największa epidemia zachorowań na zapalenie mózgu u koni w Australii. Szacuje się, że do zakażenia mogło dojść u nawet 1 tys. zwierząt w stanie Nowa Południowa Walia na południu kraju. Śmiertelność w czasie epidemii wynosiła 10 – 15%. Obfite opady deszczu w 2011 roku spowodowały rozległe powodzie na obszarach śródlądowych. Stworzyło to idealne warunki dla rozwoju komarów, które sześciokrotnie zwiększyły swoją populację na tym obszarze. Za zachorowania odpowiedzialny był nowy genotyp WNV_{NSW2011}, blisko spokrewniony z WNV_{KUN}, jednak znacznie bardziej od niego

neuroinwazyjny. W czasie trwania epidemii nie odnotowano przypadków zakażeń wśród ludzi (Frost i wsp., 2012). Genotyp ten nosił zmiany w dwóch miejscach łańcucha aminokwasowego wcześniej stwierdzone w genotypie WNV_{NY99}, a które związane były ze zwiększoną jego wirulentnością (Mackenzie i wsp., 2002).

W latach 2011-2013 przeprowadzono badania u honorowych dawców krwi z Polinezji Francuskiej. Przeciwciała przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu obecne były u 1,5% badanych (Aubry i wsp., 2015).

1.6. Zasady laboratoryjnego rozpoznawania zakażeń wywoływanych przez wirusa Zachodniego Nilu

Diagnostyka laboratoryjna zakażeń wywołanych przez wirusa Zachodniego Nilu różni się znacząco w kolejnych etapach trwania zakażenia u człowieka. Wiremia we krwi obwodowej pojawia się około 3 – 4 dnia od zakażenia pierwotnego i tylko w tym czasie wykrywalny jest materiał genetyczny wirusa – kwas rybonukleinowy (RNA). Głównym narzędziem diagnostycznym w tej fazie choroby są techniki biologii molekularnej, szczególnie badania techniką reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą (RT-PCR, ang. *Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction*). Metody molekularne stosowane są także rutynowo u dawców przeszczepów tkankowych oraz honorowych dawców krwi w krajach, w których transmisja wirusa Zachodniego Nilu jest stała. Materiał genetyczny wirusa może być wykrywany jednak tylko przez około 8 – 10 dni po rozpoczęciu infekcji. U 80% chorych oznacza to, że w momencie pojawienia się objawów klinicznych zakażenia RNA wirusa Zachodniego Nilu nie jest już możliwy do wykrycia (Barzon i wsp., 2015).

W kolejnych fazach infekcji jedynymi możliwymi do zastosowania metodami diagnostycznymi pozostają metody immunodiagnostyczne, szczególnie metody immunoenzymatyczne. Organizm ludzki rozpoczyna produkcję przeciwciał w klasie IgM przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu około 2 – 4 dni od pojawienia się wiremii we krwi obwodowej. Serokonwersja w klasie IgG występuje około 5 – 8 dni po rozpoczęciu wiremii (Busch i wsp., 2008). Przeciwciała klasy IgM mogą krążyć we krwi obwodowej osoby zakażonej WNV nawet rok po przebyciu choroby. Najdłuższy okres, w którym pozostawały one wykrywalne wynosił 500 dni. Jest to bardzo ważne w różnicowaniu zakażenia aktywnego i przebytego w przeszłości, ponieważ takie „przetrwale” przeciwciała IgM mogą imitować świeży okres zakażenia (Papa i wsp., 2011).

Wykrycie swoistych przeciwciał w klasie IgM w płynie mózgowo – rdzeniowym uznaje się za test potwierdzenia w przypadkach neuroinfekcji wywoływanych przez wirusa Zachodniego Nilu. Przeciwciała tej klasy nie przenikają przez barierę krew – mózg, a ich obecność świadczy o tym, że są produkowane lokalnie przez przedostające się do płynu limfocyty. Na świecie dostępnych jest kilka zestawów odczynnikowych do oznaczeń obecności swoistych przeciwciał przeciwko WNV metodą immunoenzymatyczną ELISA. Większość skonstruowana jest w oparciu o antygeny w postaci rekombinowanego białka wirusowego, cząstek wirusopodobnych oraz lizatów zainfekowanych komórek (Barzon i wsp., 2015). Notowano jednak, że obecność w surowicy w wysokim stężeniu czynnika reumatoidalnego czy przeciwciał heterofilnych może interferować i powodować uzyskiwanie wyników fałszywie dodatnich w testach immunoenzymatycznych. W płynie mózgowo-rdzeniowym pacjenta z objawami neuroinfekcji o etiologii WNV stwierdza się podwyższone stężenie białka, a w osadzie obecność cytozy z przewagą granulocytów obojętnochłonnych (Colpitts, 2016).

Po wykazaniu obecności swoistych przeciwciał w surowicy krwi obwodowej pacjenta możliwe jest zastosowanie testu drugiego stopnia, czyli metody neutralizacji. Procedura ta polega na obserwacji interakcji pomiędzy przeciwciałami obecnymi w surowicy osoby badanej oraz antygenem w postaci szczepu wirusa Zachodniego Nilu. Obecne w surowicy pacjenta przeciwciała przyczepiają się do wirusa i blokują jego wnikanie do komórek. Efektywność metody neutralizacji może być niska szczególnie we wczesnej fazie infekcji, gdzie neutralizujące przeciwciała nie zostały jeszcze wyprodukowane przez organizm żywiciela (Barzon i wsp., 2015; Colpitts, 2016).

W Polsce nie wykonuje się rutynowo badań laboratoryjnych w kierunku obecności wirusa Zachodniego Nilu, jego materiału genetycznego ani swoistych przeciwciał przeciwwirusowych we krwi obwodowej i płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z objawami zapalenia mózgu i/lub opon mózgowo-rdzeniowych o nieustalonej etiologii. Zakażenie wirusem Zachodniego Nilu jest wyjątkowo rzadko uwzględniane w diagnostyce różnicowej stanów gorączkowych i objawów neurologicznych w naszym kraju. W rozprawie podjęto się po raz pierwszy w Polsce próby określenia częstości występowania swoistych przeciwciał IgM i IgG przeciwko WNV w znaczącej próbie populacji pacjentów gorączkujących po powrocie z krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej oraz u mieszkańców Polski z zawodowych grup ryzyka pochodzących z terenów leśnych.

1.7. Inne arbowirusy o istotnym znaczeniu klinicznym dla osób podróżujących

Podczas odbywania międzynarodowych wyjazdów do krajów o odmiennych warunkach klimatyczno-środowiskowych i sanitarno-higienicznych, osoby podróżujące narażone są na wystąpienie wielu wirusowych chorób transmisyjnych przebiegających z gorączką, które wymagają diagnostyki różnicowej z zakażeniem WNV:

- **Wirus dengi (DENV)**, rodzina *Flaviviridae*, rodzaj: *Flavivirus*, serokompleks wirusa dengi, serotypy DENV1 – DENV4; wektor: komary *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*; rezerwuar: człowiek, inne ssaki naczelne; rozprzestrzenienie geograficzne: Azja, Afryka, Ameryka Północna, Ameryka Południowa; zapadalność wśród ludności endemicznej: około 390 mln przypadków rocznie; objawy: gorączka, wysypka, bóle stawów, rzadziej zespół krwotoczny; okres inkubacji: 4 – 7 dni (3 – 14 dni); zagrożenie dla osób podróżujących: bardzo wysokie, wykrywany u 3 – 8% podróżnych z gorączką po powrocie z wyjazdu; szczepienie ochronne: brak (Cleton i wsp., 2012; Polwiang, 2016; Shi i wsp., 2016);
- **Wirus japońskiego zapalenia mózgu (JEV)**; rodzina: *Flaviviridae*, rodzaj: *Flavivirus*, serokompleks wirusa japońskiego zapalenia mózgu, serotyp JEV1; wektor: komary *Culex tritaeniorhynchus*; rezerwuar: ptaki czaplowate, trzoda chlewna; rozprzestrzenienie geograficzne: Azja Wschodnia, Azja Południowo – Wschodnia, Oceania; zapadalność wśród ludności endemicznej: około 50 tys. zachorowań rocznie; objawy: gorączka, objawy neurologiczne; okres inkubacji: 5 – 14 dni; zagrożenie dla osób podróżujących: niskie, 1 przypadek na milion osób podróżujących dla pobytów krótkoterminowych oraz 5 – 50 przypadków/100 tys. osób dla pobytów długoterminowych; szczepienie ochronne: dostępne i zalecane w przypadkach wysokiego ryzyka dla wyjazdów długoterminowych (Cleton i wsp., 2012; Pavli i Maltezou, 2015; Wang i Liang, 2015);
- **Wirus zapalenia mózgu Saint Louis (SLEV)**; wektor: komary *Culex* spp.; rezerwuar: ptaki; rozprzestrzenienie geograficzne: Ameryka Północna, Ameryka Południowa; seropozytywność wśród ludności endemicznej: wysoka, 3 – 13%; objawy: gorączka, objawy neurologiczne; okres inkubacji: 2 – 21 dni; zagrożenie dla osób podróżujących: bardzo niskie; szczepienie ochronne: brak (Cleton i wsp., 2012; Diaz i wsp., 2015);
- **Wirus zapalenia mózgu doliny Murray (MVEV)**; wektor: komary *Culex annulirostris*; rezerwuar: ptaki czaplowate; rozprzestrzenienie geograficzne: Australia, Oceania; seropozytywność wśród ludności endemicznej: wysoka, do 40%; objawy: gorączka, objawy

neurologiczne; okres inkubacji: 1 – 28 dni; zagrożenie dla osób podróżujących: bardzo niskie; szczepienie ochronne: brak (Cleton i wsp., 2012; Selvey i wsp., 2014);

- **Wirus kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV)**; Rodzina: *Flaviviridae*, rodzaj: *Flavivirus*, serokompleks wirusów odkleszczowych, podtypy: europejski, syberyjski, dalekowschodni; wektor: kleszcze *Ixodes ricinus*, *Ixodes persulcatus*; rezerwuar: małe ssaki; rozprzestrzenienie geograficzne: Europa, Syberia, wschodnia Rosja, południowe Chiny, Japonia, Korea; zapadalność wśród ludności endemicznej: 1 przypadek na 10 tys. osób na miesiąc; objawy: gorączka, objawy neurologiczne; okres inkubacji: 7 – 14 dni; zagrożenie dla osób podróżujących: wysokie; szczepienie ochronne: dostępne, zalecane na obszarach endemicznych dla osób z grup ryzyka (Mansfield i wsp., 2009; Cleton i wsp., 2012; Kunze, 2016);
- **Wirus gorączki krwotocznej Alkhurma (AHFV)**; Rodzina: *Flaviviridae*, rodzaj: *Flavivirus*, serokompleks wirusów odkleszczowych; wektor: kleszcze *Ornithodoros savignii*, *Hyalomma dromedarii*; rezerwuar: małe ssaki; rozprzestrzenienie geograficzne: Bliski Wschód; seropozytywność wśród ludności endemicznej: niska, 1,3%; objawy: gorączka, bóle głowy, bóle stawów, bóle mięśniowe, złe samopoczucie, utrata apetytu, wymioty, cechy skazy krwotocznej, objawy neurologiczne; okres inkubacji: 3 – 12 dni; zagrożenie dla osób podróżujących: niskie, wzrasta podczas rytualnej pielgrzymki muzułmanów do Mekki (Hajj); szczepienie ochronne: brak (Cleton i wsp., 2012; Rolin i wsp., 2013);
- **Wirus żółtej gorączki (YFV)**; rodzina: *Flaviviridae*, rodzaj: *Flavivirus*, serokompleks wirusa żółtej gorączki; wektor: komary *Aedes aegypti*; rezerwuar: człowiek, ssaki naczelne; rozprzestrzenienie geograficzne: Afryka Subsaharyjska, Ameryka Południowa; zapadalność wśród ludności endemicznej: 200 tys. przypadków rocznie; objawy: gorączka, objawy neurologiczne; okres inkubacji: 3 – 6 dni; zagrożenie dla osób podróżujących: bardzo wysokie, możliwe zakażenie u jednej osoby na 280 w Afryce oraz u jednej na 2800 w Ameryce Południowej; szczepienie ochronne: dostępne, obowiązkowe w międzynarodowym ruchu turystycznym na obszarach endemicznego występowania wirusa i/lub wektora (Cleton i wsp., 2012; Monath i Vasconcelos, 2015);
- **Wirus Zika (ZIKV)**; rodzina: *Flaviviridae*, rodzaj: *Flavivirus*, serokompleks wirusa Spondweni; wektor: komary *Aedes* spp.; rezerwuar: ssaki naczelne; rozprzestrzenienie geograficzne: Afryka, Azja, Ameryka Południowa, na obszarach nie-endemicznych możliwość dalszego szerzenia się drogą krwiopochodną, płciową oraz przezłożyskową; seropozytywność wśród ludności endemicznej: wysoka, 11 - 78%; objawy: gorączka,

wysypka, bóle stawów, bóle głowy, zapalenie spojówek, zespół Guillain-Barré, istotne ryzyko transmisji przezłożyskowej z małogłowiec u płodu; okres inkubacji: 2 – 6 dni; zagrożenie dla osób podróżujących: wysokie, zwłaszcza kobiet ciężarnych; szczepienie ochronne: brak (Zammarchi i wsp., 2015);

- **Wirus gorączki krwotocznej krymsko – kongijskiej (CCHF)**, rodzina: *Bunyaviridae*, rodzaj: *Nairovirus*, serokompleks wirusa gorączki krwotocznej krymsko – kongijskiej; wektor: kleszcze *Hyalomma* spp.; rezerwuar: zwierzęta domowe i dzikie, ptaki, małe ssaki; rozprzestrzenienie geograficzne: Europa Wschodnia i Południowo – Wschodnia, Afryka, Azja; seropozytywność wśród ludności endemicznej: wysoka, 5 – 13%; objawy: gorączka, bóle mięśni, bóle głowy, nudności, wymioty, biegunka, ból gałek ocznych, masywne podbiegnięcia krwawe, krwotoki z nosa i z miejsc wkłucia; okres inkubacji: 2 – 9 dni; zagrożenie dla osób podróżujących: wysokie; szczepienie ochronne: brak; podlega obowiązkowi kwarantanny (Isaacson, 2001; Leroy i wsp., 2008; Cleton i wsp., 2012; Messina i wsp., 2015);
- **Wirus toskański (TOSV)**, rodzina: *Bunyaviridae*, rodzaj: *Phlebovirus*; wektor: muszki piaskowe z rodzaju *Phlebotomus* spp.; rezerwuar: człowiek, nietoperze; rozprzestrzenienie geograficzne: kraje basenu Morza Śródziemnego, Afryka Północna; seropozytywność wśród ludności endemicznej: wysoka, 5 - 51%; objawy: gorączka, bóle głowy, nudności, wymioty, sztywność karku, dodatni objaw Kerniga; okres inkubacji: 3 – 14 dni; zagrożenie dla osób podróżujących: wysokie; szczepienie ochronne: brak (Cleton i wsp., 2012; Dahmani i wsp., 2016);
- **Wirus gorączki doliny Riftu (RVFV)**, rodzina: *Bunyaviridae*, rodzaj: *Phlebovirus*; wektor: komary *Aedes* spp.; rezerwuar: gryzoni, bydło, nietoperze; rozprzestrzenienie geograficzne: Afryka, Azja Zachodnia; seropozytywność wśród ludności endemicznej: wysoka, 2 - 14%; objawy: gorączka, bóle stawów i mięśni, bóle głowy, światłowstręt; okres inkubacji: 1 – 7 dni; zagrożenie dla osób podróżujących: średnie; szczepienie ochronne: brak (Memish i wsp., 2014; Zammarchi i wsp., 2015);
- **Wirus Chikungunya (CHIKV)**, rodzina: *Togaviridae*, rodzaj: *Alphavirus*, serokompleks wirusa lasu Semliki; wektor: komary *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*; rezerwuar: człowiek, inne ssaki naczelne; rozprzestrzenienie geograficzne: Azja, Afryka, Ameryka Południowa; seropozytywność wśród ludności endemicznej: wysoka, do 75%; objawy: gorączka, bóle głowy, wysypka, bóle stawów, zapalenie spojówek, rzadziej zespół krwotoczny; okres inkubacji: 3 – 7 dni (1 – 12 dni); zagrożenie dla osób podróżujących: bardzo wysokie; szczepienie ochronne: brak (Cleton i wsp., 2012; Napoli i wsp., 2012);

- **Wirus Mayaro (MAYV)**, rodzina: *Togaviridae*, rodzaj: *Alphavirus*; wektor: komary *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*; rezerwuar: człowiek, inne ssaki naczelne, ptaki; rozprzestrzenienie geograficzne: Ameryka Południowa; seropozytywność wśród ludności endemicznej: wysoka, 5 – 60%; objawy: gorączka, bóle głowy, wysypka, bóle stawów, zapalenie spojówek, rzadziej zespół krwotoczny; okres inkubacji: 6 – 12 dni (3 – 12 dni); zagrożenie dla osób podróżujących: niskie; szczepienie ochronne: brak (Cleton i wsp., 2012; Auguste i wsp., 2015);
- **Wirus Ross River (RRV)**, rodzina: *Togaviridae*, rodzaj: *Alphavirus*; wektor: komary *Aedes* spp., *Culex* spp.; rezerwuar: ssaki, torbacze; rozprzestrzenienie geograficzne: Australia, Oceania; seropozytywność wśród ludności endemicznej: wysoka, 8 – 65%, zapadalność: 5.000 przypadków rocznie; objawy: gorączka, bóle stawów, ogólne osłabienie, wysypka skórna; okres inkubacji: 7 – 9 dni (3 – 21 dni); zagrożenie dla osób podróżujących: wysokie, 100 przypadków rocznie po powrocie z Nowej Zelandii; szczepienie ochronne: brak (Cleton i wsp., 2012; Claflin i Webb, 2015).

2. CELE PRACY

Wielokierunkowe badania epidemiologiczne, kliniczne oraz immunodiagnostyczne w kierunku wirusa Zachodniego Nilu u osób podróżujących do obszarów odmiennej strefy geograficznej, klimatyczno - środowiskowej, kulturowej, sanitarno - higienicznej i ekonomicznej o zwiększonej podatności na zakażenie oraz wśród mieszkańców Polski nigdy niewyjeżdżających poza terytorium kraju przeprowadzono celem:

- 1. Określenia czynników ryzyka sprzyjających zakażeniu wirusem Zachodniego Nilu u osób podróżujących do krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej;**
- 2. Oznaczenia częstości występowania swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu u pacjentów powracających do Polski z obszarów odmiennej strefy klimatyczno-środowiskowej i sanitarno-higienicznej;**
- 3. Oceny występowania objawów klinicznych gorączki Zachodniego Nilu u pacjentów hospitalizowanych w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu po powrocie do kraju z obszarów endemicznego występowania choroby;**
- 4. Analizy częstości występowania swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu wśród zawodowych grup ryzyka narażonych na potencjalne występowanie autochtonicznego zakażenia w Polsce;**
- 5. Wykazania możliwości rodzimej transmisji wirusa Zachodniego Nilu wśród polskiej populacji u osób niewyjeżdżających poza granice kraju.**

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Miejsce i czas przeprowadzenia badań

Badania epidemiologiczne oraz kliniczne przeprowadzono w Katedrze i Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego, znajdującej się przy ulicy Przybyszewskiego 49 w Poznaniu (kierownik Katedry: Prof. dr hab. med. Jerzy Stefaniak). Laboratoryjne badania immunodiagnostyczne przeprowadzono w Pracowni Parazytologicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, należącej do Katedry Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych przy ulicy Przybyszewskiego 49 w Poznaniu (kierownik: Dr hab. med. Małgorzata Paul). Badania prowadzono w okresie od kwietnia 2015 roku do sierpnia 2016 roku.

3.2. Pacjenci zakwalifikowani do badań epidemiologicznych, klinicznych oraz immunodiagnostycznych w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu

3.2.1. Pacjenci zakwalifikowani do grupy badanej

Badania kliniczne, epidemiologiczne oraz laboratoryjne w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu przeprowadzono w próbie populacji 88 osób dorosłych w wieku od 25 do 80 lat (średnia wieku $44,2 \pm 12,8$ lat). Pacjenci hospitalizowani byli w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu lub konsultowani w Centralnej Izbie Przyjęć Szpitala Klinicznego im. Heliodora Święcickiego w Poznaniu z powodu pojawienia się niepokojących objawów chorobowych (gorączka, stany podgorączkowe, bóle głowy, bóle mięśni, bóle stawów, dreszcze, osłabienie ogólne, wysypka skórna) obserwowanych w trakcie podróży międzynarodowej lub wkrótce po powrocie do kraju. Grupę badaną stanowiły 42 kobiety w wieku od 26 do 73 lat (średnia wieku $43,2 \pm 13,2$ lat) oraz 46 mężczyzn w wieku od 25 do 80 lat (średnia wieku $45,1 \pm 12,5$ lat). Pacjenci zostali dobrani jednolicie pod względem płci i wieku. Do grupy badanej należało 87 Polaków oraz jeden Nigeryjczyk (lat 33) pracujący na stałe w Polsce, który trzy dni przed hospitalizacją powrócił z podróży do ojczystego kraju, gdzie odwiedzał swoich krewnych i znajomych. Istotną podgrupę pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej stanowili

misjonarze, wolontariusze i pracownicy akcji humanitarnych, hospitalizowani celem wykluczenia pasożytniczych i infekcyjnych chorób tropikalnych oraz przeprowadzenia rutynowych badań kontrolnych po powrocie do kraju z ośrodków misyjnych.

U każdego z gorączkujących pacjentów powracających z terenów endemicznego występowania malarii wykonywano dodatkowo obowiązkowe badanie mikroskopowe cienkiego rozmazu i grubej kropli krwi obwodowej, celem wykluczenia tej niezwykle niebezpiecznej i bezpośrednio zagrażającej życiu choroby egzotycznej. Diagnostyka różnicowa obejmowała także wykonywanie oznaczenia poziomu swoistych przeciwciał w kierunku wirusa dengi oraz wirusowego zapalenia wątroby typu A.

3.2.2. Pacjenci zakwalifikowani do grupy kontrolnej

Grupę kontrolną stanowiło wybranych 50 pacjentów w wieku od 21 do 75 lat (średnia wieku $50,2 \pm 14,8$ lat), nigdy niewyjeżdżających poza granice kraju oraz szczególnie narażonych na ukłucia komarów. Do grupy zakwalifikowano zarówno osoby wykonujące czynności zawodowe związane ze zwiększoną ekspozycją na ukłucia owadów (leśnicy, rolnicy, drwale, pracownicy tartaków, myśliwi, architekci, inżynierowie, geodeci, budowniczowie, archeolodzy, geolodzy, hodowcy ryb, ornitologowie, rybacy, weterynarze, agrotechnicy, właściciele zwierząt, przewodnicy wycieczek), jak i osoby spędzające czas wolny oraz uprawiające sport rekreacyjnie lub wyczynowo na otwartej przestrzeni (właściciele ogródków działkowych, zbieracze grzybów i jagód, osoby odbywające wycieczki turystyczne do lasu, nad rzekę lub jezioro, uprawiające jogging w parku, kajakarstwo, wędkarstwo, kolarstwo, pływanie w otwartych zbiornikach wodnych, zbieranie chrustu, fotografowanie przyrody). Grupę kontrolną stanowiło 20 kobiet w wieku od 21 do 72 lat (średnia wieku $46,5 \pm 15,5$ lat) oraz 30 mężczyzn w wieku od 24 do 75 lat (średnia wieku $52,5 \pm 14,0$ lat).

Pacjenci zakwalifikowani do grupy kontrolnej pochodzili z różnych obszarów Polski: głównie województwa wielkopolskiego ($n = 29$), a także podkarpackiego ($n = 5$), zachodniopomorskiego ($n=3$), podlaskiego ($n=2$), warmińsko-mazurskiego ($n = 2$), lubuskiego ($n=2$), rzadziej innych regionów kraju ($n=7$).

Przyczyną ich hospitalizacji w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych w Poznaniu było najczęściej leczenie lub diagnostyka różnicowa w kierunku chorób pasożytniczych lub zakaźnych występujących w Polsce (borelioza z Lyme, bąblowica jednojamowa, bąblowica wielojamowa, inwazje pasożytnicze przewodu pokarmowego, toksokaroza, toksoplazmoza).

3.3. Analiza epidemiologiczna czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu

3.3.1. Ankieta epidemiologiczna dla pacjentów podróżujących za granicę

Szczegółowy wywiad epidemiologiczny przeprowadzano u każdej osoby zakwalifikowanej do grupy badanej w oparciu o samodzielnie opracowany po raz pierwszy kwestionariusz pytań dla pacjentów podróżujących za granicę (załącznik nr 1). Zawarte w ankiecie epidemiologicznej pytania dotyczyły próby określenia głównych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu oraz stopnia ekspozycji na ukłucia komarów podczas zagranicznych wyjazdów do krajów strefy tropikalnej lub śródziemnomorskiej. Zebrane na jej podstawie informacje uwzględniały kierunek podróży, czas wyjazdu (pora roku) oraz długość i miejsce pobytu (obszary wiejskie, miasteczka, aglomeracje miejskie, dzielnice biedoty). Pytania epidemiologiczne dotyczyły także środowiska geograficzno – przyrodniczego, w którym przebywał pacjent (dżungla tropikalna, sawanna, busz, pustynie lub półpustynie, wybrzeże lub plaża, ocean lub morze, góry, rzeka, pastwiska lub łąki, tereny podmokłe lub bagniste, jezioro lub staw, wodospad lub strumień górski). Każdy z pacjentów określał jednocześnie cel wyjazdu zagranicznego (rekreacyjno – wypoczynkowy, służbowy, dyplomatyczny, misyjny lub humanitarny, zawody sportowe lub obóz treningowy, służba wojskowa, edukacyjny lub szkoleniowy, naukowo – badawczy, medyczny, odwiedziny krewnych i/lub znajomych, pielgrzymka do miejsc kultu religijnego) oraz jego charakter (wyjazd indywidualny, wycieczka z biurem podróży, wycieczka objazdowa, pobyt stacjonarny, wczasy i zwiedzanie). Ankieta epidemiologiczna obejmowała także pytania dotyczące warunków socjoekonomicznych pobytu (ekskluzywny hotel z klimatyzacją, hotel bez klimatyzacji, dom wczasowy, pensjonat, pokój gościnny, gospodarstwo agroturystyczne lub farma, pole namiotowe, kemping, obozowisko w dżungli, tropikalny bungalow, szałas, hamak) (Ryc. 9) oraz środków transportu (samolot, statek, prom lub jacht, samochód, pociąg, autostop, rower). Dla osób wyjeżdżających w celach zawodowych konieczne było określenie rodzaju wykonywanej pracy (poszukiwanie złóż surowców naturalnych, transport lub komunikacja, obserwacje przyrodnicze, praca na platformie wiertniczej, wykopaliska archeologiczne, badania etnograficzne, wyprawa podróżnicza lub globtroterska, praca misyjna lub duszpasterska, budowa studni, ćwiczenia wojskowe lub bojowe, praca w gospodarstwie wiejskim lub na farmie, usługi hotelarsko - gastronomiczne, obsługa ruchu turystycznego, prace

dziennikarskie lub fotoreporterskie, udział w wyścigach lub rajdach sportowych, prace inżyniersko – budowlane w terenie, praca w porze nocnej, praca wielozmianowa).



Ryc. 9. Obozowisko nad brzegiem Orinoko w dżungli wenezuelskiej istotnym ryzykiem zwiększonej ekspozycji na ukłucia komarów. Kolekcja własna.

Kolejna grupa pytań zawartych w ankiecie epidemiologicznej dla osób wyjeżdżających za granicę dotyczyła rodzaju aktywności rekreacyjnej i sportowej mogącej mieć wpływ na zwiększone narażenie na ukłucia komarów. Rodzaj uprawianego podczas podróży sportu, który mógł nieść za sobą ryzyko zakażenia wirusem Zachodniego Nilu to przede wszystkim tramping, trekking, uprawianie turystyki górskiej, nurkowanie lub snorklowanie, obóz przetrwania, żeglarstwo lub kajakarstwo, kolarstwo, rafting lub windsurfing. Kolejną grupę czynników ryzyka mógł stanowić rodzaj posiadanego hobby, np. myślistwo, wędkowanie, eksploracja jaskiń, podglądanie dzikich zwierząt w ich środowisku naturalnym lub fotografowanie przyrody (Ryc. 10A). Do czynników ryzyka zaliczono także rodzaj aktywności rekreacyjnej wykonywanej podczas podróży, np. safari w parku narodowym lub rezerwacie przyrody, wycieczki do rezerwatów dzikich ptaków (Ryc. 10B), wizyta na farmie lub w gospodarstwie rolnym, pobyt na stepie, łące lub pastwisku, wyprawa do dżungli, wycieczki i spacer po zachodzie słońca, odwiedzanie lokalnych społeczności. Zwiększone

ryzyko zakażenia wirusem Zachodniego Nilu mógł powodować również kontakt ze zwierzętami podczas podróży – jazda konna, na wielbłądzie, mule, ośle lub słoni, odwiedzanie targowisk z żywymi zwierzętami czy też wizyta w ogrodzie zoologicznym, pokazy zwierząt oraz miejsce nocowania (nocleg w lesie lub dżungli, nocowanie nad jeziorem, rzeką, wodospadem, spanie pod gołym niebem).

Pytania zawarte w ankiecie epidemiologicznej precyzowały jednocześnie rodzaj mechanicznej ochrony przed ukłuciami komarów stosowanej przez osoby podróżujące (moskitiera do spania, siatki w drzwiach i oknach, zasłony przed owadami, środki odstraszające owady na skórę, spirale owadobójcze, płyny i aerozole owadobójcze, kadzidelka, urządzenia emitujące ultradźwięki, właściwy ubiór po zachodzie słońca, stosowanie klimatyzacji przy zamkniętych oknach). Pacjenci precyzowali jednocześnie częstotliwość ukłuć komarów obserwowaną u siebie podczas podróży zagranicznej (brak, sporadycznie, dość często, często, bardzo często).

3.3.2. Ankieta epidemiologiczna dla pacjentów niewyjeżdżających za granicę

Kwestionariusz pytań epidemiologicznych przygotowanych dla pacjentów niewyjeżdżających za granicę przeprowadzono u każdej osoby zakwalifikowanej do grupy kontrolnej (załącznik nr 2). Dane zebrane na tej podstawie dotyczyły miejsca zamieszkania pacjentów (wieś, miasteczko poniżej 30 tys. mieszkańców, miasto 30-100 tys. mieszkańców, duże miasto 100-500 tys. mieszkańców, przedmieścia dużych miast, aglomeracja miejska powyżej 500 tys. mieszkańców) oraz warunków mieszkaniowych (blok mieszkalny, dom jednorodzinny, dom szeregowy, kamienica). Każdorazowo notowano także częstotliwość ukłuć komarów w pobliżu miejsca zamieszkania obserwowaną przez pacjentów. Kolejna grupa pytań precyzowała narażenie zawodowe na ukłucia komarów lub kontakt z dzikimi ptakami (Ryc. 11), a do grupy osób szczególnie predysponowanych na zakażenie zaliczono rolników, leśników, drwali, hodowców zwierząt, weterynarzy, ornitologów, ogrodników, geodetów, agrotechników, architektów i budowniczych, hodowców ryb, sportowców, pracowników tartaków, wychowawców szkolnych, organizatorów usług turystycznych oraz pracowników ogrodów zoologicznych i botanicznych. Pacjenci wykonujący zawód o zwiększonym ryzyku podatności na ukłucia komarów proszeni byli o oszacowanie, jak często obserwowali je w środowisku pracy. Hodowcy zwierząt precyzowali gatunki, jakich dotyczy hodowla (np. konie, trzoda chlewna, bydło, kozy, owce, króliki, strusie, indyki, kaczki, gęsi, kury).



Ryc. 10. Wodno-błotne ptaki egzotyczne będące naturalnym rezerwuarem wirusa Zachodniego Nilu w krajach strefy międzyzwrotnikowej. A. Marabut afrykański (*Leptoptilos crumeniferus*) w wiosce rybackiej nad Jeziorem Wiktorii w Ugandzie. B. Kolonia flamingów różowych (*Phoenicopterus roseus*) nad Jeziorem Nakuru Kenii. Kolekcja własna.

Kolejną grupą czynników potencjalnie zwiększających ekspozycję na ukłucia komarów lub kontakt z dzikimi ptakami były zamiłowania i hobby, takie jak myślistwo i łowiectwo, wędkarstwo, jeździectwo, piesze wędrówki, turystyka górską, kolarstwo, wspinaczka skałkowa, zbieranie grzybów i jagód oraz uprawa kwiatów i warzyw. Również rodzaj aktywności fizycznej mógł mieć związek z większym narażeniem na ukłucia komarów (jogging w parku lub lesie, nordic walking, gra w golfa, jazda na rowerze, hulajnodze, rolkach, deskorolce lub quadzie, gra w piłkę, tenis ziemny, żeglarstwo lub kajakarstwo, pływanie w otwartych zbiornikach wodnych, czy spacer z psem).



Ryc. 11. Bocian biały (*Ciconia ciconia*) – potencjalny główny rezerwuár i żywiciel wirusa Zachodniego Nilu w Polsce. Kolekcja własna.

Podczas przeprowadzania ankiety epidemiologicznej z pacjentami grupy kontrolnej precyzowano także czynniki związane ze stylem życia, które również mogą mieć wpływ na częstotliwość ukłuć komarów lub możliwość kontaktu z dzikimi ptakami. Pytania te dotyczyły posiadania pola uprawnego, ogródka przydomowego, sadu owocowego, działki rekreacyjnej, czy dokarmiania dzikich ptaków. Wycieczki do lasu, parku lub rezerwatu przyrody, na łąkę, pastwisko, torfowisko czy nad jezioro lub rzekę również mogły zwiększać u nich częstotliwość ukłuć owadów. Do kolejnej grupy czynników ryzyka zaliczono także pytania dotyczące

korzystania z usług gospodarstw agroturystycznych, klubów jeździeckich i stadnin koni, nocowania na polach namiotowych lub kempingowych, odwiedzania ogrodów zoologicznych lub botanicznych, czy też spędzania czasu wolnego na placach zabaw dla dzieci, w zieleńcach, parkach lub skwerach miejskich.

Ankieta epidemiologiczna dla osób niewyjeżdżających poza terytorium kraju zawierała także informacje na temat spotkań i uroczystości towarzyskich organizowanych na otwartej przestrzeni, szczególnie w porze wieczornej (grilowanie, spotkanie w ogrodzie lub na działce, spotkanie z przyjaciółmi na balkonie, piknik na trawie, przebywanie na tarasie restauracji). Każdy z pacjentów określał jednocześnie częstotliwość ukłuć komarów obserwowanych u siebie podczas aktywności rekreacyjnej, sportowej lub spotkań towarzyskich.

3.4. Ocena kliniczna pacjentów

Badania kliniczne przeprowadzone u pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej obejmowały obserwację zgłaszanych dolegliwości chorobowych charakterystycznych dla przebiegu zakażenia wirusem Zachodniego Nilu, takich jak gorączka, stany podgorączkowe, bóle głowy, bóle mięśni, dreszcze, osłabienie ogólne, wzmożona potliwość, nudności i/lub wymioty, brak apetytu, wysypka skórna, bóle stawów, powiększenie węzłów chłonnych, kaszel, ból gardła i zapalenie spojówek.

Drugą grupę obserwowanych objawów klinicznych stanowiły objawy neurologiczne, obecne w przebiegu zapalenia opon mózgowo – rdzeniowych lub mózgu o etiologii WNV, takie jak gorączka, bóle i zawroty głowy, sztywność karku, osłabienie siły mięśniowej (często asymetryczne), niedowłady, zmiany osobowości, zaburzenia koncentracji, koordynacji i/lub pamięci, drgawki, ataksja, objawy ogniskowego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego.

3.5. Badania immunodiagnostyczne w kierunku wirusa Zachodniego Nilu

3.5.1. Pobieranie materiału do badań laboratoryjnych

Do badań immunoenzymatycznych wykorzystywano surowicę pacjentów z grupy badanej oraz grupy kontrolnej. Krew żylną każdego pacjenta w ilości 5 ml pobierano za pomocą systemu zamkniętego do polipropylenowej probówki zawierającej aktywator krzepnięcia, celem uzyskania skrzepu krwi i wyizolowania surowicy, zgodnie z zasadami pobierania

materiału do badań opracowanymi przez producenta sprzętu do pobierania krwi (Sarstedt, Nümbrecht, Niemcy). Probówki po pobraniu krwi pełnej przez 30–60 minut pozostawały w pozycji pionowej, w temperaturze pokojowej (optymalne warunki do uzyskania prawidłowego skrzepu, maksymalnej ilości surowicy oraz minimalizowania możliwości wystąpienia hemolizy). Po utworzeniu się skrzepu w probówce, materiał wirowano przez 5 minut (3.000 obrotów na minutę) (wirówka MPW 341, Mechanika Precyzyjna, Warszawa). Oddzieloną surowicę umieszczano następnie za pomocą pipetek pasterowskich w polipropylenowych probówkach do zamrażania o objętości 1,8 ml i przechowywano w temperaturze -20°C. Badania immunodiagnostyczne w grupie badanej i kontrolnej przeprowadzano jednocześnie w tej samej serii oznaczeń.

3.5.2. Wykrywanie swoistych przeciwciał IgM przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu we krwi obwodowej za pomocą techniki immunoenzymatycznej

Badanie poziomu swoistych przeciwciał IgM przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu w surowicy pacjentów z grupy badanej i grupy kontrolnej przeprowadzono z wykorzystaniem odwróconej metody immunoenzymatycznej ELISA (ang. *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) z zastosowaniem dwustopniowego testu komercyjnego (ang. *double-sandwich*) West Nile Detect™ IgM Capture ELISA (*InBios International*, Seattle, Washington, USA). W technice tej zastosowano mieszaninę dwóch rekombinowanych antygenów wirusa Zachodniego Nilu kodowanych przez geny prM i prE, uzyskanego w hodowli komórkowej na komórkach linii COS-1. Przed wykonaniem oznaczeń zestawy immunodiagnostyczne przechowywano w temperaturze +4°C, z wyjątkiem antygeny WNV, który był przechowywany w temperaturze -20°C i odmrażany bezpośrednio przed użyciem. Do rozcieńczania skoncentrowanych buforów używano wyłącznie wody podwójnie destylowanej stosowanej do iniekcji. W teście tym próbki surowicy oraz znajdujące się w zestawie odczynnikowym kontrole dodatnie i ujemne rozcieńczano 100-krotnie w buforze fosforanowym (PBS) o pH 7,2-7,6, z dodatkiem detergentu Tween 20, utrwalonym 0,01% timerosalem. Do każdej studzienki płytki mikrotitracyjnej opłaszczanej przeciwciałem kozim przeciwko ludzkiej immunoglobulinie klasy M, dodano po 50 µl rozcieńczonej surowicy badanej oraz kontrole dodatnie i ujemne w podwójnym oznaczeniu próby. Płytkę mikrotitracyjną następnie przykrywano za pomocą warstwy parafilmu i inkubowano wraz surowicami przez godzinę w cieplarni (CL-65, ELCON, Łódź), w temperaturze 37°C. Po inkubacji płytkę płukano sześć

razy buforem fosforanowym PBS z dodatkiem detergentu Tween 20, o pH 6,7 – 7,1 (standardowy bufor płuczący). W każdym kolejnym cyklu płukania stosowano po 300 µl buforu płuczącego. Następnie połowa studzienek inkubowana była z rekombinowanym antygenem wirusa Zachodniego Nilu (po 50 µl WNRA – ang. *West Nile Recombinant Antigen*), powstałym z połączenia sekwencji nukleotydowych z dwóch antygenów kodowanych przez geny prM-E. Druga połowa studzienek inkubowana była z zawiesiną supernatantu pochodzącego z hodowli komórkowej wirusa na komórkach linii COS-1 - tzw. antygenem komórkowym (po 50 µl NCA – ang. *Normal Cell Antigen*), niezawierającym antygenów WNV. Po godzinnej inkubacji w cieplarni, w temperaturze 37°C płytkę następnie płukano sześciokrotnie standardowym buforem płuczającym (po 300 µl w każdym cyklu). W kolejnym etapie reakcji do każdej studzienki dodawany był konjugat (wtórne przeciwciała skierowane przeciwko białku E wirusa Zachodniego Nilu), znakowany enzymem – peroksydazą chrzanową. Płytkę następnie przykrywano za pomocą warstwy parafilmu i inkubowano przez godzinę w temperaturze 37°C. Po zakończeniu inkubacji i kolejnych 6 cyklach płukania w standardowym buforze płuczającym PBS-Tween, do wszystkich studzienek dodawano po 150 µl rozcieńczonego buforu fosforanowego z dodatkiem Tween 20 o wyższym pH 7,2 – 7,6 (ang. *EnWash*). Po pięciominutowej inkubacji odkrytej płytki w temperaturze pokojowej, ponownie płukano ją sześciokrotnie standardowym buforem płuczającym PBS-Tween 20. Kolejnym etapem reakcji było dodanie po 75 µl chromogennego substratu reakcji, zawierającego 3,3',5,5'-tetrametylenobenzydynę (TMB) rozcieńczoną w buforze zawierającym nadtlenek wodoru i roztwór cytrynianu sodowego z kwasem cytrynowym o kwaśnym pH 3,3 – 3,8 do każdej studzienki oraz inkubacja płytki przykrytej folią aluminiową w temperaturze pokojowej bez dostępu światła. Po zakończeniu ostatniego etapu inkubacji do każdej studzienki dodawano po 50 µl 1N kwasu siarkowego – odczynnika przerywającego dalszy rozwój reakcji barwnej (ang. *Stop Solution*) i w ciągu kilku minut od zatrzymania reakcji odczytywano wartości absorbancji (OD) za pomocą automatycznego spektrofotometru ELx800 (*Bio-Tek® Instruments*, Winooski, USA) przy pojedynczej długości fali 450 nm. Wyniki oznaczeń podawano w postaci indeksu, wyrażającego stosunek wartości absorbancji próbki inkubowanej z rekombinowanym antygenem wirusa Zachodniego Nilu (WNRA) do wartości absorbancji próbki inkubowanej jedynie z kontrolnym antygenem komórkowym (NCA).

Zgodnie z zaleceniami producenta za wyniki ujemne, czyli niewykrywające obecności swoistych przeciwciał w kierunku WNV w klasie IgM uznane zostały wartości indeksu poniżej 4,47. Za wartości graniczne uznano przedział indeksu od 4,47 do 5,66. Uzyskanie wartości z przedziału granicznego wymagało powtórzenia oznaczenia. Za wyniki dodatnie, czyli

stwierdzające obecność swoistych przeciwciał IgM przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu uznano wartości indeksu powyżej 5,66.

Odczynniki laboratoryjne były opracowane i przygotowane w *Centers for Disease Control and Prevention* w Atlancie (Georgia, USA), a zastosowana metoda immunodiagnostyczna została uznana za referencyjną do oznaczania swoistych przeciwciał IgM w kierunku WNV. Czulość analityczną testu dla wykrywania przeciwciał IgM określono na 98%, a swoistość diagnostyczną oceniono na 99%. Ujemna wartość predykcyjna metody wynosiła 100%. Fałszywie dodatnie reakcje krzyżowe notowano jedynie w pojedynczych przypadkach zakażeń wywoływanych przez enterowirusy u dzieci. W prezentowanej rozprawie doktorskiej nie wykonywano badań wśród populacji dziecięcej, ograniczając występowanie nieswoistej odpowiedzi immunologicznej.

3.5.3. Wykrywanie swoistych przeciwciał IgG przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu we krwi obwodowej za pomocą techniki immunoenzymatycznej

Analizę obecności swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu w klasie IgG w surowicy pacjentów z grupy badanej i grupy kontrolnej przeprowadzono z wykorzystaniem testu West Nile Detect™ IgG ELISA (*InBios International*, Seattle, Washington, USA), opartego na technice immunoenzymatycznej ELISA (ang. *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*). Przed wykonaniem oznaczeń zestawy immunodiagnostyczne przechowywano w temperaturze + 4°C i ogrzewano do temperatury pokojowej 30 min przed ich użyciem. Metodyka wykonania oznaczeń zamieszczona przez producenta testu wymagała 300-krotnego rozcieńczenia badanych surowic oraz kontroli dodatnich i ujemnych w buforze fosforanowym PBS o pH 7,2-7,6, z dodatkiem detergentu Tween 20, utrwalonym 0,01% timerosalem. Połowa studzienek mikrotitracyjnych była opłaszczona przez producenta rekombinowanym antygenem wirusa Zachodniego Nilu (po 50 µl WNRA – ang. *West Nile Recombinant Antigen*), natomiast drugą połowę płytki pokryto antygenem komórkowym zawierającym jedynie supernatant z hodowli wirusa na komórkach linii COS-1 (NCA – ang. *Normal Cell Antigen*), bez obecności antygenów WNV. Rozcieńczone uprzednio próbki pacjentów oraz kontrole dodatnie i ujemne w podwójnym oznaczeniu próby umieszczano w objętości po 50 µl, w dwóch studzienkach opłaszczonych przeciwciałem monoklonalnym przeciwko ludzkiej immunoglobulinie klasy G oraz zawierających odpowiednio WNRA oraz NCA. Płytkę następnie przykryto za pomocą warstwy parafilmu i inkubowano przez

godzinę w cieplarni (CL-65, ELCON, Łódź), temperaturze 37°C. Po inkubacji płytkę płukano sześć razy standardowym buforem płuczącym – bufor fosforanowy PBS z dodatkiem detergentu Tween 20, o pH 6,7 – 7,1. W kolejnym etapie do każdej studzienki mikrotitracyjnej dodano po 50 µl konjugatu (wtórne przeciwciała skierowane przeciwko białku E wirusa Zachodniego Nilu) znakowanego enzymem – peroksydazą chrzanową. Płytkę przykrywano warstwą parafilmu i inkubowano przez godzinę w cieplarni, w temperaturze 37°C. Po zakończeniu kolejnego etapu inkubacji, płytkę płukano sześciokrotnie z użyciem standardowego buforu płuczającego. Po etapie płukania, do każdej studzienki dodawano po 150 µl rozcieńzonego buforu fosforanowego z dodatkiem Tween 20 o wyższym pH 7,2 – 7,6 (ang. *EnWash*), inkubowano przez 5 minut w temperaturze pokojowej, a następnie ponownie płukano sześciokrotnie z wykorzystaniem standardowego buforu płuczającego. Do każdej studzienki dodawano następnie po 75 µl chromogenego substratu reakcji (3,3',5,5'-tetrametylenobenzzydina rozcieńczona w buforze zawierającym nadtlenek wodoru z roztworem cytrynianu sodowego i kwasu cytrynowego o pH 3,3 – 3,8) i inkubowano przez 10 minut w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła. Po zakończeniu inkubacji, do każdej studzienki dodawano po 50 µl 1N kwasu siarkowego – odczynnika przerywającego dalszy rozwój reakcji barwnej (ang. *Stop Solution*) i w ciągu kilku minut odczytywano wartości gęstości optycznej (OD) za pomocą automatycznego spektrofotometru ELx800 (*Bio-Tek® Instruments*, Winooski, USA), przy pojedynczej długości fali 450 nm.

Wyniki oznaczeń przedstawiano w postaci indeksu wyrażającego stosunek wartości absorbancji próbki inkubowanej z rekombinowanym antygenem wirusa Zachodniego Nilu (WNRA) do wartości absorbancji próbki inkubowanej z kontrolnym antygenem komórkowym (NCA), niezawierającym białek WNV.

Zgodnie z zaleceniami producenta za wyniki ujemne, czyli bez wykrywalnych przeciwciał przeciwko WNV w klasie IgG uznane zostały wartości indeksu mniejsze lub równe 2,0. Za wartości graniczne przyjęto przedział indeksu od 2,0 do 3,0. Uzyskanie wartości z przedziału granicznego wymagało powtórzenia oznaczenia. Za wyniki dodatnie, czyli stwierdzające obecność swoistych przeciwciał IgG przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu uznano wartości indeksu powyżej 3,0.

Metoda badawcza została szczegółowo opracowana i zweryfikowana w *Centers for Disease Control and Prevention* w Atlancie (Georgia, USA) i uznana za referencyjną do oznaczania swoistych przeciwciał IgG w kierunku WNV. Czułość analityczną testu określono na 98%, swoistość na 99%. Ujemna wartość predykcyjna testu wynosiła 100%. Uzyskiwano niewielkie ryzyko niespecyficznego krzyżowego u pacjentów z japońskim zapaleniem mózgu

(JEV), powracających z Azji Południowo-Wschodniej oraz zapaleniem mózgu Saint Louis (SLEV) nabywanym w Ameryce Północnej i Południowej.

3.6. Zgodność przeprowadzonych badań klinicznych i laboratoryjnych z zasadami etyki

Warunkiem włączenia pacjentów do programu badań epidemiologiczno-klinicznych i laboratoryjnych było uzyskanie świadomej zgody na udzielanie świadczeń szpitalnych oraz wykonywanie zabiegów diagnostycznych i leczniczych, każdorazowo odnotowywane w dokumentacji medycznej Szpitala, zgodnie z procedurami systemu zarządzania jakością wg normy ISO 9001. Zgoda dotyczyła pobrania żyłnej krwi obwodowej celem oznaczenia poziomu swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu. Wszyscy pacjenci zakwalifikowani do grupy badanej lub kontrolnej otrzymywali przed przystąpieniem do badań „Formularz informacji dla pacjenta”, w którym znajdowały się najważniejsze wiadomości nt. prowadzonych badań naukowych – cele i zasady wykonywanych badań, korzyści wynikające z udziału w nich oraz informacja, że wszystkie wyniki badań będą prezentowane anonimowo. Każdy z pacjentów zakwalifikowanych do badań naukowych podpisywał formularz świadomej zgody, w którym wyrażał pełną, świadomą i dobrowolną zgodę na udział w tym badaniu oraz anonimowe przetwarzanie, udostępnianie i publikację uzyskanych wyników badań, zgodnie z Ustawą o ochronie danych osobowych z dnia 29 sierpnia 1997 roku. Pacjent jednocześnie informowany był o możliwości odstąpienia od udziału w badaniach bez konsekwencji dla dalszego postępowania medycznego w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych w Poznaniu.

Procedura wykonywania badań objętych tematyką rozprawy doktorskiej była zgodna z ogólnie zaakceptowanymi zasadami prowadzenia badań klinicznych (ang. *good clinical practice*), opracowanymi w oparciu o Deklarację Helsińską, czego potwierdzeniem jest uzyskanie pisemnej zgody na przeprowadzenie badań, wydanej przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (załącznik nr 3).

3.7. Analiza statystyczna uzyskanych wyników badań

Ocenę statystyczną wyników badań przeprowadzano w oparciu o test niezależności χ^2 i test T – Studenta oraz podstawowe funkcje statystyczne (średnia arytmetyczna, odchylenie standardowe, wariancja), posługując się komputerową analizą bazy danych przy użyciu arkuszy kalkulacyjnych Microsoft Office Excel 2003, uznając za statystycznie istotne wartości $P < 0,05$ przy poziomie ufności 95%. W ocenie prawdopodobieństwa występowania zmiennych losowych w badanej próbie populacji osób powracających z krajów o klimacie tropikalnym i śródziemnomorskim zastosowano rozkład dwumianowy Bernoulliego przy poziomie ufności 95% z polskiej wersji oprogramowania statystycznego i analitycznego STATISTICA 12 PL firmy StatSoft® Polska.

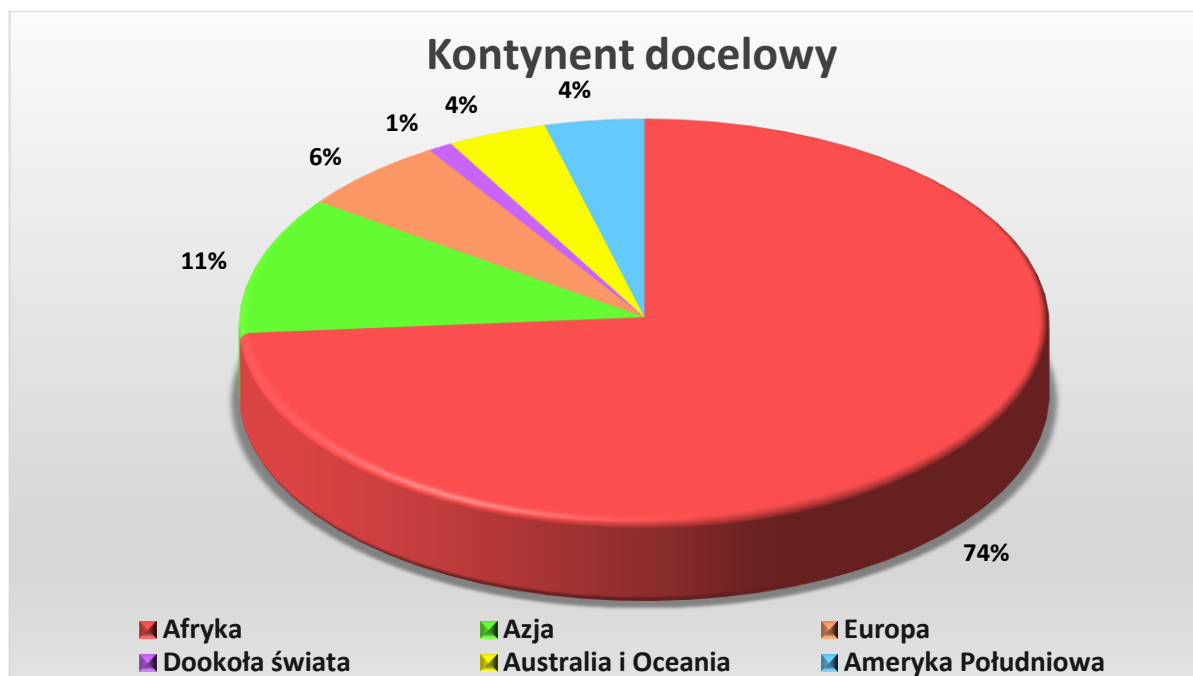
3.8. Analiza geograficzno-środowiskowa uzyskanych wyników badań

Położenie nazw geograficznych na mapie fizycznej Polski i świata zobrazowano za pomocą systemu interaktywnych fotograficznych map satelitarnych o wysokiej rozdzielczości dostępnych dla przeglądarki Microsoft Internet Explorer w systemie komputerowym Windows Professional 7 na platformie internetowej <https://www.google.pl/maps>.

4. PREZENTACJA WYNIKÓW

4.1. Ocena występowania potencjalnych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u osób podróżujących do krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej

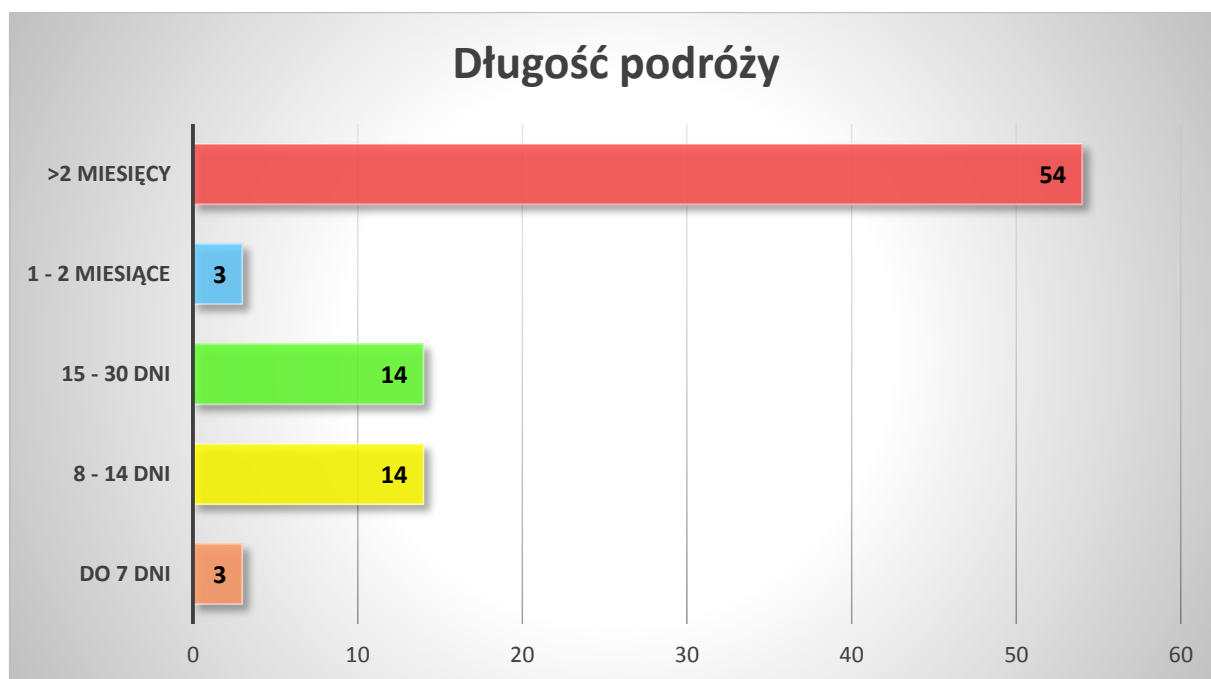
Spośród 88 pacjentów grupy badanej powracających z krajów odmiennej strefy klimatyczno-środowiskowej i sanitarno-epidemiologicznej, zdecydowana większość (n=65) powracała z krajów afrykańskich (74%). Najczęściej odwiedzanymi krajami były Kamerun (n=10), Republika Demokratyczna Kongo (n=7), Tanzania (n=7), Gambia (n=7) i Republika Środkowej Afryki (n=5). Nieco rzadziej podróżowano do Czadu (n=4), na Madagaskar (n=4), do Senegalu (n=3), Angoli (n=3), Kenii (n=3), czy Republiki Południowej Afryki (n=3). Do najrzadziej wybieranych kierunków geograficznych należał Benin (n=2), Uganda (n=2), Etiopia (n=2), czy Sudan Południowy (n=2). Odnotowano także pojedyncze wyjazdy do Rwandy, Egiptu, Wybrzeża Kości Słoniowej, Zambii, Nigerii, Kongo, Sudanu, Gabonu i Libii (n=9) (Ryc. 12).



Ryc. 12. Docelowy kontynent podróży wśród 88 pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej.

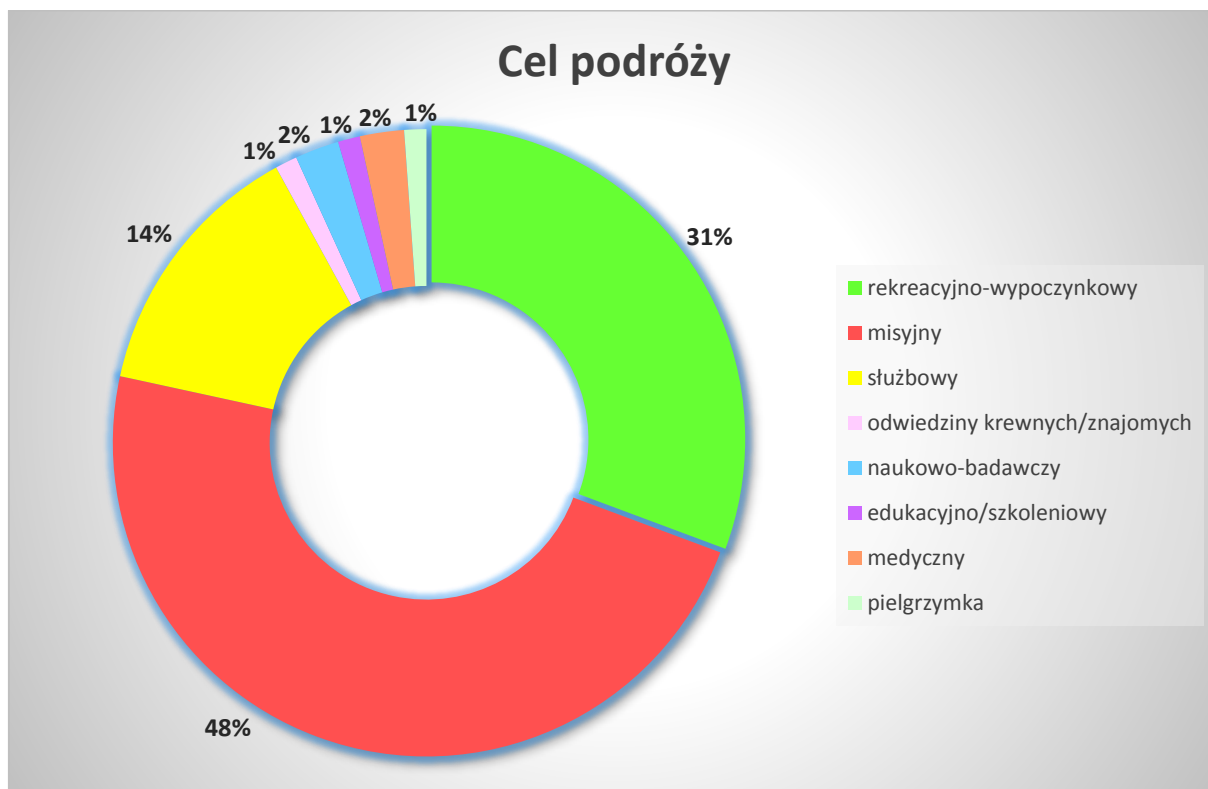
Pozostałe kontynenty świata wybierane były zdecydowanie rzadziej jako docelowy kierunek podróży – 11% pacjentów powracało z Azji, 6% z Europy, 4% z Australii i Oceanii, 4% z Ameryki Południowej. Jedna z zakwalifikowanych do badań osób odbyła podróż dookoła świata. Z kontynentu azjatyckiego najczęściej odwiedzanym krajem były Indie (n=5) oraz Sri Lanka (n=3). Odnotowano także pojedyncze pobyty w Izraelu, Myanmarze (Birma) oraz na Filipinach. Na kontynencie europejskim najpopularniejszymi obszarami o klimacie śródziemnomorskim okazały się Włochy (n=2) oraz Turcja (n=2). Ponadto nieliczni pacjenci z grupy badanej podróżowali także do Rosji (n=1) oraz Grecji (n=1). Kontynent australijski wraz z Oceanią najliczniej reprezentowany był przez pacjentów powracających z podróży do Papui – Nowej Gwinei (n=3) oraz Australii (n=1). Ameryka Południowa wybrana została tylko przez cztery osoby, które powracały odpowiednio z Brazylii, Gwatemali, Kolumbii i Meksyku (Ryc. 12).

Długość podróży 88 pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej została podzielona na pięć zakresów: do 7 dni, 8 – 14 dni, 15 – 30 dni, 1 – 2 miesiące oraz powyżej dwóch miesięcy. Zdecydowaną większość stanowiły wyjazdy długoterminowe (n=54). Mniej liczne okazały się pobyty zagraniczne, które trwały od 8 do 14 dni (n=14) oraz od 15 do 30 dni (n=14). Wśród pacjentów z grupy badanej najmniej popularnymi okazały się krótkie wyjazdy trwające do 7 dni (n=3) oraz dłuższe, w przedziale 1 – 2 miesięcy (n=3) (Ryc. 13).



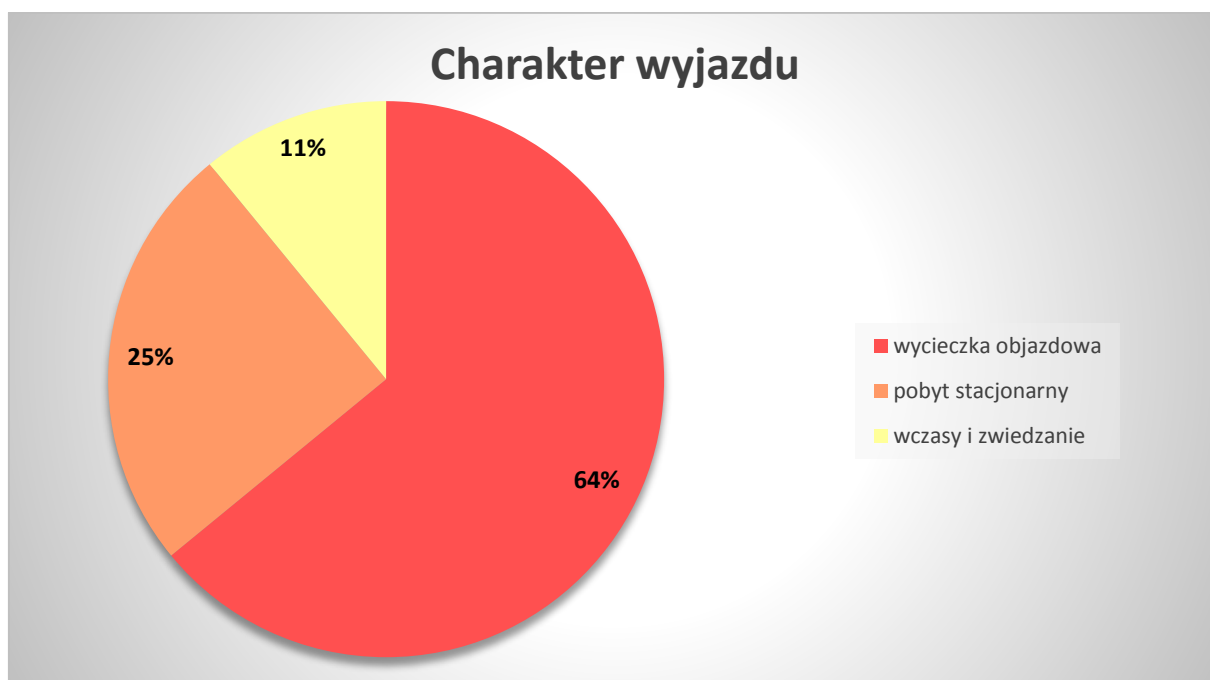
Ryc. 13. Długość podróży 88 pacjentów grupy badanej, powracających z wyjazdów międzynarodowych.

Najliczniejszą grupę pacjentów powracających do Polski z podróży do krajów odmiennej strefy klimatyczno-środowiskowej i sanitarno-higienicznej stanowili misjonarze (48%), osoby wyjeżdżające w celach turystyczno – rekreacyjnych (31%) oraz służbowych (14%). Najmniej liczne okazały się grupy osób wyjeżdżających w celach medycznych (2%), naukowo – badawczych (2%), edukacyjno – szkoleniowych (1%), odwiedzenia krewnych i znajomych (1%), czy pielgrzymowania do miejsc kultu religijnego (1%) (Ryc. 14).



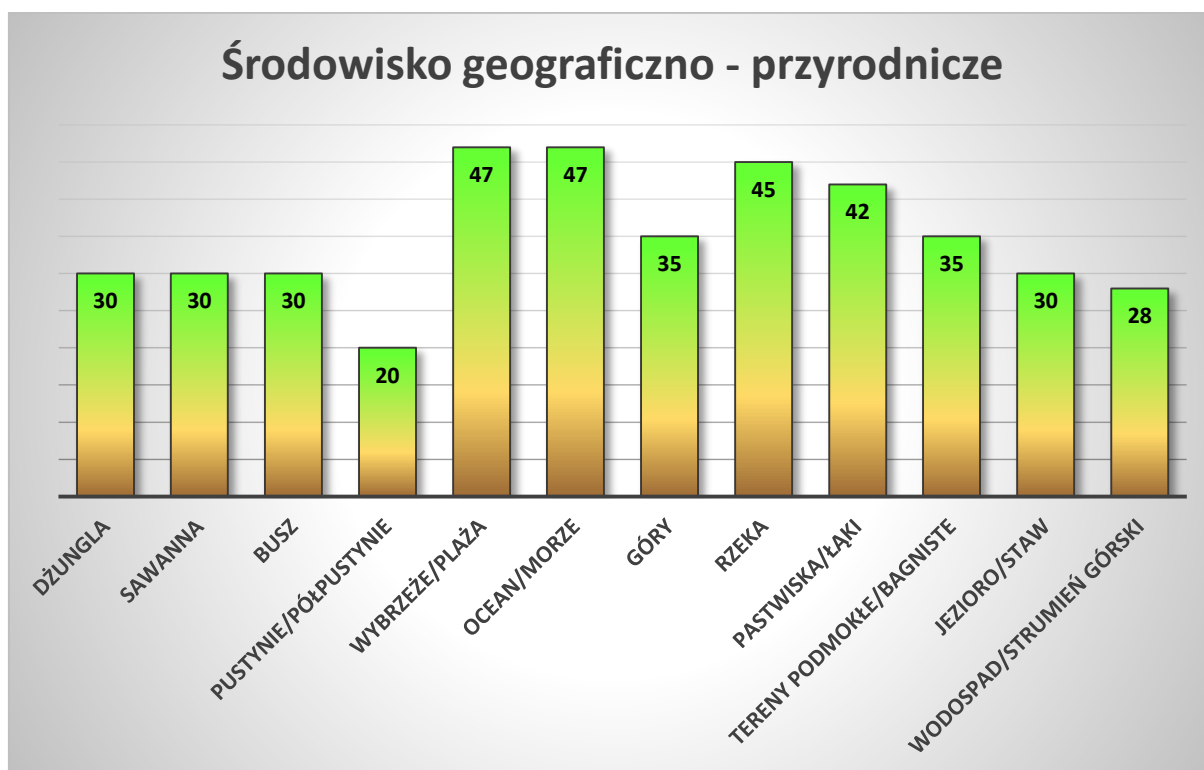
Ryc. 14. Cel podróży 88 pacjentów z grupy badanej analizowanych w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu.

Wyjazdy pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej w głównej mierze miały charakter objazdowy, podczas których osoby te bardzo często zmieniały nie tylko środowisko geograficzne – przyrodnicze, ale również przekraczały granice kolejnych krajów. Jedna czwarta pacjentów deklarowała pobyt o charakterze stacjonarnym, a jedna dziesiąta mieszany charakter wyjazdu, czyli połączenie wyjazdu o charakterze stacjonarnym z nielicznymi wycieczkami turystyczno-krajoznawczymi (Ryc. 15).



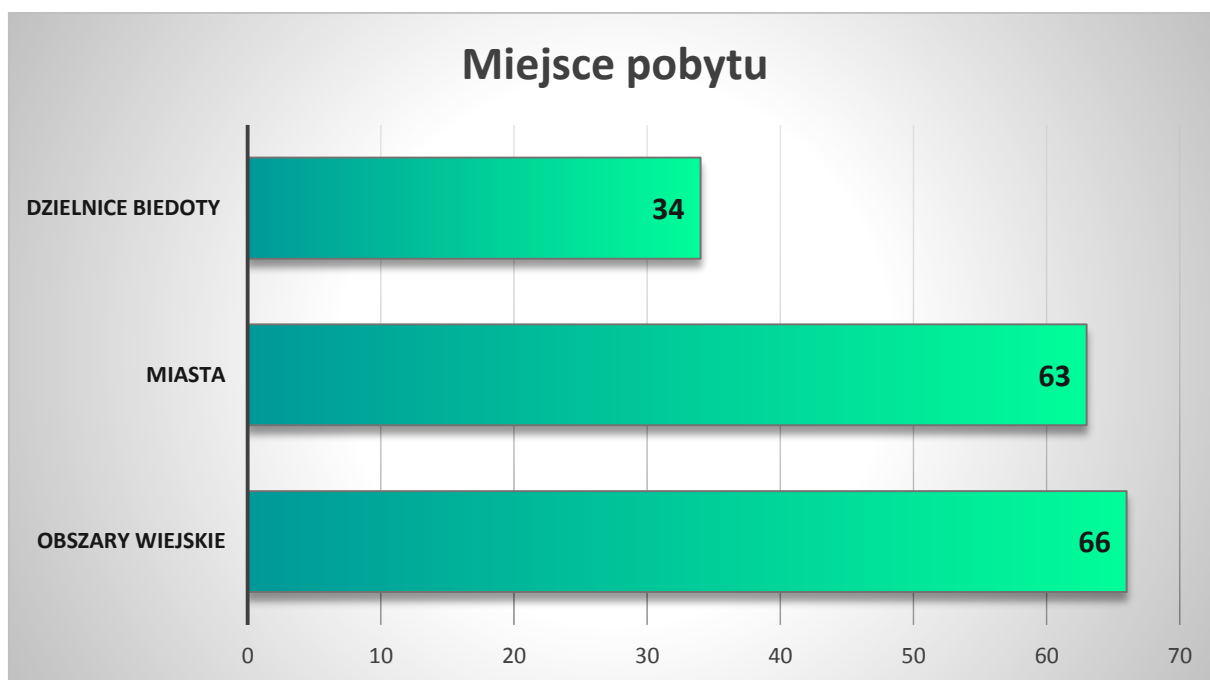
Ryc. 15. Sposób podróżowania preferowany przez 88 pacjentów grupy badanej powracających z krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej.

Środowisko geograficzno – przyrodnicze, w którym przebywali pacjenci z grupy badanej mogło mieć bardzo duży wpływ na obserwowaną przez nich częstotliwość ukłuć komarów. Około jedna trzecia pacjentów przebywała na terenie dżungli tropikalnej, gdzie ekspozycja na ukłucia komarów jest najwyższa, a środowisko to jest miejscem bytowania wielu gatunków ptaków mogących być rezerwuarem wirusa Zachodniego Nilu. Podobny odsetek pacjentów podczas swojego pobytu pozostawał na sawannie i w buszu, gdzie w czasie trwania pory deszczowej również dochodzi do niekontrolowanego rozwoju komarów, a populacje ptaków również należą do bardzo licznych. Ponad połowa osób należących do grupy badanej przebywała na plaży lub wybrzeżu nad morzem lub oceanem. Narażenie na ukłucia komarów w tym środowisku przyrodniczym jest stosunkowo niewielkie, poza przypadkami gdzie plaży towarzyszy bliskość lasu lub gęstych zarośli. Blisko połowa pacjentów z grupy badanej przebywała nad rzeką, która jest doskonałym środowiskiem dla bytowania ptactwa wodnego oraz licznej populacji komarów. Często odwiedzane były także pastwiska lub łąki, góry oraz tereny podmokłe lub bagniste. Każde z tych środowisk jest bardzo sprzyjające zarówno dla rozwoju służących jako rezerwuuar wirusa ptaków, jak i wektorów. Około jedna trzecia pacjentów przebywała w bliskim sąsiedztwie jeziora lub wodospadu, czy strumienia górskiego. Dwadzieścia osób deklarowało pobyt na obszarach pustynnych lub półpustynnych (Ryc. 16).



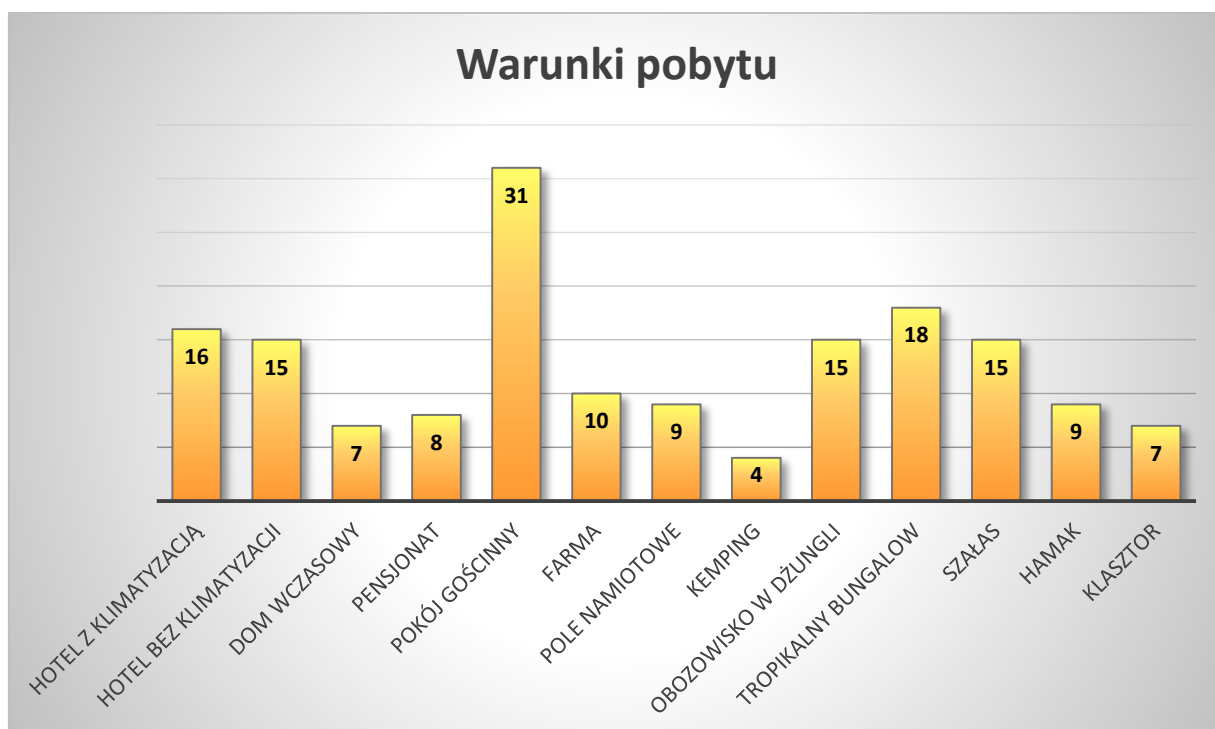
Ryc. 16. Środowisko geograficzno – przyrodnicze, w którym przebywali pacjenci z grupy badanej obserwowani w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu.

W większości objazdowy charakter podróży pacjentów z grupy badanej powodował konieczność ciągłego przemieszczania się pomiędzy miastami i wioskami. Zdecydowanie większe narażenie na ukłucia komarów spotkać można na obszarach wiejskich, gdzie swój pobyt deklarowało aż 66 spośród 88 osób (75%). Tylko trzy osoby mniej zgłosiły pobyt w miastach. Aż 34 osoby przebywały w dzielnicach biedoty, czyli tzw. slumsach (39%). Nazwa ta kojarzona jest przede wszystkim z ubogimi dzielnicami zlokalizowanymi na przedmieściach dużych aglomeracji miejskich, takich jak Rio de Janeiro, Bombaj, Lima, czy Caracas. Jednak poziom ubóstwa obserwowany przez polskich misjonarzy z Republiki Środkowej Afryki, Kenii, Madagaskaru, czy Kamerunu wymagał stworzenia pewnej nowej podkategorii, w której mianem dzielnic biedoty nazywano także obszary wiejskie, w których znajdowały się niosące pomoc humanitarną polskie ośrodki misyjne. Warunki sanitarne w tych dzielnicach są na ogół skrajnie złe, co sprzyja szerzeniu się wielu chorób infekcyjnych i pasożytniczych, w tym również tych przenoszonych przez wektory (Ryc. 17).



Ryc. 17. Miejsce pobytu podczas podróży zagranicznej 88 pacjentów grupy badanej.

Polscy podróżnicy hospitalizowani w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych w Poznaniu przebywali w zróżnicowanych warunkach socjoekonomicznych, co zobrazowano na rycinie 18. Najwięcej osób deklarowało zakwaterowanie w miejscach o niewysokim standardzie, takich jak pokój gościnny, gdzie najczęściej brak jest klimatyzacji (35%). Od piętnastu do osiemnastu osób mieszkało odpowiednio w szałasie, tropikalnym bungalowie oraz obozowisku w dżungli. W miejscach takich warunki pobytu należą do najtrudniejszych, a narażenie na ukłucia komarów jest zdecydowanie najwyższe. Tylko szesnaście osób (18%) przebywało w ekskluzywnym hotelu z klimatyzacją, gdzie nie ma konieczności otwierania okien po zachodzie słońca. Takie warunki socjoekonomiczne pobytu w znacznym stopniu niwelują narażenie na ukłucia komarów. Inne miejsca, w których zatrzymywały się osoby podróżujące z grupy badanej to dom wczasowy, pensjonat, farma, czy pole namiotowe. Dziewięć osób korzystało z hamaku, również w porze nocnej. Najmniej osób zgłosiło pobyt w klasztorze lub zakonie, czy na kempingu (Ryc. 18).

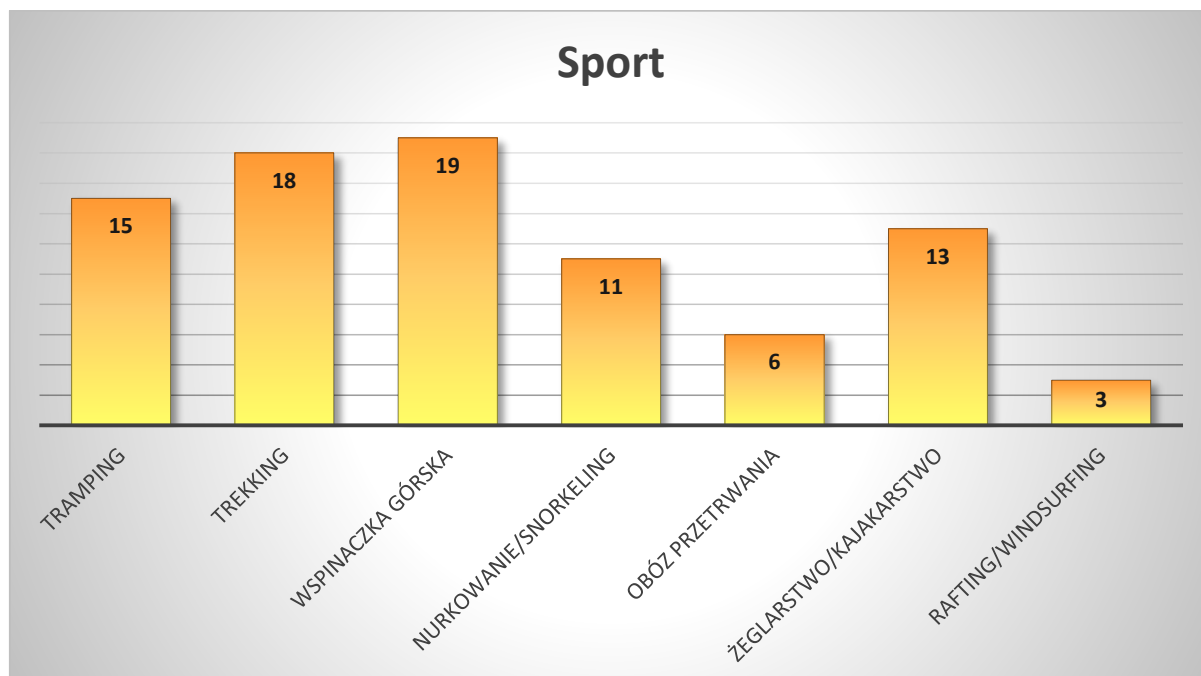


Ryc. 18. Warunki socjoekonomiczne pobytu, w jakich przebywali podczas podróży zagranicznych pacjenci zakwalifikowani do grupy badanej.

Do potencjalnych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu zaliczono także niektóre czynności, jak uprawiana podczas wyjazdu dyscyplina sportu, posiadane zamiłowania, pasje lub hobby, kontakt ze zwierzętami, czy czynności rekreacyjne. Wszystkie te aktywności w mniejszym lub większym stopniu maksymalizują narażenie na ukłucia komarów, z jednoczesnym uwzględnieniem miejsc bytowania dzikich ptaków, będących naturalnym rezerwuarem wirusa.

Spośród aktywności o charakterze sportowym największe prawdopodobieństwo wystąpienia zakażenia WNV powiązано z przebywaniem na otwartej przestrzeni w górach poniżej 2000 m n.p.m. oraz nad wodą, co przedstawiono na rycinie 19. Najwięcej osób deklarowało wspinaczkę górską oraz trekking. Obie te czynności związane są z przebywaniem w górach i bardzo często towarzyszących im lasach, gdzie narażenie na ukłucia komarów jest bardzo wysokie. W drugiej kolejności pacjenci po powrocie z wyjazdów międzynarodowych deklarowali podróżowanie o charakterze trampingu. Jest to rodzaj wyprawy w poszukiwaniu przygody, zwykle organizowanej we własnym zakresie i związanej z powszechnymi podróżami autostopem oraz lokalnymi środkami transportu. Dodatkowo uczestnicy często korzystają z taniej bazy noclegowej i dużo czasu spędzają na otwartej przestrzeni. Udział w obozie przetrwania (ang. *survival*) deklarowało tylko sześć osób. Uprawianie sportu w środowisku

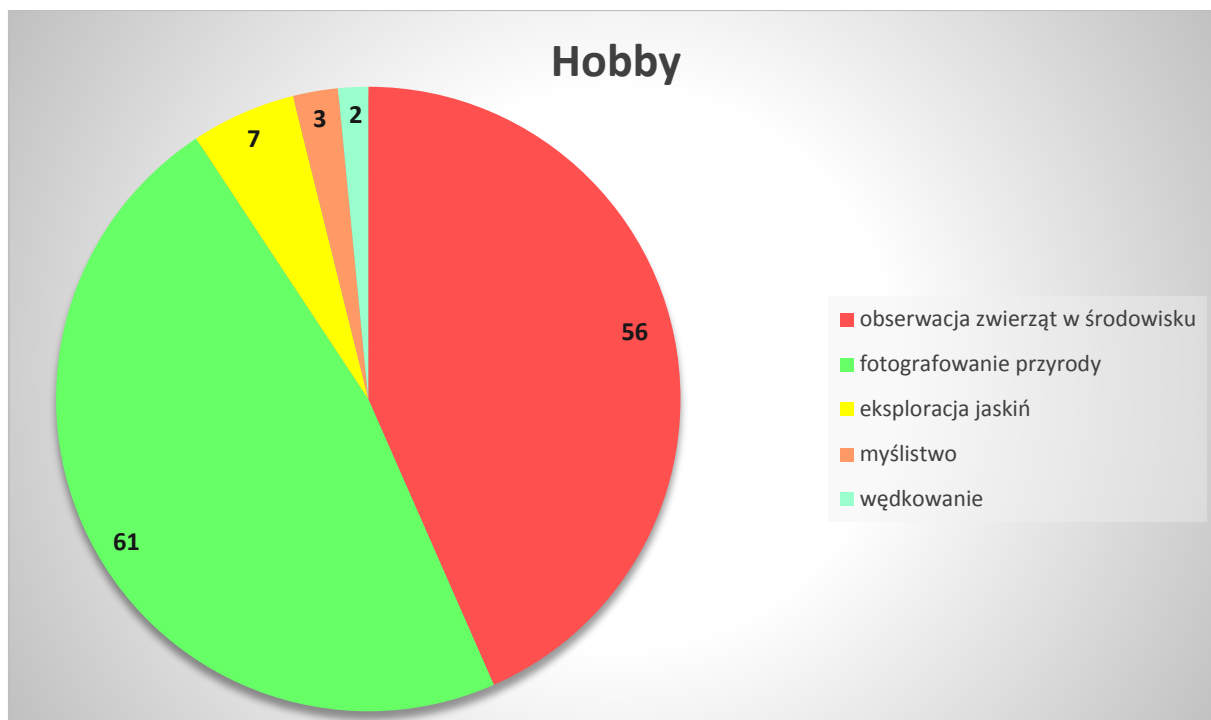
wodnym najczęściej związane było z żeglarstwem lub kajakarstwem. Rzadziej notowano nurkowanie lub snorklowanie celem obserwacji ryb morskich i mieszkańców rafy koralowej, najrzadziej rafting lub windsurfing (Ryc. 19).



Ryc. 19. Rodzaj najczęściej uprawianej aktywności sportowej wśród 88 pacjentów grupy badanej podczas pobytu na wyjeździe zagranicznym.

Podróż zagraniczna często związana jest z posiadaniem zamiłowania, pasją lub hobby. Dla osób interesujących się zwierzętami możliwość ich obserwacji w naturalnym środowisku przyrodniczym jest jednym z głównych powodów podróżowania. Taki rodzaj posiadanego hobby zgłosiło aż 56 osób (64%). Kolejną grupę stanowiły osoby interesujące się profesjonalną fotografią, dla których piękne pejzaże i niepowtarzalna flora i fauna stanowią motywację dla dalszych wyjazdów. Taką pasję posiadało aż 61 osób (69%). Obie bardzo liczne grupy narażone są w znacznym stopniu na ukłucia komarów, gdyż czynności te wykonywane są na otwartej przestrzeni, często w porze wieczornej, celem na przykład obserwacji zachodu słońca na sawannie. Kolejną grupę pasjonatów stanowili speleolodzy (n=8), którzy kierunek podróży zagranicznych dostosowują do obecności na terenie danego kraju jaskiń. Panujący w ich wnętrzu wilgotny klimat w dużym stopniu zwiększa narażenie na ukłucia komarów, a zalewane wodą podziemne korytarze i kresowe jeziora są naturalnym biotopem dla wektora. Trzy osoby spośród pacjentów grupy badanej podczas swojej podróży uprawiały myślistwo, w tym dwie osoby polowały na dzikie ptactwo w dżungli tropikalnej, a jedna osoba na antylopy

na sawannie. Środowisko geograficzno – przyrodnicze, w którym polowali pacjenci znane jest z bardzo dużej populacji komarów. Dwie osoby z grupy badanej podczas pobytu za granicą wędkowały. Przebywanie w pobliżu rzeki, jeziora, czy innego akwenu znacząco zwiększa ryzyko ekspozycji na ukłucia komarów (Ryc. 20).



Ryc. 20. Rodzaj posiadanego hobby w grupie 88 pacjentów grupy badanej, które podczas podróży zagranicznej może stanowić istotny czynnik ryzyka transmisji wirusa Zachodniego Nilu.

Zwierzęta domowe i dzikie stanowią naturalną grupę żywicielską dla bardzo licznych gatunków komarów. Podczas wyjazdów zagranicznych często dochodzi do interakcji świata ludzi i świata zwierząt, co w znacznym stopniu naraża człowieka na częste ukłucia owadów. Do kontaktu obu światów dochodzi najczęściej na otwartej przestrzeni w parkach narodowych i rezerwach przyrody, co również zwiększa ryzyko ukłuć komarów. W Ugandzie bardzo popularne jest bliskie podglądanie rodzin goryli górskich w Parku Narodowym Bwindi oraz szympanсів na bagiennych terenach tropikalnego lasu deszczowego Kibale. Interakcja ludzi i zwierząt ma miejsce chociażby na lokalnych targowiskach, gdzie żywe zwierzęta trzymane są w klatkach lub podczas odwiedzania ogrodów zoologicznych oraz specjalnie organizowanych pokazów zwierząt. W trakcie podróży międzynarodowych jedną z atrakcji turystycznych jest także przejażdżka na słoniu lub wielbłądzie oraz jazda konna. Niekiedy

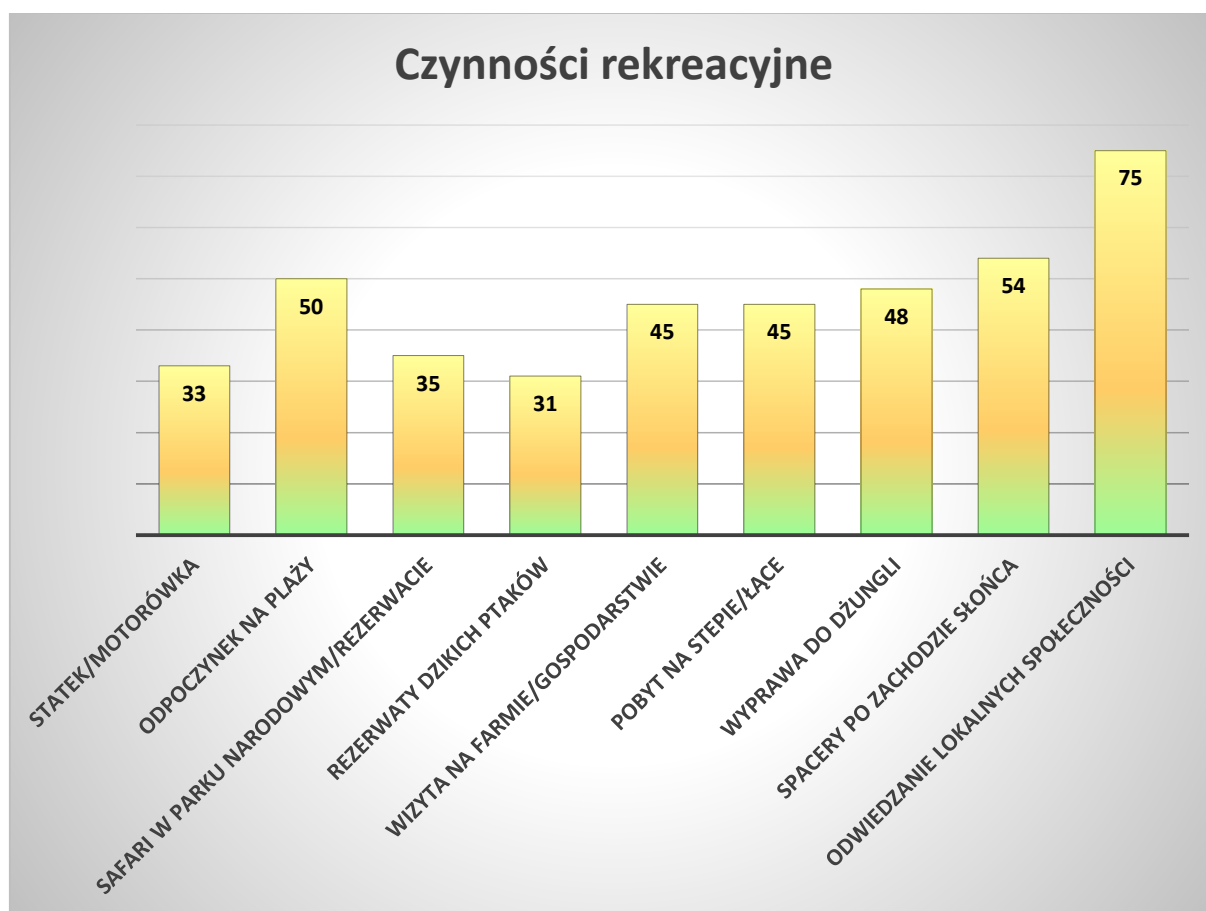
jedynym środkiem transportu, szczególnie w ubogich krajach tropikalnych może okazać się muł lub jak. Jeden z misjonarzy zgłaszał, że podczas inscenizacji związanej ze Świątami Wielkanocnymi wjeżdżał do miasta na ośle celem jak najdokładniejszego oddania przekazu biblijnego (Ryc. 21).



Ryc. 21. Rodzaj kontaktu ze zwierzętami obserwowany w grupie badanej 88 osób podróżujących do krajów tropikalnych i śródziemnomorskich, mogący stanowić zagrożenie transmisji wirusem Zachodniego Nilu.

Bardzo istotnym czynnikiem predysponującym do wystąpienia licznych ukłuc komarów podczas podróży międzynarodowej może być także rodzaj aktywności rekreacyjnej. W przypadku zakażeń wirusem Zachodniego Nilu szczególnie niebezpieczne wydają się być wyprawy typu safari w parkach narodowych lub rezerwatach przyrody oraz wycieczki do rezerwatu dzikich ptaków. Podczas takich ekspedycji podróżnicy przebywają na otwartej przestrzeni, która bardzo często jest obszarem bytowania bardzo wielu gatunków egzotycznych ptaków (kormorany, marabuty, flamingi, pelikany, tukany, papugi, zimorodki, bociany). Bardzo istotne ryzyko wystąpienia ukłuc owadów występuje także podczas spacerów po zachodzie słońca, gdyż jest to pora największej aktywności komarów. Szczególnym ryzykiem może być także obciążona wyprawa do dżungli, wycieczki statkiem, jachtem lub motorówką oraz pobyt na stepie, łące lub pastwisku. Środowiska te związane są ściśle z dużą liczebnością populacji komarów oraz występowaniem wielu gatunków ptaków.

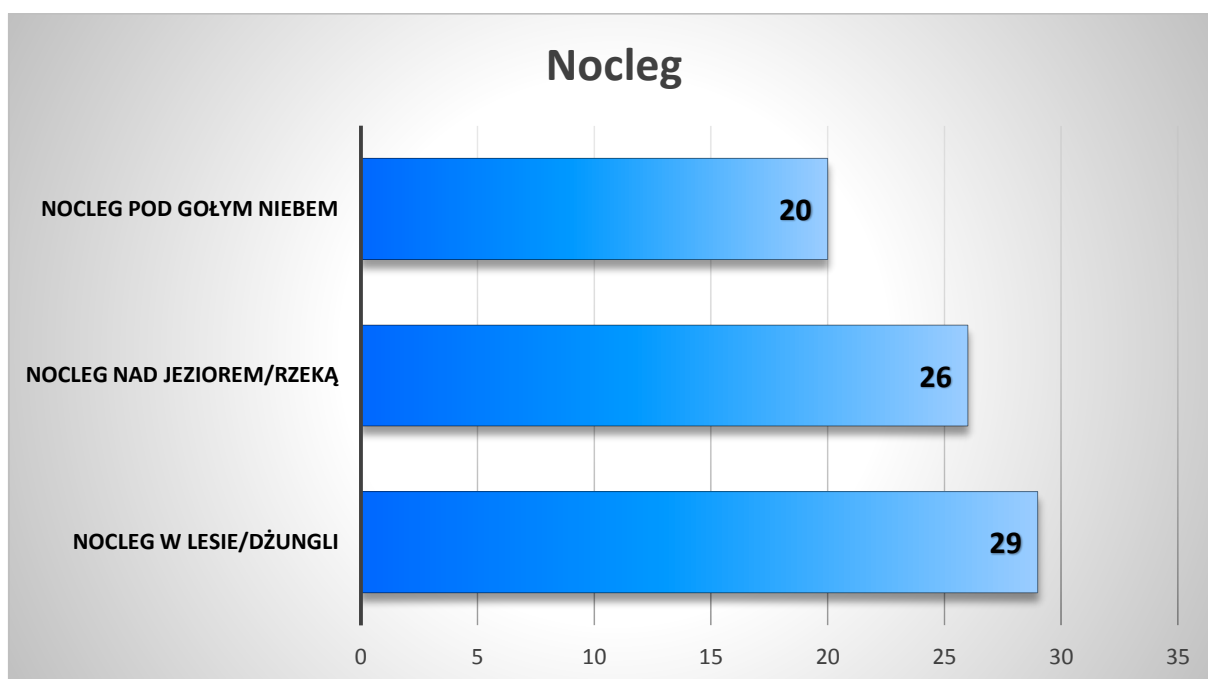
Stosunkowo mniejsze ryzyko wystąpienia ukłuc komarów związane jest z odpoczywaniem na plaży, odwiedzaniem lokalnych społeczności oraz pobytem na farmie lub w gospodarstwie rolnym. Jednak w przypadku tych czynności rekreacyjnych bardzo istotnym czynnikiem jest środowisko naturalne, które towarzyszy turystom, ponieważ plaże często mogą być otoczone lasem lub gęstymi zaroślami. Wizyta u mieszkańców lokalnych terenów może wiązać się z dużym ryzykiem wystąpienia zakażenia wirusem Zachodniego Nilu, szczególnie jeśli dotyczy mieszkańców lasów deszczowych lub wilgotnej sawanny drzewiastej. Czynności rekreacyjne wśród pacjentów grupy badanej zestawiono na rycinie 22.



Ryc. 22. Czynności rekreacyjne potencjalnie sprzyjające zakażeniu wirusem Zachodniego Nilu w grupie badanej 88 osób podróżujących do krajów międzyzwrotnikowych i śródziemnomorskich.

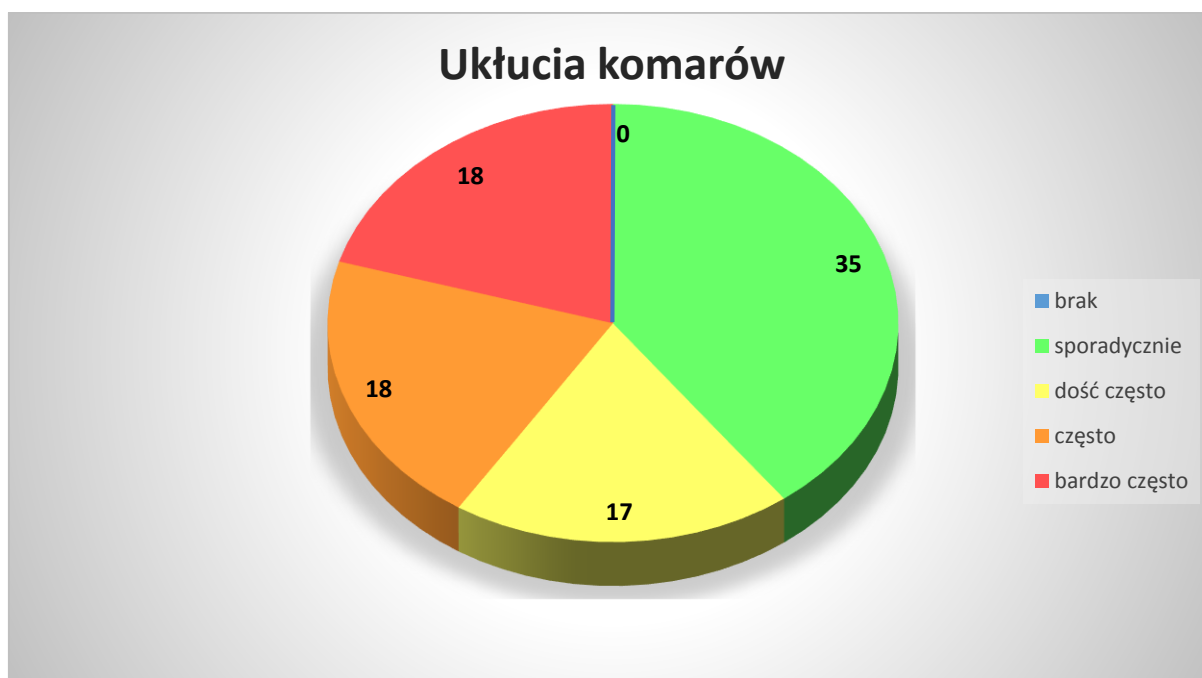
Otoczenie, w którym znajduje się miejsce noclegowe również może w znacznym stopniu zwiększać ryzyko wystąpienia ukłuc komarów. Szczególnie niebezpieczny pod tym względem wydaje się być nocleg pod gołym niebem, spanie nad zbiornikiem wodnym (jeziorem, rzeką, wodospadem) oraz w lesie lub dżungli tropikalnej. W porze nocnej komary wykazują

największą aktywność, a survivalowy nocleg pod gołym niebem w znacznym stopniu uniemożliwia zastosowanie środków mechanicznej ochrony przed ukłuciami owadów. Lasy deszczowe, czy dżungla tropikalna stanowią środowisko naturalne o największej liczebności populacji komarów. Przebywanie na tym terenie dodatkowo w porze nocnej stanowi duże zagrożenie. Zbiorniki wodne, jak jeziora, rzeki czy wodospady są natomiast środowiskiem niezbędnym podczas cyklu życiowego komarów. Lokalizację niebezpiecznych miejsc noclegowych u polskich podróżników z grupy badanej obrazuje rycina 23.



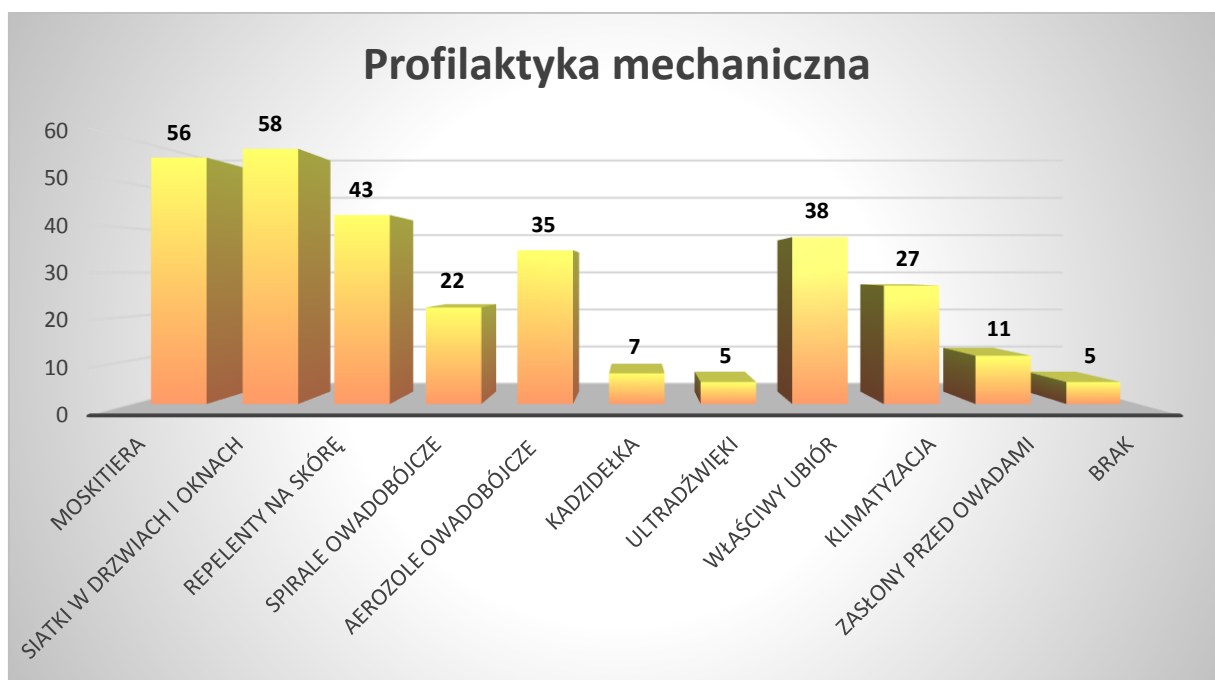
Ryc. 23. Środowisko przyrodnicze, w jakim znajdowały się ryzykowne miejsca noclegowe w grupie polskich podróżników z grupy badanej.

Wśród pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej wszyscy obserwowali na skórze ukłucia komarów (100%), jednak ich częstotliwość różniła się znacząco, co obrazuje rycina 24. Najczęściej zgłaszano sporadyczne ukłucia owadów, a podobnie liczebne grupy obserwowały ukłucia dość często, często i bardzo często. Różnice wynikały przede wszystkim z kierunku podróży, pory roku, środowiska geograficzno – przyrodniczego, w jakim przebywali pacjenci, warunków socjoekonomicznych pobytu oraz czynności rekreacyjnych wykonywanych na otwartej przestrzeni.



Ryc. 24. Częstotliwość ukłuć komarów podczas podróży zagranicznej obserwowana przez 88 pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej.

Na częstotliwość ukłuć komarów w dużym stopniu wpływ mógł mieć także rodzaj stosowanych mechanicznych środków chroniących przed ukłuciami komarów. Pacjenci z grupy badanej najczęściej stosowali siatki w drzwiach i oknach, które znacznie utrudniają komarom przedostawanie się do pomieszczeń mieszkalnych oraz moskitierę do spania, która nasączona dodatkowo środkiem owadobójczym skuteczniej chroni przed ich ukłuciami w porze nocnej. Ponad połowa pacjentów stosowała także repelenty na skórę. Ponad jedna trzecia pacjentów stosowała płyny i aerozole owadobójcze na odzież i nakrycie głowy oraz pamiętała o właściwym ubiorze po zachodzie słońca – koszulach z długimi rękawami, długich spodniach i pełnym obuwiu. Mniej niż jedna trzecia pacjentów używała klimatyzacji w hotelu, która dzięki braku konieczności otwierania okien w nocy ograniczała przedostawanie się komarów do pomieszczeń mieszkalnych. Tylko pięć osób nie stosowało żadnej mechanicznej profilaktyki przeciwko ukłuciom owadów podczas pobytu w strefie endemicznej (6%) (Ryc. 25).



Ryc. 25. Rodzaj stosowanej profilaktyki mechanicznej przeciwko ukłuciom komarów, zgłaszanej przez 88 pacjentów grupy badanej podczas pobytu w krajach strefy gorącej.

4.1.1. Porównanie występowania potencjalnych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu w próbie populacji misjonarzy oraz u pozostałych osób podróżujących do krajów o klimacie gorącym

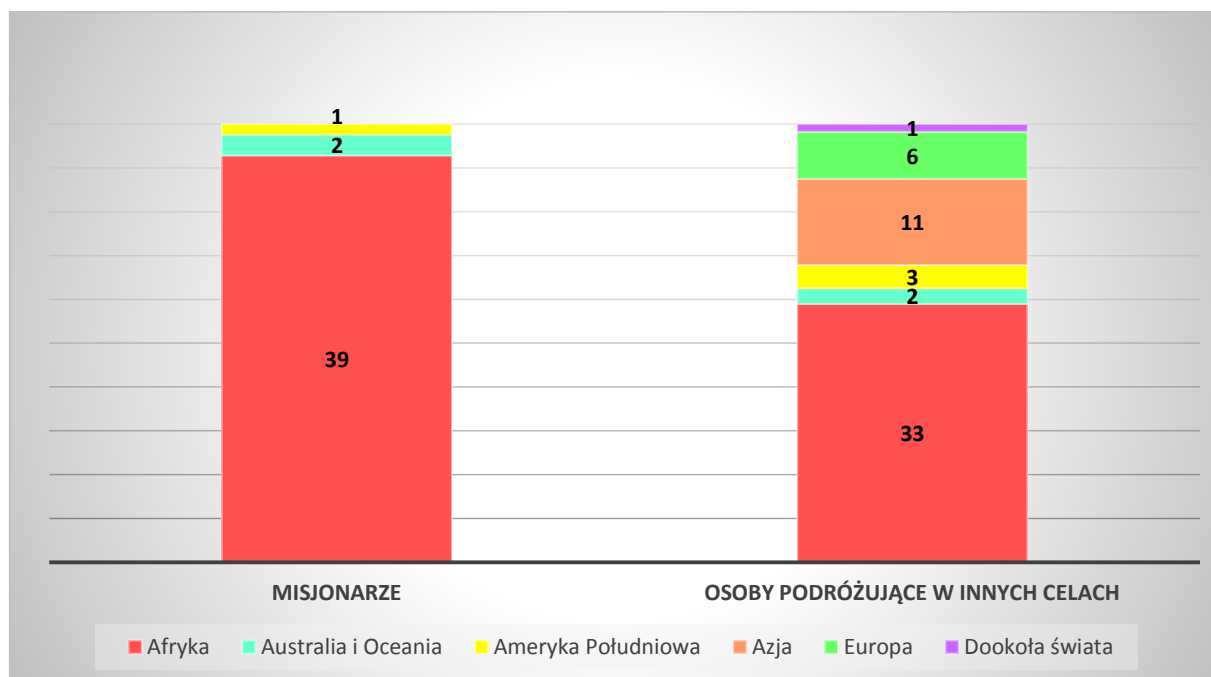
Podróż do krajów odmiennej strefy geograficznej i klimatyczno – środowiskowej, w zależności od celu podróży, wiąże się najczęściej ze zróżnicowanym sposobem spędzania czasu, a co za tym idzie z odmiennym ryzykiem wystąpienia infekcyjnych i pasożytniczych chorób tropikalnych przenoszonych przez komary. Pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej podzielono zatem na dwie zbliżone liczebnie podgrupy celem porównania występowania potencjalnych czynników zakażenia wirusem Zachodniego Nilu. Pierwszą podgrupę stanowili misjonarze i wolontariusze akcji humanitarnych (n=42) w wieku 25 – 80 lat (średnia 46,9 lat \pm 12,2 lat), drugą natomiast osoby podróżujące w celach turystycznych, zawodowych, dyplomatycznych, wojskowych, naukowo – badawczych, edukacyjno – szkoleniowych, medycznych, odwiedzenia krewnych i znajomych, czy pielgrzymowania do miejsc kultu religijnego (n=46) w wieku 26 – 73 lat (średnia 41,4 lat \pm 12,4 lat).

Wśród misjonarzy hospitalizowanych w Klinice chorób Tropikalnych i Pasożytniczych w Poznaniu zdecydowana większość powracała do Polski z krajów afrykańskich (n=39), gdzie polskie ośrodki misyjne znajdują się na terenie bardzo ubogich państw, w bardzo trudnych warunkach klimatyczno – środowiskowych. Największa liczba hospitalizowanych pacjentów z tej podgrupy przebywała w Kamerunie (n=8), Republice Demokratycznej Konga (n=6), Republice Środkowej Afryki (n=4), Czadzie (n=4) oraz na Madagaskarze (n=4). Mniej licznie reprezentowane były ośrodki misyjne w Tanzanii (n=3), Beninie (n=2), Kenii (n=2) oraz Ugandzie (n=2). Odnotowano także pojedyncze osoby powracające z Republiki Południowej Afryki, Gabonu, Konga, Rwandy oraz Senegalu. Tylko trzy spośród czterdziestu dwóch osób w tej podgrupie powracały z ośrodków misyjnych zlokalizowanych na innych kontynentach, w tym dwie osoby z Papui – Nowej Gwinei oraz jedna z Gwatemali.

Osoby podróżujące w celach turystycznych lub zawodowych często przebywały na terenie różnych państw, niekiedy przekraczając także granice kontynentów. Różnorodność kierunków podróży obrazuje rycina 26. Kierunki podróży pacjentów z tej podgrupy okazały się być ewidentnie bardziej zróżnicowane niż wśród misjonarzy (test χ^2 , $P = 0,003$). Najchętniej odwiedzanym kontynentem była Afryka, a w drugiej kolejności Azja oraz kolejno Europa, Ameryka Południowa oraz Australia i Oceania. Na kontynencie afrykańskim najpopularniejszym w okresie badanym kierunkiem turystycznym okazała się Gambia (n=7), niekiedy połączona dodatkowo z podróżą do Senegalu (n=2). Niezmiernie dużą popularnością cieszyła się także Tanzania (n=4), nieco mniejszą Kenia (n=1). Dwie osoby podróżujące w celach turystyczno – rekreacyjnych powracały do Polski z Etiopii. Podobnie dwie osoby korzystały z wyjazdów turystycznych do Republiki Południowej Afryki, z których jedna wyjechała na safari do Parku Narodowego Krügera, a celem podróży drugiego pacjenta było polowanie. Wśród osób podróżujących w celach zawodowych najliczniej odwiedzana była Angola (n=3), a pobyt związany był z prowadzeniem prac inżyniersko – budowlanych w terenie. Dwie osoby podróżujące w celach zawodowych wróciły do Polski z terenu Sudanu Południowego. Jedna z nich kształciła lokalnych rolników w zakresie zasad prowadzenia hodowli rolnej, druga natomiast przemieszczała się przez kilka lat z Armią Wyzwolenia Sudanu Południowego, bezpośrednio dokumentując lokalny konflikt zbrojny na terenie kraju. Najmniej popularnymi krajami afrykańskimi odwiedzanymi przez pacjentów tej podgrupy okazały się Republika Demokratyczna Konga, Republika Środkowej Afryki, Egipt, Wybrzeże Kości Słoniowej, Zambia, Nigeria, Sudan oraz Libia.

Spośród krajów azjatyckich największą popularnością cieszyły się Indie (n=5) oraz Sri Lanka (n=3). Odnotowano także pojedyncze przypadki podróży do Myanmaru (Birma), Izraela

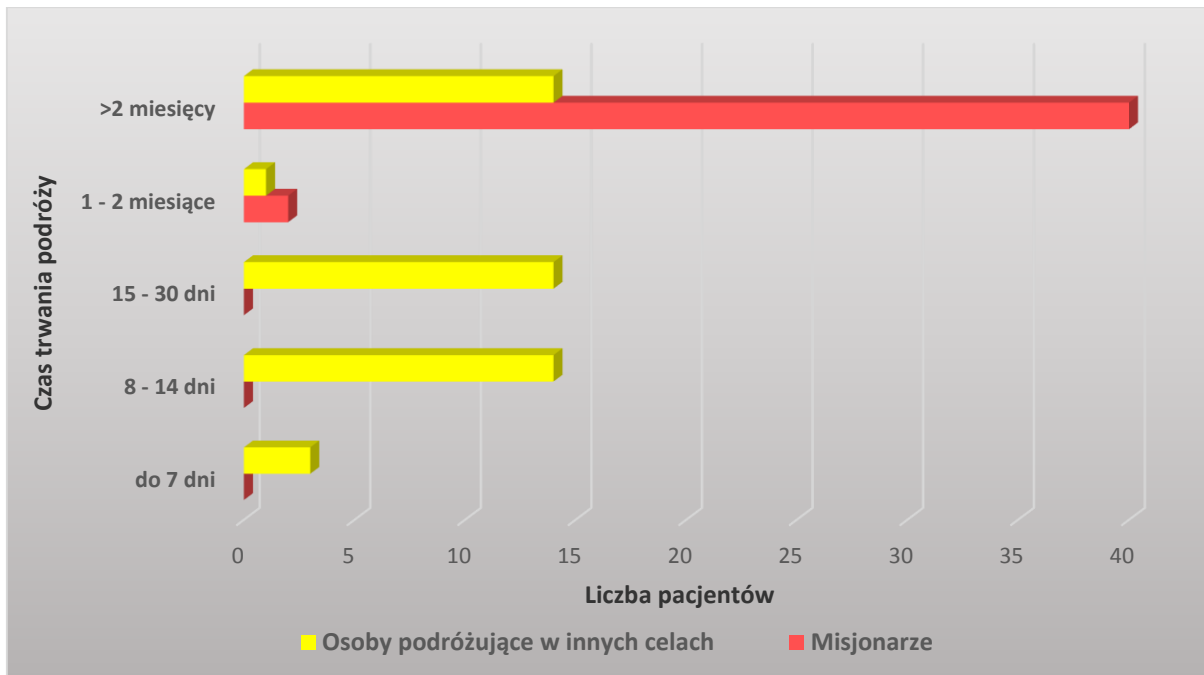
(pielgrzymka do miejsc kultu religijnego) oraz na Filipiny. Na kontynencie europejskim najwięcej osób wyjeżdżało do Włoch (n=2) oraz Turcji (n=2). Mniej licznie odwiedzano Grecję (n=1) oraz Rosję (n=1). Wśród pacjentów tej podgrupy odnotowano pojedyncze podróże o charakterze turystyczno – rekreacyjnym do Brazylii, Kolumbii i Meksyku na kontynencie południowo-amerykańskim oraz do Australii i Papui – Nowej Gwinei. Jedna z pacjentek podróżująca w celach naukowo – badawczych odbyła podróż dookoła świata.



Ryc. 26. Porównanie kierunków podróży odbywanych przez misjonarzy (n=42) i osoby wyjeżdżające w innych celach (n=46).

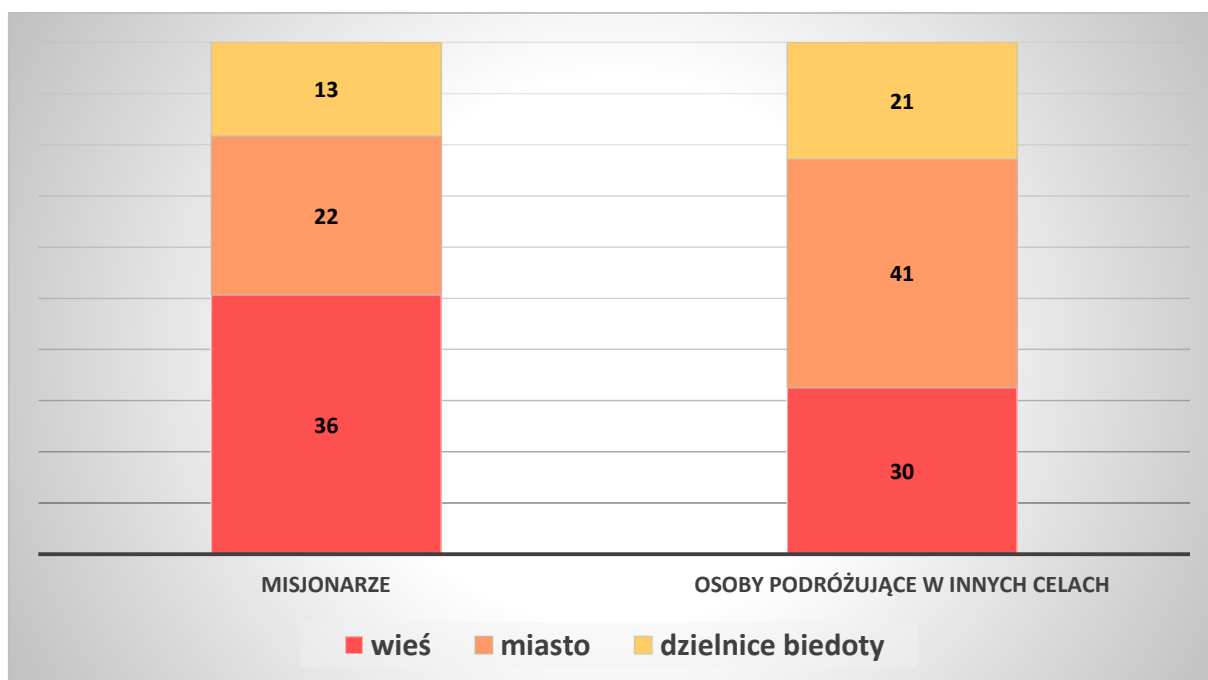
Wyjazd do polskich ośrodków misyjnych związany jest najczęściej z długotrwałym przebywaniem w bardzo trudnych warunkach klimatycznych, środowiskowych oraz socjoekonomicznych. Spośród 42 misjonarzy hospitalizowanych w Klinice, trzydziestu dziewięciu przebywało na terenie ośrodka misyjnego powyżej dwóch miesięcy (wyjazdy długoterminowe) (92,9%). Tylko trzech misjonarzy pracowało na terenie misji od jednego do dwóch miesięcy (7,1%). Długość podróży pacjentów z drugiej podgrupy jest zdecydowanie bardziej różnorodna. Najpopularniejsze okazały się wyjazdy trwające 8 – 14 dni (n=14), 15 – 30 dni (n=14) oraz powyżej dwóch miesięcy (n=14). Trzech pacjentów na swoim wyjeździe przebywało do siedmiu dni, natomiast jeden przez okres w przedziale 1 – 2 miesięcy. Wielomiesięczne okresy pobytu w krajach o klimacie gorącym obserwowano statystycznie

znaczaco częściej wśród misjonarzy niż osób wyjeżdżających w innych celach (test χ^2 , $P < 0,000001$).



Ryc. 27. Porównanie czasu trwania podróży międzynarodowych odbywanych przez misjonarzy (n=42) i osoby podróżujące w innych celach (n=46).

Miejscem pobytu polskich misjonarzy w ośrodkach na całym świecie są najczęściej tereny wiejskie oraz dzielnice biedoty (Ryc. 28). Warunki takie związane są zazwyczaj z dużą liczebnością populacji komarów, a w krajach tropikalnych także z obecnością ptaków. Część misjonarzy zamieszkuje także w miastach, jednak przeważnie w bardzo ubogich dzielnicach. W porównaniu do tej grupy, wśród osób wyjeżdżających w celach turystycznych i zawodowych miejscem pobytu są w głównej mierze miasta. Wyjazdy takie wiążą się jednak najczęściej ze stałym przemieszczaniem się, w związku z czym przebywanie na terenach wiejskich, czy w dzielnicach biedoty (slumsy) nie należało do rzadkości. Podróżowanie po obszarach wiejskich okazało się statystycznie znamienne częstsze w populacji misjonarzy niż u osób wyjeżdżających w innych celach (test χ^2 , $P = 0,006$) oraz nie różniło się znacząco w przypadku odwiedzania dzielnic biedoty (test χ^2 , $P = 0,05$).

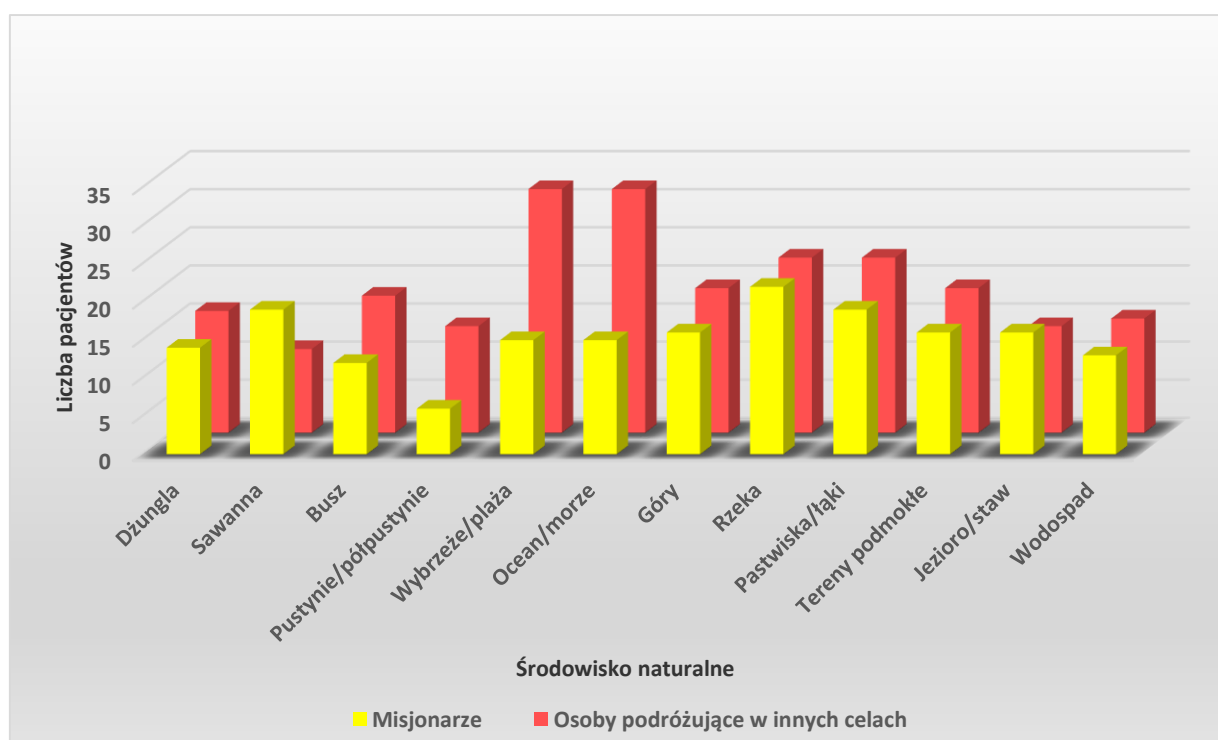


Ryc. 28. Porównanie miejsca pobytu podczas podróży międzynarodowych w grupie misjonarzy (n=42) i osób podróżujących w innych celach (n=46).

Pacjenci z podgrupy misjonarzy oraz pozostali podróżnicy przebywali w bardzo zbliżonym środowisku geograficzno – przyrodniczym. Podróż w celach turystyczno – rekreacyjnych zdecydowanie częściej była jednak związana z przebywaniem na wybrzeżu lub plaży nad morzem lub oceanem, co udokumentowano statystycznie (test χ^2 , $P = 0,000004$). Misjonarze częściej przebywali natomiast na terenie wilgotnej sawanny drzewiastej (test χ^2 , $P = 0,00003$), rzadziej na pustyniach lub półpustyniach (test χ^2 , $P < 0,000001$) (Ryc. 29).

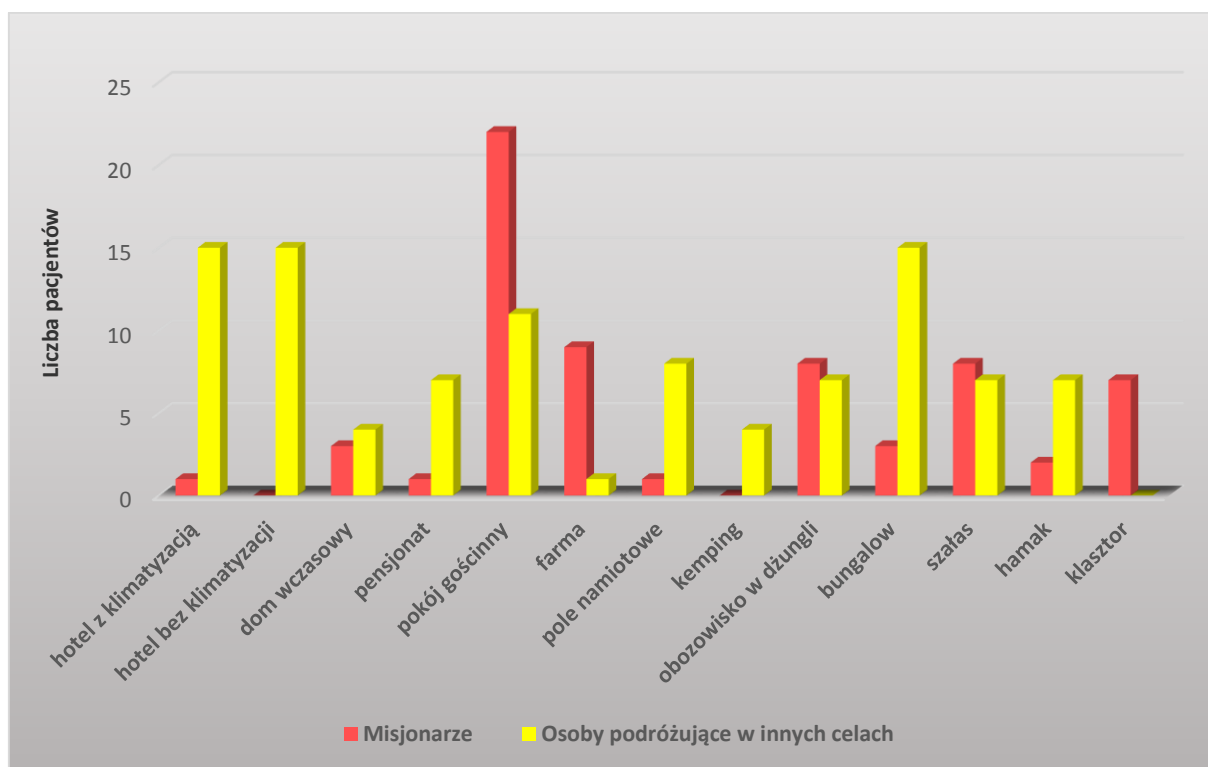
Warunki socjoekonomiczne pobytu również mogą stanowić czynnik ryzyka transmisji chorób tropikalnych, czy wektorowych. Szczególnie narażone są osoby przebywające w skromnych budynkach bez klimatyzacji, w szałasach, na polach namiotowych czy obozowiskach w dżungli. Grupa misjonarzy przebywała najczęściej w bardzo skromnych warunkach (pokój gościnny, farma, klasztor), bez dostępu do elektryczności i klimatyzacji. Osoby zakwalifikowane do tej podgrupy, niosąc pomoc w odległych wioskach, często nie mogły powrócić na noc do swojego ośrodka misyjnego. W związku z tym nocowały u miejscowej ludności w obozowiskach na terenie lasów deszczowych, czy w szałasach. Wśród osób podróżujących w celach zawodowych lub turystycznych przeważały natomiast dobre warunki pobytu – hotel z klimatyzacją, hotel bez klimatyzacji, czy pensjonat. Nie brakowało w tej grupie jednak osób, które przebywały w trudnych warunkach – na polach namiotowych, kempingach, czy w tropikalnych bungalowach (Ryc. 30). Misjonarze i wolontariusze znacząco

częściej korzystali z noclegu w pokoju gościnnym, czy na farmie niż osoby wyjeżdżające za granicę w innych celach (test χ^2 , odpowiednio $P = 0,00003$ oraz $P < 0,000001$), natomiast sporadycznie nocowali oni w hotelach i/lub pensjonatach (test χ^2 , $P = 0,00005$) oraz na polach namiotowych i/lub kempingowych (test χ^2 , $P = 0,01$). Natomiast zakwaterowanie w tropikalnym bungalowie okazało się statystycznie bardziej znamienne dla turystów (test χ^2 , $P = 0,0006$).

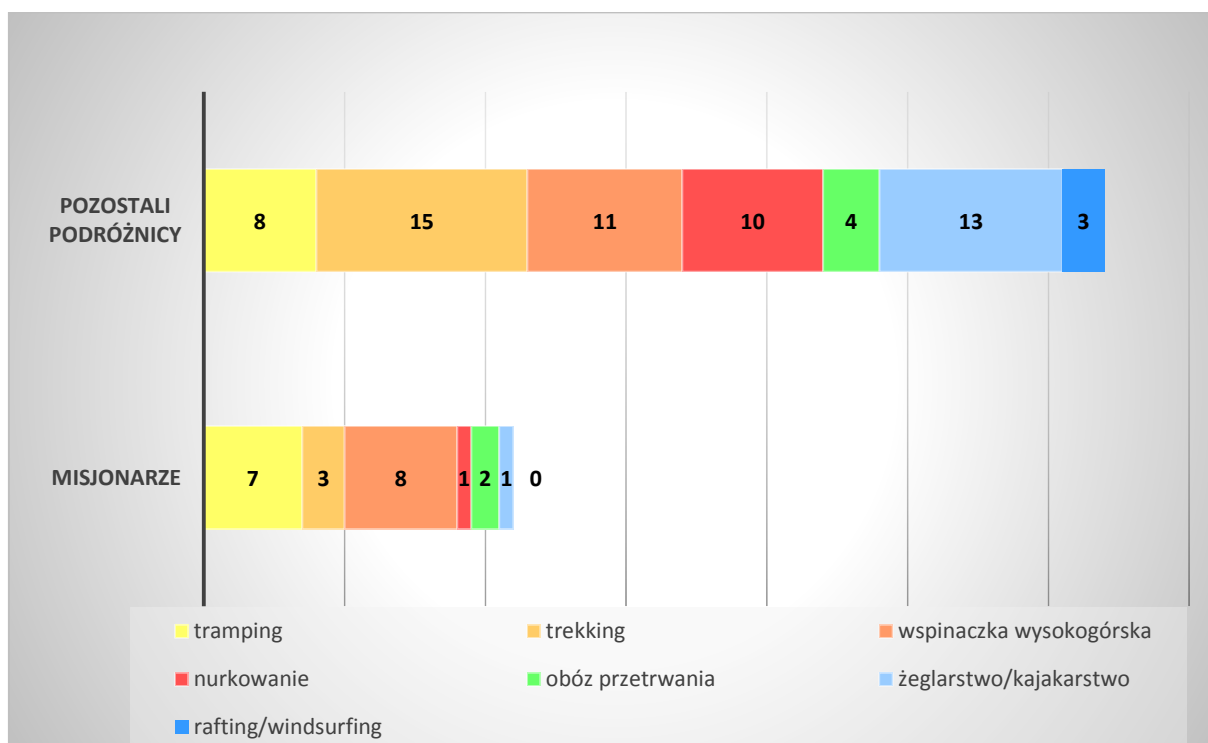


Ryc. 29. Porównanie naturalnego środowiska przyrodniczego, w jakim przebywali podczas podróży zagranicznej misjonarze (n=42) i osoby podróżujące w innych celach (n=46).

Osoby przebywające w ośrodkach misyjnych w odległych krajach zdecydowanie rzadziej uprawiały sport niż osoby podróżujące w celach turystycznych czy zawodowych, ale nie była to różnica znamienne statystycznie (test χ^2 , $P = 0,1$). Związane jest to przede wszystkim z ogromem codziennej pracy i odmiennym charakterem działalności, z jaką zmagają się misjonarze. Celem podróży wielu osób wyjeżdżających z Polski na wycieczki turystyczne jest uprawianie sportu, szczególnie trekkingu, wspinaczki wysokogórskiej, czy żeglarstwa lub kajakarstwa. Obrazuje to rycina 31.

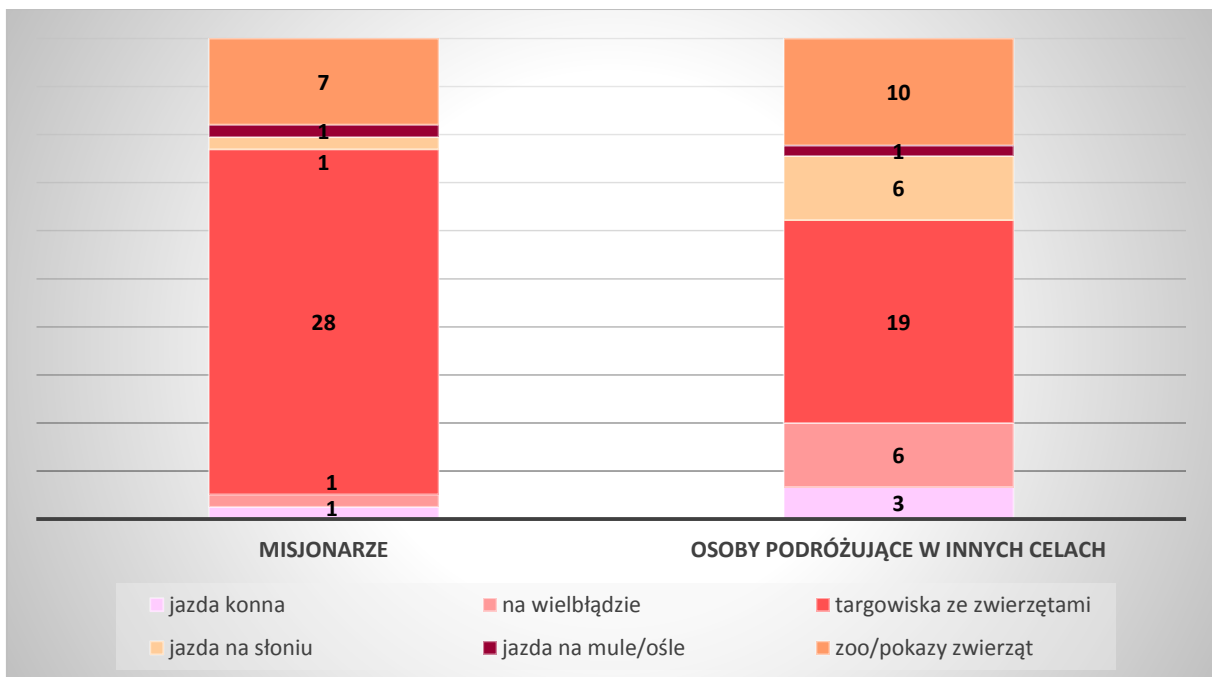


Ryc. 30. Porównanie warunków socjoekonomicznych pobytu pacjentów z grupy misjonarzy (n=42) i osób podróżujących w innych celach (n=46).



Ryc. 31. Porównanie rodzaju aktywności sportowej uprawianej podczas pobytu na wyjeździe zagranicznym w grupie misjonarzy (n=42) i wśród turystów podróżujących w innych celach (n=46).

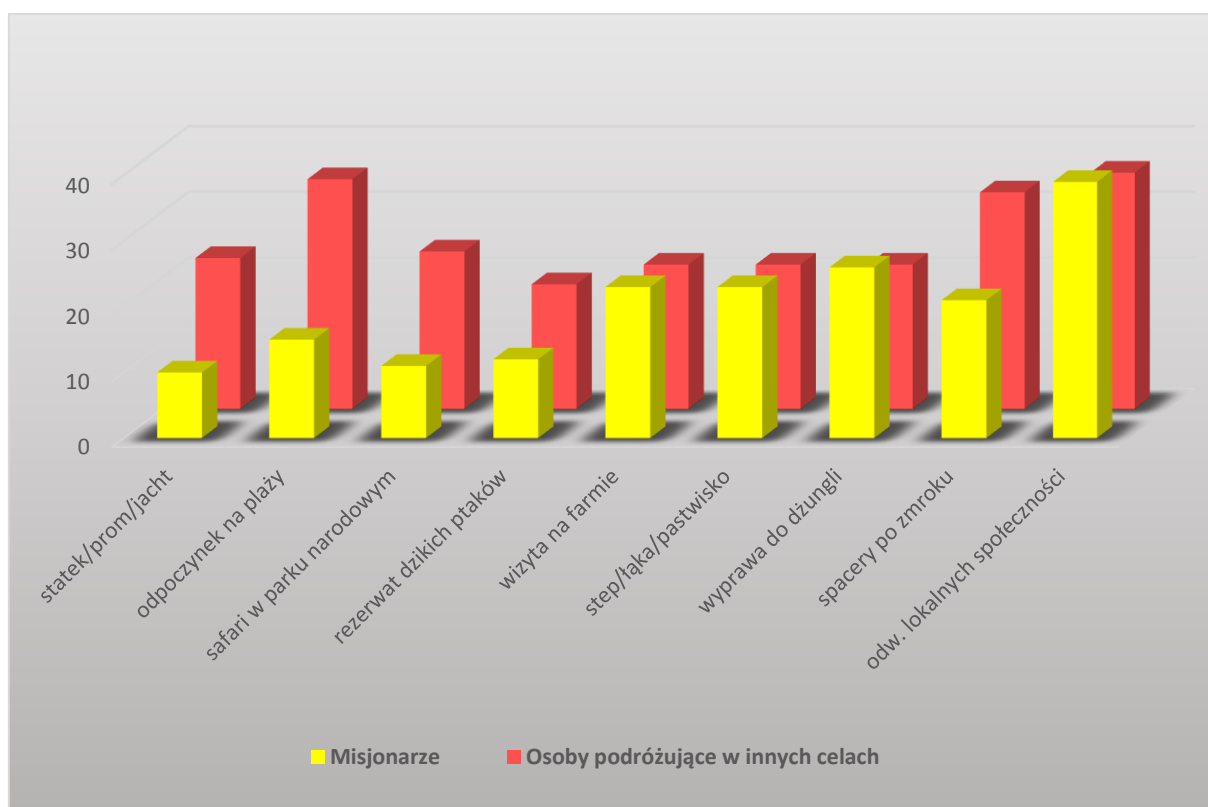
Kontakt ze zwierzętami w wielu sytuacjach predysponuje do występowania częstych ukłuc komarów. Celowy kontakt z przedstawicielami tropikalnej fauny obserwowany był najczęściej w grupie osób podróżujących w celach turystycznych czy zawodowych, gdzie jazda na wielbłądzie, słoniu lub jazda konna stanowią doskonałą rozrywkę i atrakcję turystyczną (Ryc. 32). Misjonarze statystycznie zdecydowanie częściej odwiedzali miejscowe targowiska uliczne z żywymi zwierzętami (test χ^2 , $P = 0,001$), ale w przeciwieństwie do turystów jedynie sporadycznie korzystali z przejażdżki na wielbłądzie lub słoniu (test χ^2 , dla obu kategorii $P = 0,04$).



Ryc. 32. Porównanie rodzaju kontaktu ze zwierzętami podczas podróży zagranicznej w grupie misjonarzy (n=42) i osób podróżujących w innych celach (n=46).

Czynności rekreacyjne, które w mniejszym lub większym stopniu narażały pacjentów na wystąpienie ukłuc komarów obserwowane były częściej w grupie osób wyjeżdżających w celach turystycznych oraz zawodowych. Najczęściej zgłaszaną aktywnością okazał się odpoczynek na plaży, odwiedzanie lokalnych społeczności, czy spacer po zachodzie słońca. Do czynności rekreacyjnych często obserwowanych wśród turystów należały także wyjazdy o charakterze safari do parku narodowego i rezerwatu przyrody, wyprawa do dżungli, wycieczka statkiem, jachtem lub motorówką oraz wizyta na farmie, czy w gospodarstwie rolnym. Najrzadziej zgłaszano wizytę w rezerwach dzikich ptaków. W grupie misjonarzy najczęściej obserwowano odwiedzanie lokalnych społeczności, co ściśle związane jest z celem

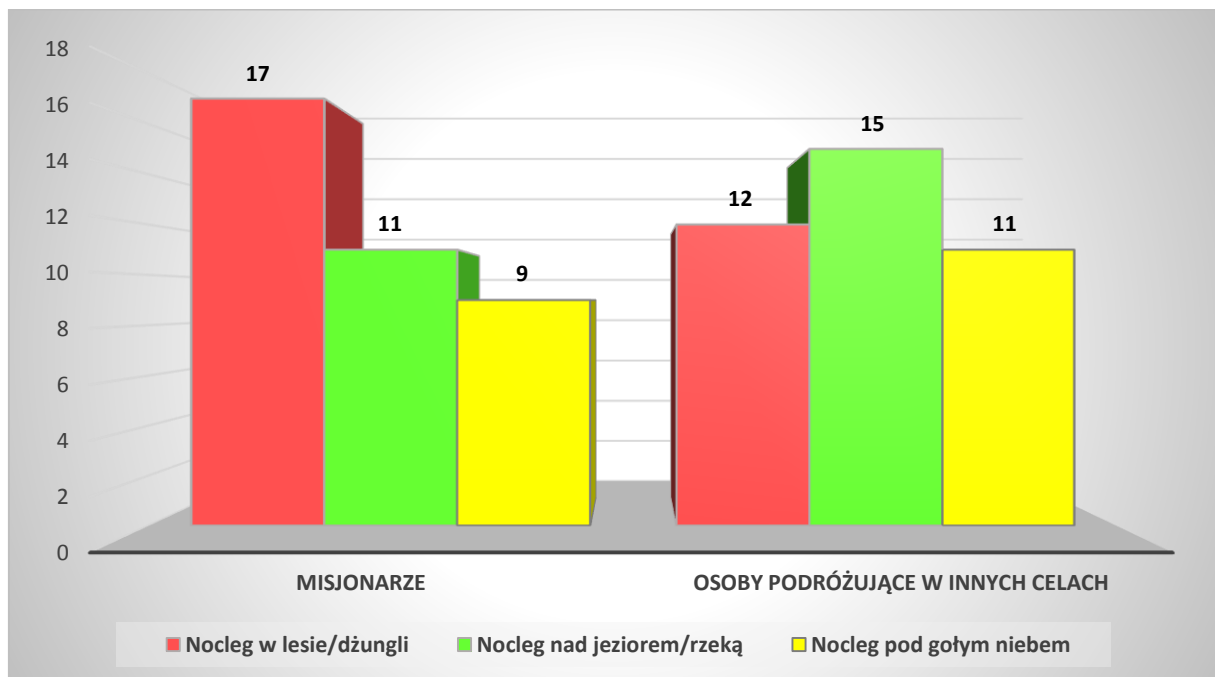
pobytu tej grupy w odległych zakątkach świata. Czynności rekreacyjne obserwowane dość często to przede wszystkim wyprawa do dżungli, pobyt na stepie, łące lub pastwisku, wizyta na farmie lub w gospodarstwie rolnym oraz spacery po zmroku. Do czynności rekreacyjnych najrzadziej zgłaszanych przez polskich misjonarzy należał odpoczynek na plaży, wycieczka statkiem, jachtem lub motorówką, safari w parku narodowym lub rezerwacie dzikich ptaków. Porównanie zgłaszanych przez obie podgrupy czynności rekreacyjnych występujących podczas podróży zagranicznej obrazuje rycina 33. Odpoczynek na tropikalnej lub śródziemnomorskiej plaży oraz wycieczki po zachodzie słońca były statystycznie istotnie częściej obserwowane wśród turystów niż w grupie misjonarzy (test χ^2 , odpowiednio $P < 0,000001$ oraz $P = 0,002$). Podobnie znamienne różnice potwierdzono w obu badanych podgrupach w przypadku podróży jachtem, statkiem lub promem oraz wypraw do parków narodowych i rezerwatów przyrody o charakterze safari (test χ^2 , dla obu kategorii $P = 0,001$).



Ryc. 33. Porównanie rodzaju czynności rekreacyjnych wykonywanych podczas podróży zagranicznej w grupie misjonarzy (n=42) i osób podróżujących w innych celach (n=46).

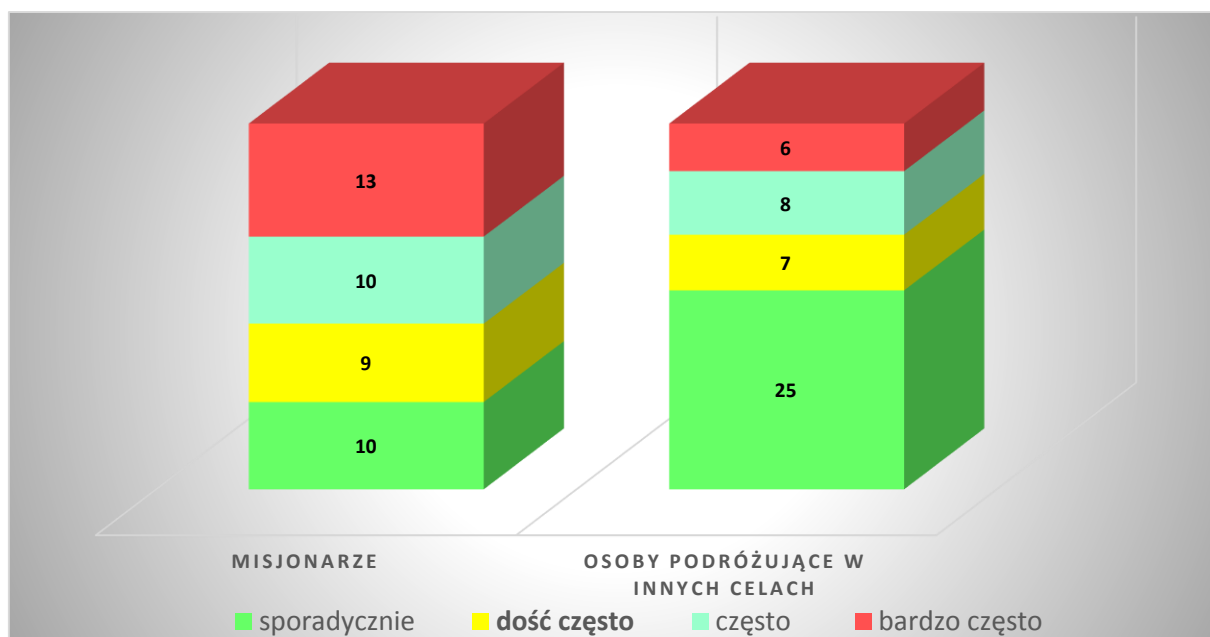
Czynnikiem predysponującym do wystąpienia licznych ukłuc komarów była także lokalizacja miejsca noclegowego. Misjonarze najczęściej nocowali w dżungli tropikalnej czy lesie deszczowym, najrzadziej natomiast pod gołym niebem. Grupa turystów najczęściej

nocowała w pobliżu jeziora lub rzeki, a z podobną częstotliwością w lesie lub dżungli oraz pod gołym niebem, co przedstawia rycina 34. Wykazano istotnie znamienne różnice w zakresie organizowania noclegu w lesie tropikalnym lub dżungli (test χ^2 , $P = 0,03$), natomiast obserwowane rozbieżności w zakresie nocowania nad jeziorem lub rzeką albo pod gołym niebem nie różniły się istotnie w obu podgrupach (test χ^2 , odpowiednio $P = 0,3$ oraz $P = 0,5$).



Ryc. 34. Środowisko przyrodnicze, w jakim znajdowało się miejsce noclegowe pacjentów z grupy misjonarzy (n=42) i osób podróżujących w innych celach (n=46).

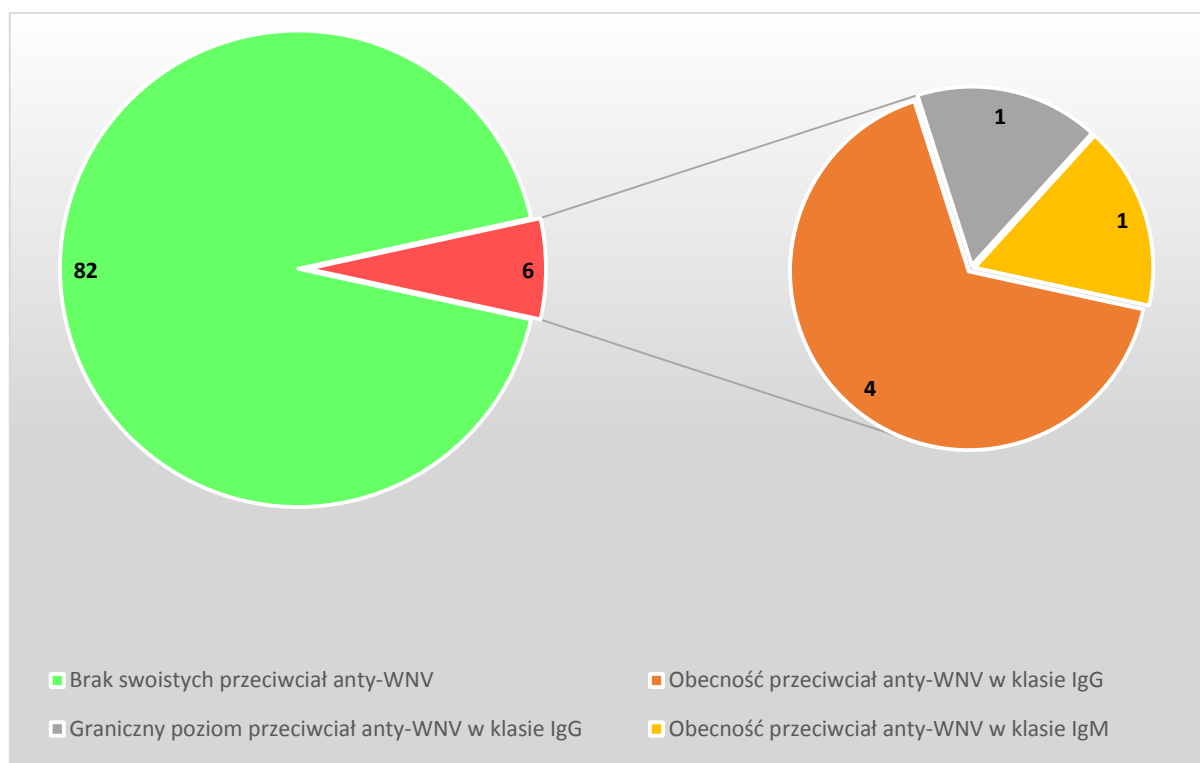
Obserwowana podczas podróży częstotliwość ukłuć komarów dość znacznie różniła się w obu podgrupach. Największa liczba misjonarzy obserwowała ukłucia komarów bardzo często (test χ^2 , $P = 0,001$). W grupie osób podróżujących w celach turystycznych lub zawodowych najczęściej obserwowano ukłucia komarów sporadycznie (test χ^2 , $P = 0,0001$) (Ryc. 35).



Ryc. 35. Porównanie częstotliwości ukłuc komarów obserwowanych w grupie misjonarzy (n=42) i innych kategoriach osób podróżujących (n=46).

4.2. Określenie częstości występowania swoistych przeciwciał IgM i IgG w kierunku wirusa Zachodniego Nilu u osób powracających do Polski z podróży międzynarodowych

Obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu stwierdzono u 6 spośród 88 pacjentów powracających do Polski z krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej, hospitalizowanych w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych w Poznaniu, co stanowi 68 pacjentów na 1000 osób podróżujących (zakres prawdopodobieństwa Bernoulliego: 25,4 – 142,5 na 1000 osób). Osoby ze stwierdzoną seropozytywnością w kierunku swoistych przeciwciał anti-WNV stanowiły 6,8% grupy badanej (Ryc. 36). U jednego pacjenta wykryto wysokie stężenie przeciwciał anti-WNV w klasie IgM (1,1% grupy badanej), co odpowiada 11 osobom na 1000 podróżujących do tropiku (zakres prawdopodobieństwa: 0,3 – 61,7 na 1000 osób). U 4 pacjentów uzyskano wysokie wartości przeciwciał w klasie IgG (4,5% grupy badanej), u jednej natomiast graniczny poziom przeciwciał IgG (1,1% grupy badanej), co stanowiło łącznie 57 przypadków na 1000 wyjeżdżających do krajów strefy gorącej (zakres prawdopodobieństwa: 18,7 – 127,6 na 1000 osób). Uzyskane wartości poziomu swoistych przeciwciał IgM i IgG u 6 pacjentów seropozytywnych w kierunku WNV zestawiono w Tabeli III.



Ryc. 36. Wyniki występowania swoistych przeciwciał IgM i IgG przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu wśród 88 pacjentów grupy badanej.

Tabela III.

Stężenia swoistych przeciwciał IgM i IgG w kierunku gorączki Zachodniego Nilu u 6 osób seropozytywnych powracających z krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej.

| L.p. | IgM | | | IgG | | |
|------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|
| | WNRA [OD] | NCA [OD] | Indeks | WNRA [OD] | NCA [OD] | Indeks |
| 1. | 0,543 | 0,055 | 9,873 (+) | 0,058 | 0,056 | 1,036 (-) |
| 2. | 0,060 | 0,057 | 1,056 (-) | 0,320 | 0,079 | 3,823 (+) |
| 3. | 0,093 | 0,077 | 1,208 (-) | 0,267 | 0,073 | 3,657 (+) |
| 4. | 0,060 | 0,057 | 1,053 (-) | 0,245 | 0,065 | 3,770 (+) |
| 5. | 0,122 | 0,100 | 1,220 (-) | 0,260 | 0,062 | 4,193 (+) |
| 6. | 0,076 | 0,053 | 1,434 (-) | 0,150 | 0,059 | 2,542 (±) |

Objaśnienia: (+) wynik dodatni, (±) wynik graniczny, (-) wynik ujemny.

4.2.1. Analiza stężenia swoistych przeciwciał IgM w kierunku wirusa Zachodniego Nilu w grupie osób podróżujących do krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej oraz w grupie kontrolnej

Wśród 88 pacjentów grupy badanej, powracających do Polski z obszarów odmiennej strefy klimatyczno-środowiskowej wartości indeksu testu immunoenzymatycznego (ELISA) wykrywającego swoiste przeciwciała IgM kierunku WNV wahały się w zakresie 0,915 – 9,873 (średnia $1,264 \pm 0,950$). Wartości odczytu gęstości optycznej (OD) w obecności antygeny wirusa Zachodniego Nilu (WNRA) wynosiły 0,055 – 1,309 (średnia $0,087 \pm 0,142$), natomiast w odniesieniu do antygeny komórek linii COS-1 (NCA) zawierały się one w przedziale 0,052 – 1,341 (średnia $0,073 \pm 0,137$).

Wśród 50 pacjentów grupy kontrolnej, niewyjeżdżających poza terytorium Polski wartości indeksu techniki immunoenzymatycznej (ELISA) wykrywającej swoiste przeciwciała IgM anty-WNV zawierały się w przedziale 0,983 – 1,825 (średnia $1,184 \pm 0,181$). Wartości absorbancji (OD) oznaczanych surowic w obecności antygeny wirusa Zachodniego Nilu WNRA wynosiły 0,057 – 0,120 (średnia $0,070 \pm 0,013$), a w odniesieniu do kontrolnego antygeny komórkowego NCA wahały się w zakresie 0,052 – 0,098 (średnia $0,060 \pm 0,008$).

Wartości indeksu dla kontrolnych surowic pozytywnych w klasie IgM, dołączonych do zestawu immunodiagnostycznego przez producenta, utrzymywały się na wysokim poziomie wynoszącym 12,029 – 14,221 (średnia $13,078 \pm 1,172$). Pomiar gęstości optycznej dla dodatnich surowic inkubowanych z antygenem wirusa WNRA wynosiły 0,799 – 0,967 (średnia $0,861 \pm 0,092$), natomiast w obecności kontrolnego antygeny komórek linii COS-1 osiągały one niskie poziomy w przedziale 0,066 – 0,069 (średnia $0,068 \pm 0,001$). Otrzymane wartości indeksu dla swoistych przeciwciał IgM w kierunku WNV nie różniły się znacząco w grupie osób podróżujących do krajów o klimacie tropikalnym i śródziemnomorskim oraz w grupie kontrolnej (test T-Studenta, $P = 0,4$).

Wartości indeksu dla kontrolnych surowic ujemnych w klasie IgM, kształtowały się w zakresie 1,082 – 1,211 (średnia $1,146 \pm 0,091$). Odczyty absorbancji surowic negatywnych w obecności antygeny WNRA wahały się na niskim poziomie 0,079 – 0,086 (średnia $0,082 \pm 0,005$), natomiast w odniesieniu do kontrolnego antygeny komórkowego NCA wynosiły one 0,071 – 0,073 (średnia $0,072 \pm 0,001$).

Uzyskane wartości gęstości optycznych oraz indeksów dla kontrolnych surowic pozytywnych i negatywnych w klasie IgM całkowicie spełniały kryteria producenta w zakresie poprawności wykonania procedury immunodiagnostycznej.

4.2.2. Analiza stężenia swoistych przeciwciał IgG w kierunku wirusa Zachodniego Nilu w grupie osób podróżujących do krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej oraz w grupie kontrolnej

Wśród 88 pacjentów grupy badanej, powracających do Polski z obszarów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej wartości indeksu dla testu immunoenzymatycznego (ELISA) wykrywającego swoiste przeciwciała IgG w kierunku WNV wahały się w zakresie 0,823 – 4,193 (średnia $1,243 \pm 0,644$). Odczyty absorbancji (OD) dla surowic inkubowanych z antygenem wirusa Zachodniego Nilu zawierały się w przedziale 0,053 – 0,302 (średnia $0,078 \pm 0,045$), a w obecności antygeny komórkowego COS-1, niezawierającego WNV wynosiły one 0,054 – 0,082 (średnia $0,062 \pm 0,005$).

W grupie 50 pacjentów grupy kontrolnej, niewyjeżdżających poza terytorium Polski wartości indeksu metody immunoenzymatycznej (ELISA) wykrywającej swoiste przeciwciała IgG anty-WNV zawierały się w przedziale 0,879 – 2,010 (średnia $1,069 \pm 0,217$). Podczas inkubacji surowic z antygenem WNV uzyskano wartości gęstości optycznej (OD) wynoszące 0,051 - 0,143 (średnia $0,067 \pm 0,016$), natomiast w obecności kontrolnego antygeny komórkowego osiągały one poziom 0,053 – 0,103 (średnia $0,063 \pm 0,009$). Uzyskane wyniki indeksu dla swoistych przeciwciał IgG w kierunku WNV różniły się istotnie statystycznie w grupie osób podróżujących do krajów o klimacie gorącym oraz w grupie kontrolnej (test T-Studenta, $P = 0,02$).

Wartości indeksu kontrolnych surowic pozytywnych dla przeciwciał IgG anty - WNV dostarczonych do zestawu przez producenta kształtowały się w zakresie 5,170 – 5,623 (średnia $5,396 \pm 0,320$). Wartości gęstości optycznej kontroli pozytywnych w obecności antygeny WNV wynosiły 0,274 – 0,298 (średnia $0,286 \pm 0,017$), natomiast w odniesieniu do antygeny komórkowego utrzymywały się one na stałym poziomie 0,053 - 0,054 (średnia $0,053 \pm 0,001$).

Wartości indeksu kontrolnych surowic negatywnych dla swoistych przeciwciał IgG wahały się w przedziale 0,936 – 1,017 (średnia $0,976 \pm 0,057$). Wartości absorbancji dla pomiarów uzyskanych w obecności antygeny WNV zawierały się w zakresie 0,058 – 0,059

(średnia $0,058 \pm 0,001$), natomiast po inkubacji z kontrolnym antygenem komórkowym COS-1 wynosiły one $0,057 - 0,063$ (średnia $0,060 \pm 0,004$).

Otrzymane wartości gęstości optycznych oraz indeksów dla kontrolnych surowic pozytywnych i negatywnych w klasie IgG w pełni spełniały wymagania producenta w zakresie poprawności wykonania procedury badawczej.

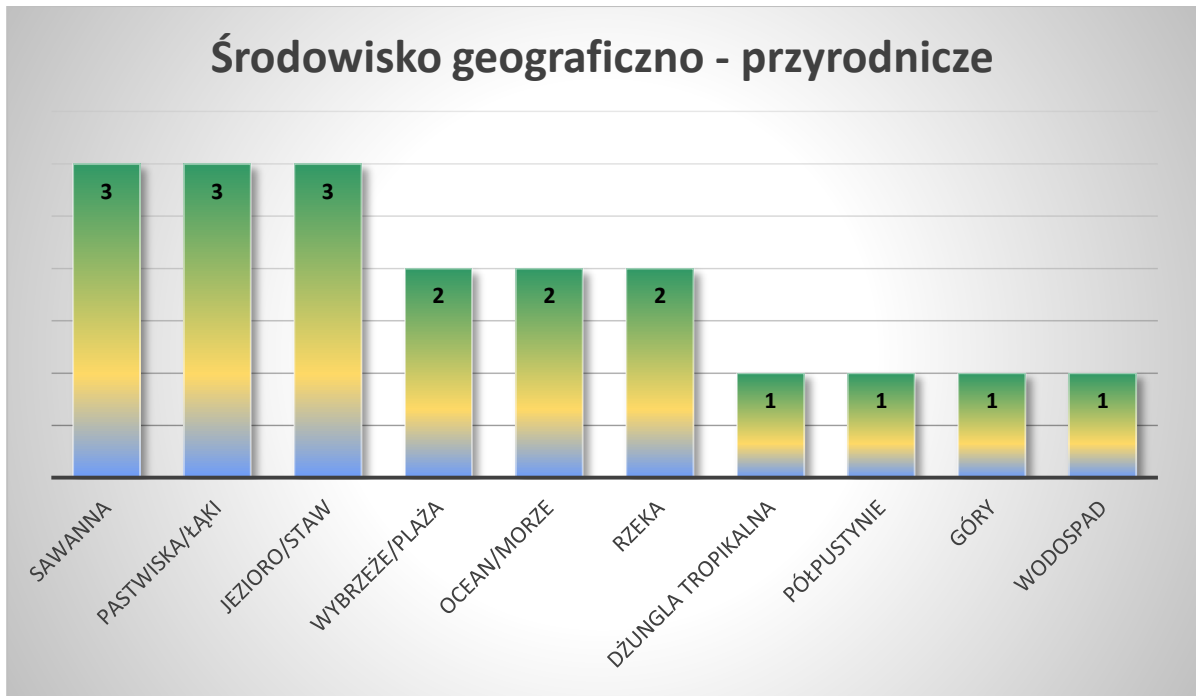
4.3. Analiza potencjalnych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu wśród osób seropozytywnych powracających z krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej

Najwięcej pacjentów z zakażeniem wirusem Zachodniego Nilu stwierdzonym badaniami immunodiagnostycznymi powracało z kontynentu afrykańskiego ($n=4$), gdzie najliczniejsze były przypadki importowane z Afryki Zachodniej ($n=2$), natomiast pojedyncze zostały zawleczone z Afryki Środkowej ($n=1$) oraz Wschodniej ($n=1$). Pozostałe przypadki zakażenia wirusem Zachodniego Nilu stwierdzono u osób powracających z Eurazji ($n=1$) oraz kontynentu australijskiego ($n=1$). Krajami docelowymi podróży, z których importowano do Polski przypadki zakażenia WNV były Benin ($n=2$), Republika Środkowej Afryki ($n=1$), Madagaskar ($n=1$), Rosja ($n=1$) oraz Australia ($n=1$) (Ryc. 37).

W grupie sześciu osób w wieku od 27 do 59 lat (średnio 43,5 lat), u których stwierdzono zakażenie wirusem Zachodniego Nilu po powrocie z podróży międzynarodowej było pięciu mężczyzn oraz jedna kobieta. Celem podróży tych pacjentów były praca duszpasterska i humanitarna w ośrodkach misyjnych ($n=4$) oraz wyjazd w innych celach zawodowych ($n=2$). Wszyscy pacjenci z wykazaną seropozytywnością w kierunku WNV przebywali na wyjazdach długoterminowych, a czas ich pobytu wynosił od 18 do 36 miesięcy (średnio 26 miesięcy). Osoby te podczas swojego wyjazdu przebywały w bardzo różnorodnym otoczeniu, a środowiskiem geograficznym – przyrodniczym najczęściej odwiedzanym przez pacjentów z wykazaną obecnością swoistych przeciwciał anti-WNV były sawanna, pastwiska, czy bliskie otoczenie jeziora lub innego zbiornika wodnego (Ryc. 38).



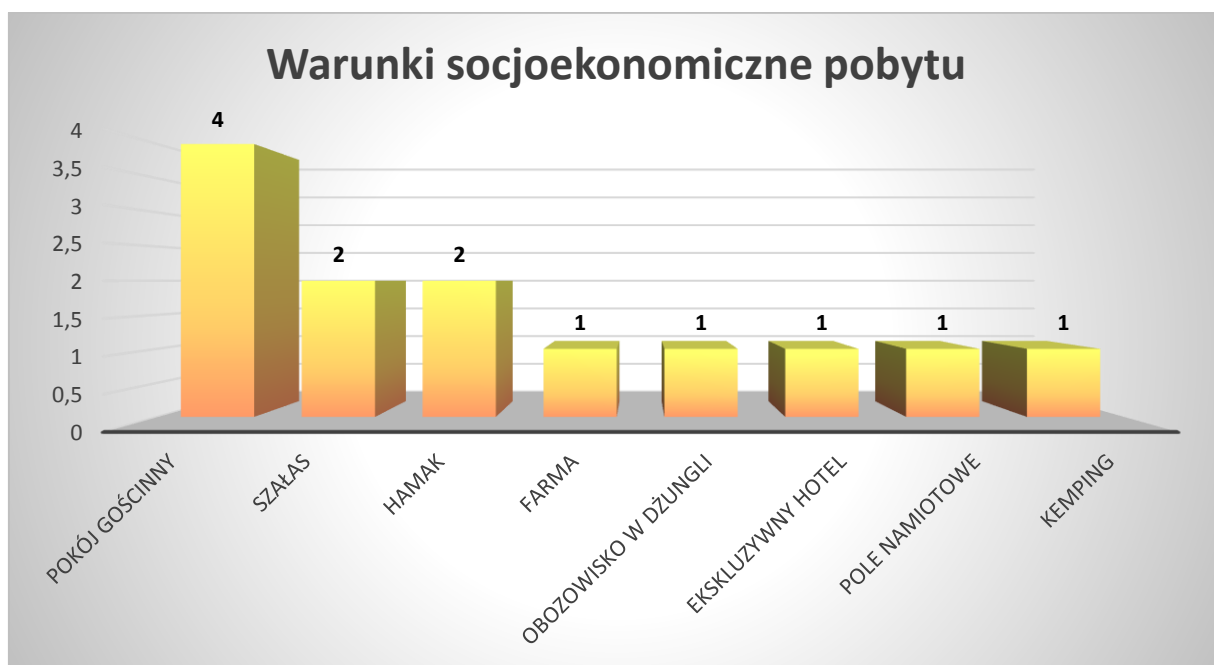
Ryc. 37. Rozmieszczenie geograficzne docelowego miejsca pobytu 6 podróżujących pacjentów, u których wykryto obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu.



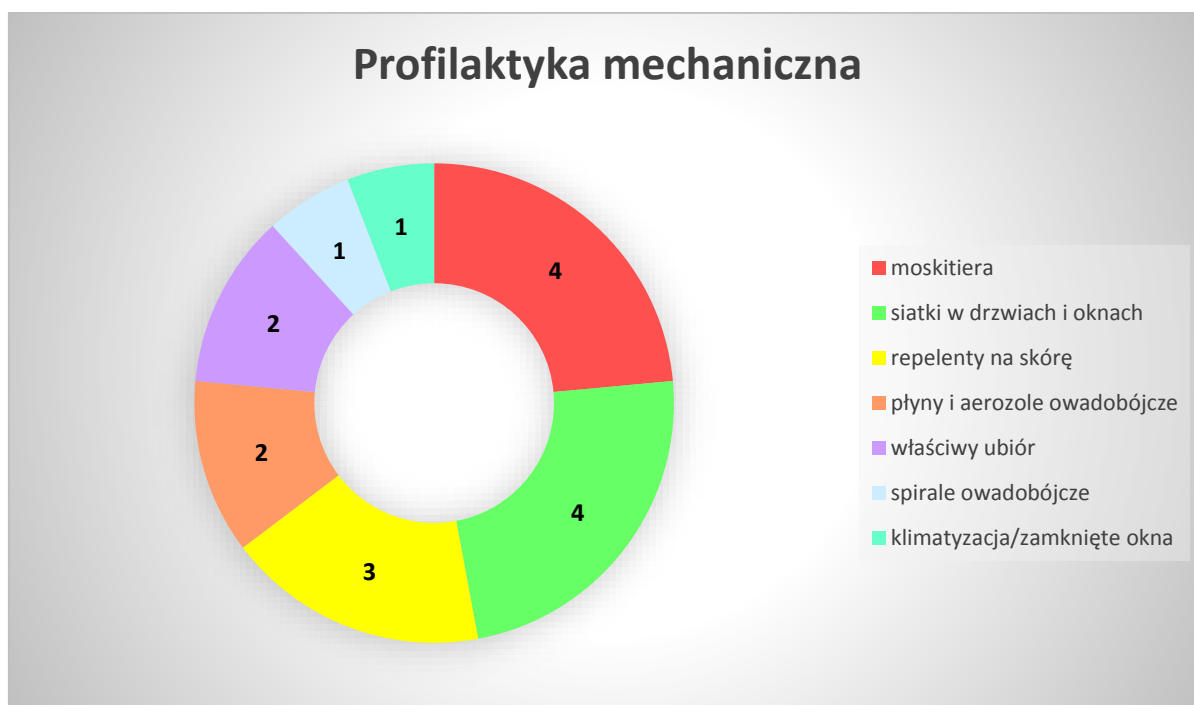
Ryc. 38. Środowisko geograficzno – przyrodnicze, w którym przebywało 6 podróżujących pacjentów ze stwierdzoną obecnością swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu.

Warunki socjoekonomiczne pobytu różniły się nieco wśród pacjentów, u których potwierdzono zakażenie wirusem (Ryc. 39). W grupie misjonarzy przeważały warunki skromne (pokój gościnny lub farma), a podczas odwiedzania lokalnych społeczności dodatkowo konieczne było przebywanie w szałasie, czy w obozowisku na terenie dżungli. Kobieta przebywająca w Australii w celach służbowych mieszkała w pokoju gościnnym, a następnie odbyła podróż turystyczną do Indonezji i Tajlandii, podczas której nocowała na polu namiotowym i kempingowym. Mężczyzna podróżujący do Rosji w celach służbowych deklarował przebywanie w hotelu z klimatyzacją podczas swojego pobytu. Pacjent ten jednocześnie zgłaszał wielokrotne podróże o charakterze turystycznym, podczas których nocował także w miejscach o niższym standardzie.

Wszyscy pacjenci z potwierdzonym zakażeniem wirusem Zachodniego Nilu przebywali na obszarach o wysokiej liczebności populacji komarów. Jedna osoba obserwowała ukłucia owadów sporadycznie, dwie osoby dość często, jedna osoba często, a dwie osoby bardzo często. Podczas swoich wyjazdów międzynarodowych stosowali oni różnorodne, mechaniczne środki chroniące przed ukłuciami komarów zestawione na rycinie 40. Czterech spośród 6 pacjentów używało więcej niż jednej metody w zakresie profilaktyki mechanicznej.



Ryc. 39. Warunki socjoekonomiczne w jakich przebywało 6 podróżujących pacjentów z potwierdzonym zakażeniem wirusem Zachodniego Nilu.



Ryc. 40. Mechaniczne środki ochrony przeciwko ukłuciami komarów stosowane przez 6 podróżujących pacjentów z wykazaniem zakażeniem wirusem Zachodniego Nilu.

4.4. Analiza dolegliwości chorobowych i objawów klinicznych występujących u pacjentów grupy badanej powracających z krajów strefy międzyzwrotnikowej i subtropikalnej

Do objawów klinicznych najczęściej obserwowanych wśród 88 pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej, którzy powracali z podróży do krajów odmiennej strefy klimatyczno-środowiskowej i sanitarno-higienicznej należały: gorączka, dreszcze, znaczne osłabienie ogólne, bóle głowy oraz bóle mięśni. Ze średnią częstotliwością zgłaszano stany podgorączkowe, wzmożoną potliwość, brak apetytu, bóle i obrzęki stawów, kaszel, ból gardła oraz bóle brzucha, nudności lub wymioty. Najrzadziej obserwowanymi objawami klinicznymi w badaniu przedmiotowym były: wysypka skórna, uogólnione lub lokalne powiększenie węzłów chłonnych, cechy zapalenia spojówek oraz objawy neurologiczne (zaburzenia świadomości, utrata pamięci, objawy oponowe, zmiany osobowości, wygórowane odruchy ścięgniste, osłabienie siły mięśniowej, urojenia i halucynacje, zaburzenia widzenia) (Tabela IV).

4.5. Charakterystyka dolegliwości chorobowych i objawów klinicznych występujących u osób seropozytywnych w kierunku wirusa Zachodniego Nilu, powracających z krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej

Do charakterystycznych objawów klinicznych najczęściej zgłaszanych przez 6 podróżujących pacjentów z wykazaną obecnością swoistych przeciwciał przeciwko WNV należały: gorączka, dreszcze, bóle głowy, znaczne osłabienie ogólne, wzmożona potliwość oraz objawy neurologiczne. Połowa pacjentów z zakażeniem WNV obserwowała u siebie stany podgorączkowe, bóle mięśni, ból gardła i brak apetytu. Najrzadziej obserwowano kaszel, zapalenie spojówek, bóle brzucha, nudności i/lub wymioty, wysypkę skórą, bóle stawów oraz limfadenopatię. 82 pacjentów zgłaszało występowanie więcej niż jednego objawu klinicznego charakterystycznego dla zakażenia wirusem Zachodniego Nilu (93%) (Tabela V).

U pacjentów seropozytywnych w kierunku wirusa Zachodniego Nilu objawy gorączki lub stany podgorączkowe występowały statystycznie znacznie częściej niż w całej próbie populacji osób powracających z krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej (test χ^2 , $P = 0,0000001$). Podobnie, bóle głowy i/lub objawy neurologiczne były obserwowane u pacjentów zakażonych WNV zdecydowanie częściej niż w badanej próbie osób podróżujących do obszarów strefy gorącej (test χ^2 , $P < 0,000001$). Statystycznie znamiennej różnicę wykazano również w zakresie objawu wzmożonej potliwości zgłaszanego przede wszystkim przez osoby posiadające przeciwciała anti-WNV (test χ^2 , $P = 0,00002$). Osłabienie ogólne i uczucie zmęczenia nie występowało znacząco częściej u pacjentów zakażonych WNV w porównaniu do badanej populacji wszystkich osób powracających z wyjazdów międzynarodowych (test χ^2 , $P = 0,1$).

Tabela IV.

Objawy kliniczne występujące w grupie 88 pacjentów powracających z krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej.

| Obserwowany objaw kliniczny | Liczba pacjentów zgłaszających objaw (n) | Odsetek procentowy pacjentów (%) |
|--------------------------------------|---|---|
| Oslabienie ogólne | 74 | 84 |
| Bóle głowy | 65 | 74 |
| Gorączka | 58 | 66 |
| Dreszcze | 57 | 65 |
| Bóle mięśni | 50 | 57 |
| Wzmoczona potliwość | 49 | 56 |
| Bóle stawów | 43 | 49 |
| Stany podgorączkowe | 42 | 48 |
| Brak apetytu | 42 | 48 |
| Kaszel | 39 | 44 |
| Ból gardła | 37 | 42 |
| Nudności i/lub wymioty | 34 | 39 |
| Wysypka skórna | 26 | 30 |
| Powiększenie węzłów chłonnych | 24 | 27 |
| Objawy neurologiczne | 24 | 27 |
| Zapalenie spojówek | 17 | 19 |

Tabela V.

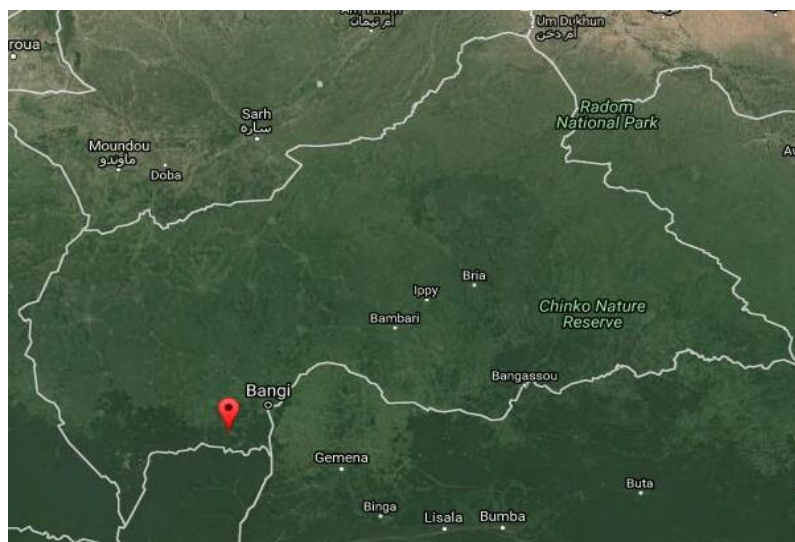
Objawy kliniczne występujące u 6 pacjentów ze stwierdzoną obecnością swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu po powrocie z podróży zagranicznej.

| Obserwowany objaw kliniczny | Liczba pacjentów zgłaszających objaw (n) | Odsetek procentowy pacjentów (%) |
|--------------------------------------|---|---|
| Oslabienie ogólne | 6 | 100 |
| Wzmoczona potliwość | 5 | 83 |
| Bóle głowy | 4 | 67 |
| Gorączka | 4 | 67 |
| Dreszcze | 4 | 67 |
| Objawy neurologiczne | 4 | 67 |
| Stany podgorączkowe | 3 | 50 |
| Bóle mięśni | 3 | 50 |
| Brak apetytu | 3 | 50 |
| Ból gardła | 3 | 50 |
| Kaszel | 2 | 33 |
| Zapalenie spojówek | 2 | 33 |
| Nudności i/lub wymioty | 2 | 33 |
| Bóle stawów | 2 | 33 |
| Wysypka skórna | 1 | 17 |
| Powiększenie węzłów chłonnych | 1 | 17 |

4.6. Szczegółowa analiza epidemiologiczno – kliniczna pacjentów seropozytywnych w kierunku wirusa Zachodniego Nilu, powracających do Polski z krajów strefy międzyzwrotnikowej i subtropikalnej

Pacjent nr 1: 33-letni mężczyzna, wykryta obecność swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu w klasie IgM.

Mężczyzna przebywał przez okres 22 miesięcy w ośrodku misyjnym w wiosce Bagandou w południowej części Republiki Środkowej Afryki. Wartość indeksu testu immunoenzymatycznego dla swoistych przeciwciał IgM przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu była u niego bardzo wysoka i wynosiła 9,873 (wynik dodatni), natomiast dla swoistych przeciwciał IgG uzyskano wartość indeksu na poziomie 1,036 (wynik ujemny). Mężczyzna hospitalizowany był w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych w Poznaniu z powodu objawów klinicznych, które pojawiły się jeszcze podczas pobytu w tropiku, kilka dni przed wylotem do Polski. Pacjent stwierdził występowanie wysokiej gorączki (39°C), znacznego osłabienia ogólnego, wzmożonej potliwości, zapalenia spojówek oraz nudności. Podczas pobytu w Klinice u misjonarza wykluczono malarię oraz zakażenie wirusem dengi. Przed wyjazdem do Afryki pacjent odbył szczepienie ochronne w kierunku żółtej gorączki.



Ryc. 41. Położenie geograficzne wioski Bagandou w Republice Środkowej Afryki.

Wioska Bagandou położona jest w bliskim sąsiedztwie rzeki Lobaye (Afryka Równikowa). Pacjent zgłaszał tylko sporadyczne ukłucia komarów oraz stosował mechaniczne środki

ochrony przed owadami. Pacjent spał pod moskitierą oraz posiadał siatki w drzwiach i oknach. Dodatkowo stosował także płyny i aerozole owadobójcze rozpylane w powietrzu oraz repelenty na skórę. Mężczyzna przestrzegał zasad stosowania właściwego ubioru po zachodzie słońca.

Misjonarz zamieszkiwał na farmie na bardzo ubogich terenach wiejskich. Przebywał także w innych gospodarstwach rolnych oraz odwiedzał lokalne społeczności. W wolnym czasie zajmował się fotografowaniem przyrody oraz obserwacją zwierząt w ich naturalnym środowisku. Odwiedzał również targowiska z żywymi zwierzętami.

Pacjent nr 2: 59-letni mężczyzna, wykryta obecność swoistych przeciwciał w kierunku wirusa zachodniego Nilu w klasie IgG.

Mężczyzna hospitalizowany był w Klinice celem przeprowadzenia rutynowych badań kontrolnych po powrocie z misji katolickiej. Pacjent przebywał przez 18 miesięcy na Madagaskarze (Afryka). Wartość indeksu testu immunoenzymatycznego (ELISA) dla swoistych przeciwciał IgG przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu wynosiła u niego 3,823 (wynik dodatni), natomiast dla przeciwciał IgM anty-WNV uzyskano wartość 1,056 (wynik ujemny). Podczas pobytu na wyspie mężczyzna obserwował u siebie bóle głowy, osłabienie ogólne oraz wzmożoną potliwość. Pacjent nie był szczepiony w kierunku żółtej gorączki i nigdy nie chorował na malarię.

Mężczyzna przebywał na zachodnim wybrzeżu Madagaskaru na wiejskich terenach w pobliżu miasta Morombe. Ukłucia komarów obserwował u siebie bardzo często, pomimo stosowanej profilaktyki mechanicznej (moskitiera, siatki w drzwiach i oknach, spirale owadobójcze, właściwy ubiór po zachodzie słońca). Pacjent nocował w pokoju gościnnym na terenie ośrodka misyjnego, jednak podczas odwiedzania lokalnych społeczności konieczne było również nocowanie pod gołym niebem, w szałasie, hamaku oraz rozbicie obozowiska w lesie. W wolnych chwilach mężczyzna przebywał nad brzegiem Oceanu Indyjskiego, fotografował przyrodę, obserwował zwierzęta w ich naturalnym środowisku oraz pokonywał pieszo znaczne odległości (tramping).



Ryc. 42. Położenie geograficzne miasta Morombe na Madagaskarze.

Pacjent nr 3: 58-letni mężczyzna, wykryta obecność swoistych przeciwciał w kierunku wirusa zachodniego Nilu w klasie IgG.

Mężczyzna przebywał przez okres 36 miesięcy w ośrodku misyjnym w Beninie (Afryka Zachodnia). Wartość indeksu testu immunoenzymatycznego dla swoistych przeciwciał IgG przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu wynosiła u pacjenta 3,657 (wynik dodatni), natomiast dla swoistych przeciwciał IgM uzyskano poziom 1,208 (wynik ujemny). W trakcie swojego pobytu w tropiku misjonarz wielokrotnie obserwował u siebie występowanie gorączki, bólów głowy, mięśni, stawów, ogólnego osłabienia, dreszczy, wzmożonej potliwości, czy braku apetytu. W chwili przyjęcia do Kliniki pacjent nie zgłaszał już żadnych dolegliwości chorobowych. Dodatkowo w lipcu 2014 roku u chorego pojawił się około dwutygodniowy epizod podwójnego widzenia. Podczas pobytu w Klinice u pacjenta wykluczono malarię oraz zakażenie wirusem dengi. Przed wyjazdem do Afryki misjonarz otrzymał obowiązkowe szczepienie ochronne w kierunku żółtej gorączki.



Ryc. 43. Położenie geograficzne miejscowości Biro w Beninie.

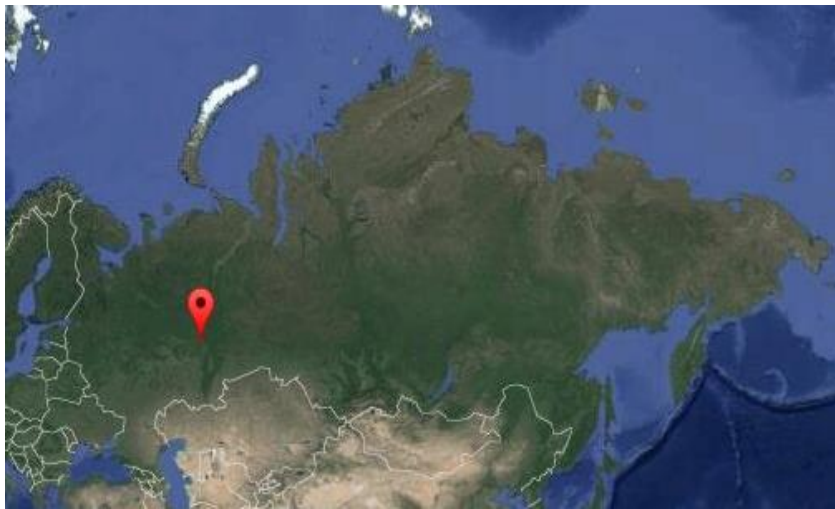
Mężczyzna zamieszkiwał w miejscowości Biro w departamencie N'Dali w centralnej części Beninu. Pacjent obserwował u siebie dość częste ukłucia komarów, a spośród środków mechanicznej ochrony stosował moskitierę do spania oraz siatki w drzwiach i oknach.

Misjonarz na co dzień nocował w pokoju gościnnym, a podczas odwiedzania lokalnych społeczności także w szałasie. Podczas wielokrotnych pieszych wędrówek, czy jazdy konnej obserwował zwierzęta w środowisku naturalnym. Ponadto odwiedzał także targowiska z żywymi zwierzętami.

Pacjent nr 4: 30-letni mężczyzna, obecność swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu w klasie IgG.

Mężczyzna przebywał przez okres 36 miesięcy na wyjeździe służbowym w Rosji, w mieście Perm położonym na rzece Kamą. W tym czasie odbywał także wielokrotne wycieczki o charakterze turystycznym, m.in. nad Morze Kaspijskie. Przebywał także w celach zawodowych w Wołgogradzie. Wartość indeksu testu immunoenzymatycznego dla swoistych przeciwciał IgG w kierunku wirusa Zachodniego Nilu wynosiła 3,770 (wynik dodatni), natomiast dla swoistych przeciwciał IgM jego wartość osiągała poziom 1,053 (wynik ujemny). Podczas pobytu w Rosji pacjent obserwował u siebie wystąpienie wysokiej gorączki, dreszczy, ogólnego osłabienia, zapalenia spojówek oraz zawrotów głowy. Przebywając w Eurazji mężczyzna dość często obserwował u siebie ukłucia komarów i nie stosował mechanicznej

profilaktyki przed owadami. Pacjent nie podróżował do rejonów endemicznego występowania żółtej gorączki i dengi.



Ryc. 44. Położenie geograficzne miasta Perm w Rosji.

Pacjentka nr 5: 27-letnia kobieta, obecność swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu w klasie IgG.

Kobieta przebywała przez okres 24 miesięcy w Australii, gdzie pracowała w laboratorium chemicznym w Melbourne (południowo-wschodnie wybrzeże). Kończąc swój pobyt zawodowy, pacjentka odbyła dodatkowo 10-dniowy wyjazd wypoczynkowy do Indonezji i Tajlandii. Wartość indeksu techniki immunoenzymatycznej (ELISA) dla swoistych przeciwciał IgG przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu wynosiła u niej 4,193 (wynik dodatni), natomiast dla swoistych przeciwciał IgM uzyskano wynik ujemny o wartości 1,220. W trakcie pobytu w Australii pacjentka zaobserwowała u siebie wystąpienie epizodu silnego bólu głowy oraz bólu mięśni, dreszczy, wzmożonej potliwości, kaszlu, braku apetytu, wysypki skórnej, powiększenia węzłów chłonnych oraz objawów neurologicznych, jak zawroty głowy, zaburzenia równowagi i problemy z koncentracją. Pacjentka nie przebywała w strefie endemicznego występowania żółtej gorączki, ani nie była szczepiona w kierunku japońskiego zapalenia mózgu.



Ryc. 45. Położenie geograficzne miasta Melbourne w Australii.

Pacjentka oprócz wykonywania czynności zawodowych, prowadziła aktywny tryb życia: nurkowała, żeglowała, odpoczywała na plaży, uprawiała windsurfing, kajakarstwo, trekking oraz wspinaczkę górską. Podczas wyjazdu turystycznego do Indonezji i Tajlandii eksplorowała jaskinie, oglądała dzikie zwierzęta w ich naturalnym środowisku oraz fotografowała przyrodę. Podczas pobytu w Azji stosowała skuteczną profilaktykę farmakologiczną w kierunku malarii. Pacjentka odwiedzała także lokalnych mieszkańców, spacerowała po zachodzie słońca, nocowała w lesie, nad jeziorem oraz pod gołym niebem na polu namiotowym, korzystała także z hamaka. Pacjentka podczas swojego pobytu w Australii często obserwowała u siebie ukłucia komarów, jednocześnie deklarując stosowanie repelentów na skórę.

Pacjent nr 6: 54-letni mężczyzna, graniczny poziom swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu w klasie IgG.

Pacjent przebywał przez okres 20 miesięcy w ośrodku misyjnym w Beninie (Afryka Zachodnia), gdzie zamieszkiwał w miejscowości Biro w departamencie N'Dali w centralnej części kraju. Wartość indeksu techniki immunoenzymatycznej (ELISA) dla swoistych przeciwciał IgG w kierunku wirusa Zachodniego Nilu wynosiła u niego 2,542 (wynik graniczny), natomiast dla swoistych przeciwciał IgM uzyskano wynik ujemny (indeks = 1,434). Powodem hospitalizacji pacjenta w Klinice było wykonanie podstawowych badań kontrolnych po powrocie z Afryki. Podczas przyjęcia pacjent nie zgłaszał niepokojących dolegliwości

chorobowych. W trakcie pobytu w Beninie u mężczyzny występowała gorączka, stany podgorączkowe, bóle głowy, mięśni i stawów, dreszcze, ogólne osłabienie, wzmożona potliwość, kaszel, nudności, brak apetytu oraz objawy neurologiczne – zawroty głowy i zaburzenia równowagi. Podczas hospitalizacji w Klinice u pacjenta wykluczono malarię oraz zakażenie wirusem dengi. Przed wyjazdem do Afryki pacjent odbył szczepienie ochronne w kierunku żółtej gorączki.

Polska misja mieściła się w niewielkiej wiosce położonej na sawannie. Pacjent podczas przebywania w ośrodku obserwował na skórze bardzo częste ukłucia komarów. Spośród metod mechanicznej ochrony przed owadami stosował moskitierę do spania, siatki w drzwiach i oknach oraz repelenty na skórę. Mężczyzna nocował tylko w pokoju gościnnym zlokalizowanym na terenie ośrodka misyjnego.

W początkowej fazie swojego pobytu w Afryce pacjent odbył wycieczkę turystyczną, podczas której odwiedził park narodowy oraz rezerwat dzikich ptaków na południu kraju. W trakcie pobytu w ośrodku misyjnym w Biro w wolnych chwilach obserwował zwierzęta w ich naturalnym środowisku i fotografował przyrodę. Podczas odwiedzania rdzennej ludności afrykańskiej pacjent przebywał także na terenie gospodarstw rolnych.



Ryc. 46. Położenie geograficzne miejscowości Biro w Beninie.

4.7. Porównanie częstości występowania i charakteru objawów klinicznych u osób podróżujących z wykazaną obecnością swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu i pacjentów seronegatywnych

Przebieg kliniczny zakażenia wirusem Zachodniego Nilu ma najczęściej charakter bezobjawowy lub skąpoobjawowy (około 80% przypadków). U około 20-30% przypadków dochodzi do rozwoju klasycznej gorączki Zachodniego Nilu, której głównymi objawami są gorączka, stany podgorączkowe, bóle głowy, znaczne ogólne osłabienie, bóle mięśni, dreszcze, objawy neurologiczne, niekiedy nudności i/lub wymioty, wysypka skórna czy ból pozagałkowy. U pacjentów hospitalizowanych w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych w Poznaniu jednym z najczęściej obserwowanych objawów klinicznych po powrocie z krajów odmiennej strefy geograficzno-klimatycznej i sanitarno-higienicznej jest gorączka. Każdy jej przypadek po powrocie z terenów endemicznego występowania malarii musi być w pierwszej kolejności traktowany jako ta śmiertelnie niebezpieczna i bezpośrednio zagrażająca życiu choroba tropikalna. W drugiej kolejności wykluczane są inne przyczyny wystąpienia podwyższonej temperatury ciała, takie jak sepsa, zakażenia bakteryjne (np. dur brzuszny i dury rzekome, riketsjozy, bartoneloza, bruceloza, leptospiroza, choroba meningokokowa, gruźlica, salmoneloza, szigelozą, ropnie bakteryjne), inne choroby pasożytnicze (np. leishmanioza trzewna, trypanosomoza afrykańska, choroba Chagasa, włósnica, pełzakowica pozajelitowa, gorączka Katayamy) oraz choroby wirusowe (np. HIV/AIDS, gorączka denga i inne wirusowe gorączki krwotoczne, zakażenie wirusem Zika, wirusowe zapalenia wątroby, grypa).

Porównując częstotliwość występowania dolegliwości chorobowych u 6 pacjentów z wykazaną obecnością swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu oraz 82 pozostałych osób podróżujących, seronegatywnych w kierunku WNV, zauważyć można niemal 20-procentową różnicę pomiędzy zgłaszanym osłabieniem ogólnym i uczuciem zmęczenia oraz prawie 30-procentową różnicę w zakresie obserwowania wzmożonej potliwości. Wzmożona potliwość występowała statystycznie zdecydowanie częściej (test χ^2 , $P = 0,00004$) niż mniej charakterystyczne osłabienie ogólne (test χ^2 , $P = 0,049$). Pacjenci zakażeni WNV znacznie częściej zgłaszali gorączkę i/lub stany podgorączkowe niż chorzy seronegatywni (test χ^2 , $P = 0,00002$). Największa różnica, sięgająca niemal 45% dotyczy jednak częstości zgłaszania przez pacjentów objawów neurologicznych. W grupie 6 chorych z wykazaną obecnością swoistych przeciwciał w kierunku WNV, aż 67% pacjentów obserwowała występowanie

zaburzeń neurologicznych, takich jak zawroty głowy, utrata przytomności, czy epizody podwójnego widzenia. U pozostałych osób podróżujących za granicę zaburzenia neurologiczne zauważyło jedynie 23% badanych. Różnica ta okazała się być najbardziej charakterystyczna w obu podgrupach (test χ^2 , $P < 0,000001$). Podobnie, bóle głowy okazały się być bardziej ewidentne w podgrupie pacjentów seropozytywnych w kierunku WNV (test χ^2 , $P < 0,000001$) niż u osób bez obecności swoistych przeciwciał. Ciekawą obserwacją było wykazanie znaczącej różnicy w zakresie częstości występowania zapalenia spojówek w obu podgrupach (test χ^2 , $P < 0,000001$). Z kolei bóle stawów i kaszel zgłaszali częściej pacjenci seronegatywni niż chorzy z zakażeniem WNV, ale nie uzyskano znaczącej różnicy dla tych objawów chorobowych (test χ^2 , odpowiednio $P = 0,3$ oraz $P = 0,1$).

Tabela VI.

Objawy kliniczne występujące w podgrupie 82 pacjentów seronegatywnych w kierunku wirusa Zachodniego Nilu podróżujących do krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej.

| Obserwowany objaw kliniczny | Liczba pacjentów seronegatywnych (n) | Odsetek procentowy pacjentów seronegatywnych (%) |
|--------------------------------------|---|---|
| Oslabienie ogólne | 66 | 81 |
| Wzmoczona potliwość | 44 | 54 |
| Gorączka | 52 | 64 |
| Bóle głowy | 60 | 73 |
| Dreszcze | 51 | 63 |
| Objawy neurologiczne | 19 | 23 |
| Stany podgorączkowe | 39 | 48 |
| Bóle mięśni | 46 | 56 |
| Brak apetytu | 38 | 46 |
| Ból gardła | 37 | 45 |
| Kaszel | 37 | 45 |
| Zapalenie spojówek | 16 | 19 |
| Nudności i/lub wymioty | 32 | 39 |
| Bóle stawów | 41 | 50 |
| Wysypka skórna | 23 | 28 |
| Powiększenie węzłów chłonnych | 23 | 28 |

4.8. Określenie częstości występowania swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu wśród mieszkańców Polski niewyjeżdżających poza granice kraju

Obecność podwyższonego poziomu swoistych przeciwciał IgG w kierunku wirusa Zachodniego Nilu stwierdzono u jednego z pięćdziesięciu pacjentów zakwalifikowanych do grupy kontrolnej, którzy nigdy nie opuszczali terytorium kraju (2,0%), co stanowiło 20 przypadków na 1000 mieszkańców Polski (zakres prawdopodobieństwa Bernoulliego 0,5 – 106,5 na 1000 mieszkańców). Wartość indeksu testu immunoenzymatycznego (ELISA) dla swoistych przeciwciał IgG przeciwko WNV wynosiła u niego 2,010 (wynik graniczny), natomiast dla swoistych przeciwciał IgM uzyskano wartość równą 1,189 (wynik ujemny). Ten 37-letni mężczyzna pochodził z miejscowości Godziesze Małe, położonej w gminie Godziesze Wielkie, w południowej części powiatu kaliskiego, w centralnej Polsce (Ryc. 47). Gmina ta położona jest nad rzekami Pieprznicą i Kielbaśnicą, które stanowią dorzecze rzeki Prosny. Na terenie tym występują duże kompleksy leśne, a także liczne łąki oraz pastwiska. Godziesze Wielkie jest gminą o typowym charakterze rolniczym.

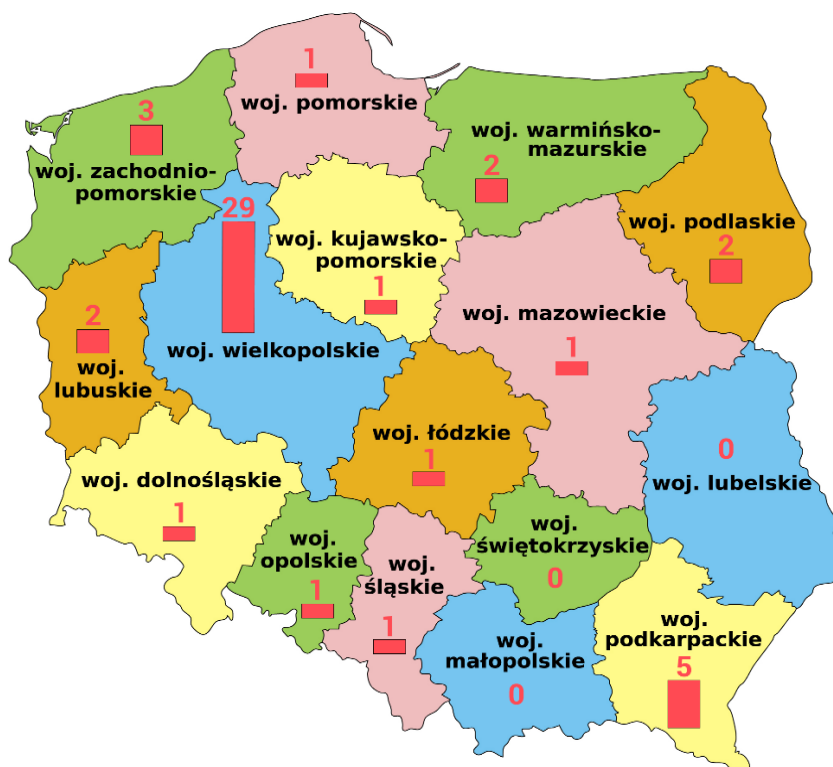


Ryc. 47. Lokalizacja geograficzna miejsca zamieszkania pacjenta z podejrzeniem zakażenia wirusem Zachodniego Nilu nabytego na terenie Polski.

Pacjent hospitalizowany był w Klinice celem włączenia celowanej terapii farmakologicznej w kierunku toksokarozy. Podczas prowadzenia diagnostyki różnicowej wykluczono u niego boreliozę z Lyme oraz babeszjozę. Chory nie był szczepiony w kierunku kleszczowego zapalenia mózgu. Mężczyzna ten pochodził z terenów wiejskich województwa wielkopolskiego i mieszkał w wolnostojącym domu jednorodzinnym. Często obserwował na skórze ukłucia komarów w pobliżu miejsca zamieszkania. Pacjent zawodowo zajmował się rolnictwem (pole uprawne, sad owocowy) oraz transportem i obróbką drewna. W wolnych chwilach interesował się myślistwem, wędkarstwem, zbieraniem grzybów oraz uprawą kwiatów. Pacjent uprawiał także sport na otwartej przestrzeni (jogging w lesie, jazda na rowerze, kąpiel w otwartych zbiornikach wodnych). Uczestniczył bardzo często w wycieczkach do lasu, na łąkę oraz nad jezioro i rzekę. Korzystał ponadto z usług gospodarstw agroturystycznych oraz brał udział w spotkaniach rodzinnych na łonie natury w porze wieczornej (spotkania w ogrodzie, grilowanie), podczas których często obserwował u siebie ukłucia komarów.

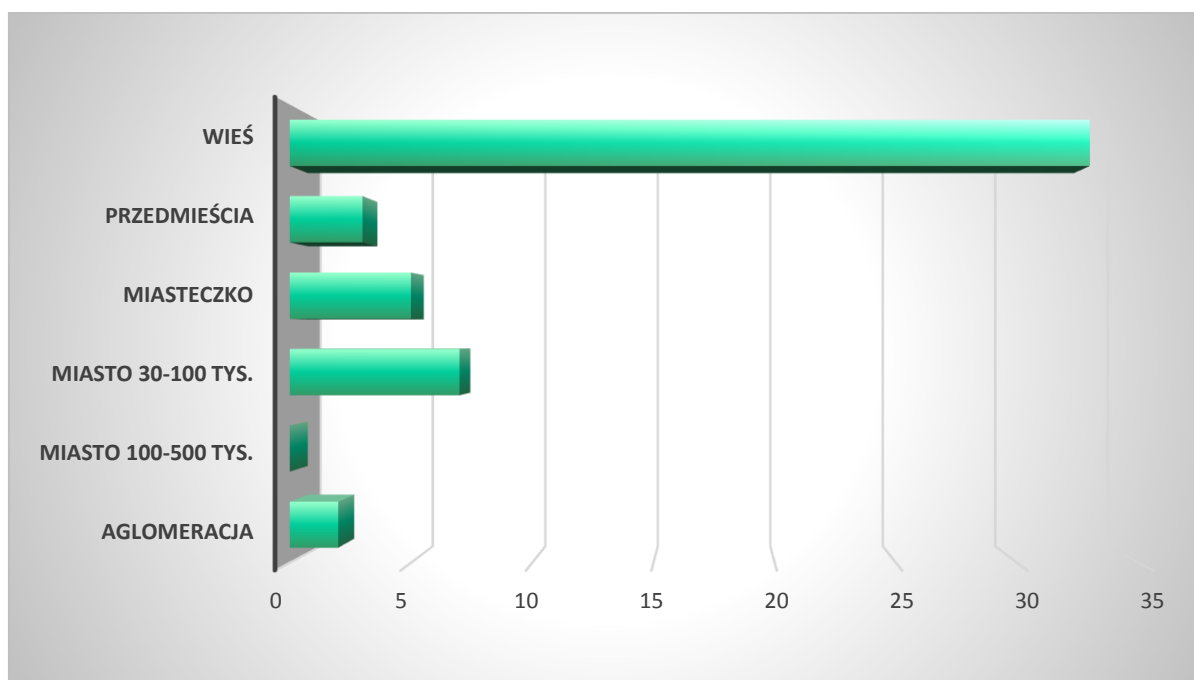
4.9. Próba określenia potencjalnych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu na terenie Polski

Spośród 50 pacjentów grupy kontrolnej, którzy nigdy nie opuszczali terytorium Polski, ponad połowa pacjentów pochodziła z regionu wielkopolski (n=29, 58%). Mniej licznie reprezentowane były inne województwa kraju: podkarpackie (n=5), zachodnio-pomorskie (n=3), podlaskie (n=2), lubuskie (n=2) i warmińsko-mazurskie (n=2). Pojedynczy pacjenci pochodzili także z województw: dolnośląskiego, mazowieckiego, opolskiego, pomorskiego, łódzkiego, kujawsko-pomorskiego oraz śląskiego (Ryc. 48).



Ryc. 48. Rozkład geograficzny poszczególnych regionów Polski reprezentowanych przez 50 pacjentów grupy kontrolnej, którzy nie podróżowali poza granicami kraju.

Do głównych czynników ryzyka transmisji zakażenia wirusem Zachodniego Nilu na terenie kraju u pacjentów grupy kontrolnej zaliczono między innymi lokalizację i charakter środowiska przyrodniczego w obrębie miejsca zamieszkania. Wynika to z faktu, że na terenach wiejskich, w miasteczkach i na przedmieściach dużych miast liczebność populacji komarów jest wielokrotnie wyższa niż w aglomeracjach miejskich. Spośród 50 pacjentów grupy kontrolnej zdecydowana większość mieszkała na wsi ($n=33$, 66%). Trzy osoby deklarowały zamieszkiwanie na przedmieściach miast (6%), natomiast pięć w miasteczku poniżej 30 tys. mieszkańców (10%). Do mniejszości należeli pacjenci mieszkający na co dzień w miastach o liczbie mieszkańców w zakresie 30-100 tys. (14%) Tylko dwie osoby spośród pacjentów grupy kontrolnej mieszkały w dużych aglomeracjach miejskich powyżej 500 tys. mieszkańców (4%) (Ryc. 49).



Ryc. 49. Miejsce zamieszkania 50 pacjentów należących do grupy kontrolnej, niewyjeżdżających poza terytorium Polski.

Niezależnie, 43 osoby z grupy kontrolnej mieszkały w domu jednorodzinnym wolnostojącym (86%). W kamienicy mieszkało tylko dwóch pacjentów, jeden w domu szeregowym, natomiast czterech pozostałych w bloku mieszkalnym. Dodatkowo, 39 pacjentów grupy kontrolnej deklarowało uprawianie warzyw i kwiatów w ogródku przydomowym (78%).

Kolejną grupę potencjalnych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu na terenie kraju stanowiło codzienne narażenie podczas wykonywania czynności zawodowych. Wśród pacjentów tej grupy najliczniej występowały hodowcy zwierząt i rolnicy (86%). Dwudziestu trzech rolników deklarowało ponadto posiadanie pola uprawnego (46%), a dwunastu - sadu owocowego (24%). Mniej licznie reprezentowanymi zawodami o zwiększonej predyspozycji na zakażenie WNV okazali się wychowawcy szkolni, pracownicy lasów państwowych, organizatorzy usług turystycznych, osoby pracujące przy transporcie i obróbce drewna oraz weterynarze. 16 spośród 50 pacjentów (32%) zgłaszało wykonywanie więcej niż jednej czynności zawodowej predysponującej do rodzimego zakażenia WNV (Ryc. 50).



Ryc. 50. Rodzaje zawodów wykonywanych przez 50 pacjentów grupy kontrolnej, predysponujących do autochtonicznego zakażenia wirusem Zachodniego Nilu.

Sposób spędzania czasu wolnego lub posiadane pasje i zamiłowania w znaczącym stopniu mogą zwiększać narażenie na ukłucia wektorów. Do szczególnie predysponujących czynności zwiększających narażenie na autochtoniczne zakażenie WNV zakwalifikowano: myślistwo i łowiectwo, wędkarstwo, jeździectwo, piesze wędrówki, turystykę górską, wspinaczkę skałkową, zbieranie grzybów oraz jagód, uprawianie kwiatów i warzyw, fotografowanie przyrody i zielarstwo. Występowanie tych czynników ryzyka u 50 pacjentów grupy kontrolnej niewyjeżdżających z Polski zobrazowano graficznie na rycinie 51. U 43 pacjentów grupy kontrolnej (86%) stwierdzono występowanie więcej niż jednego czynnika ryzyka związanego z posiadaniem hobby.

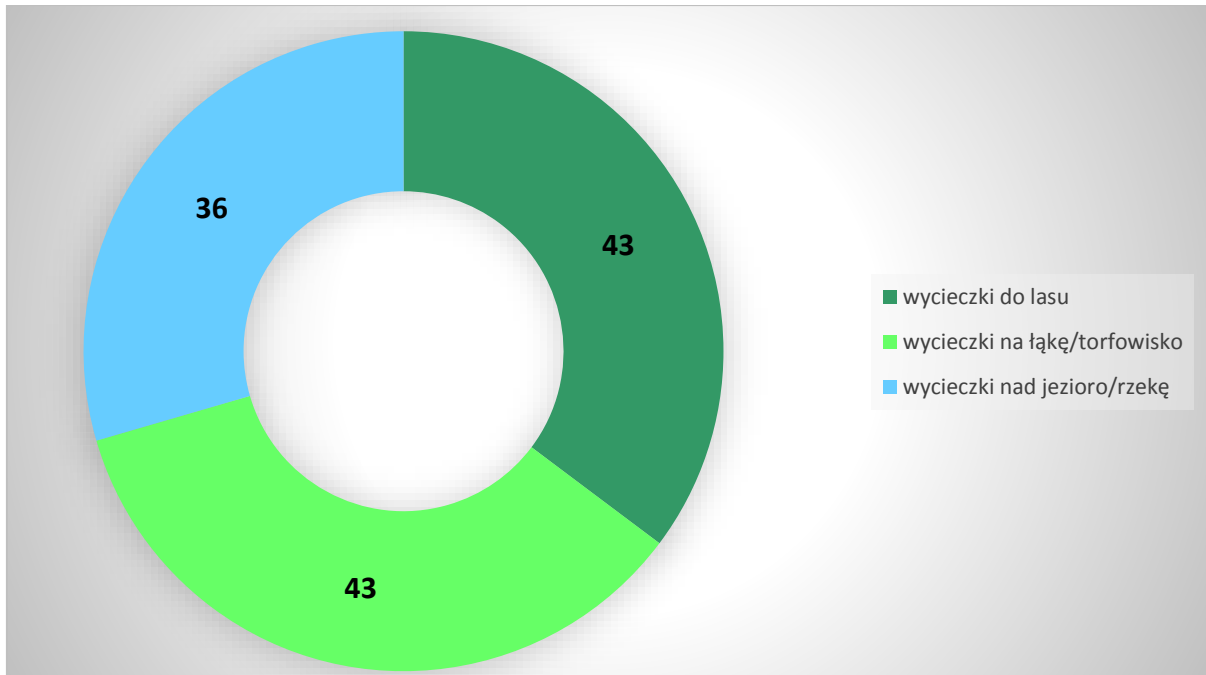


Ryc. 51. Sposób spędzania czasu wolnego predysponujący do zwiększonej ekspozycji na ukłucia komarów wśród 50 pacjentów grupy kontrolnej.

Rodzaj uprawianego sportu lub czynności rekreacyjnych przeprowadzanych na otwartej przestrzeni również może stanowić czynnik predysponujący do wystąpienia zakażenia wirusem Zachodniego Nilu na terytorium Polski. Najczęściej zgłaszane przez pacjentów rodzaje aktywności fizycznej to: jazda na rowerze (n=30), spacer z psem (n=18) i kąpiel w otwartym zbiorniku wodnym (n=13). Inne rodzaje aktywności fizycznej, jak np. gra w piłkę (n=8), żeglarstwo lub kajakarstwo (n=6) oraz jogging w parku lub lesie (n=6) wybierane były zdecydowanie rzadziej. Tylko trzy osoby zgłosiły uprawianie *nordic walking* po zachodzie słońca, jedna natomiast - jazdę na quadzie. 24 pacjentów podawało uprawianie więcej niż jednej czynności rekreacyjno-sportowej (48%). Dziesięciu spośród 50 pacjentów grupy kontrolnej nie zgłosiło żadnej aktywności fizycznej (20%).

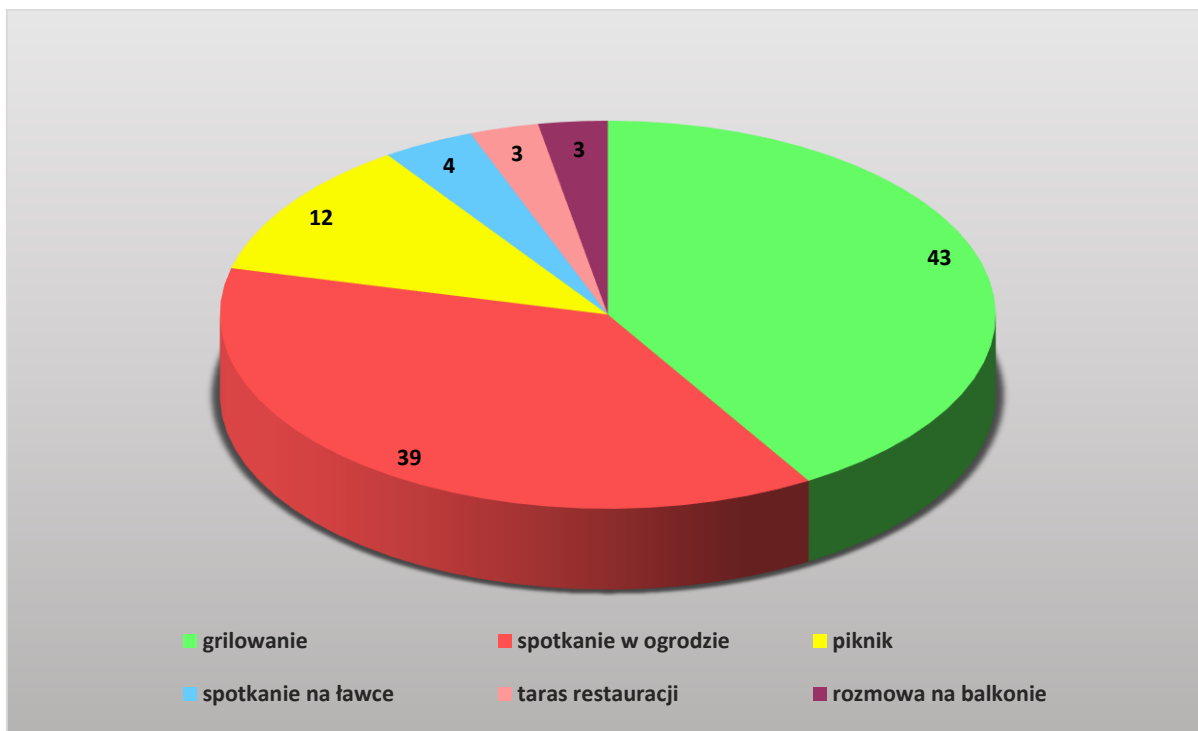
Dodatkowym czynnikiem ryzyka może być również przebywanie w określonym środowisku przyrodniczym, w którym liczebność populacji wektorów bywa zazwyczaj duża. Najgroźniejszymi pod tym względem rejonami mogą być np. las, podmokła łąka oraz jezioro i rzeka. Tereny te należą do bardzo często odwiedzanych przez Polaków, co przedstawiono

na rycinie 52. Niemal wszyscy pacjenci grupy kontrolnej deklarowali odbywanie wycieczek do lasu, czy na łąkę, niekiedy nawet wielokrotnie w ciągu roku. Nieco mniej osób rokrocznie wyjeżdżało nad jezioro lub rzekę. 46 pacjentów grupy kontrolnej zgłaszało więcej niż jedno ryzykowne zachowanie na terenie naturalnego środowiska przyrodniczego (92%).



Ryc. 52. Rodzaj środowiska przyrodniczego o dużej liczebności populacji komarów, w jakim przebywali pacjenci grupy kontrolnej zarażeni na rodzime zakażenie Wirusem Zachodniego Nilu.

Dodatkowo za potencjalny czynnik ryzyka zakażenia WNV uznano spotkania i uroczystości rodzinne lub koleżeńskie organizowane na łonie natury, często odbywające się w porze wieczornej. Wśród pacjentów zakwalifikowanych do grupy kontrolnej najpopularniejszym sposobem spędzania czasu wolnego w gronie przyjaciół lub znajomych okazało się grilowanie oraz spotkania w ogrodzie (86%). Nieco mniejszą popularnością cieszyły się pikniki na trawie (24%), natomiast najmniejszą - rozmowa na ławce (n=4), spotkanie na tarasie restauracji (n=3), czy też na balkonie (n=3). 41 spośród 50 pacjentów grupy kontrolnej (82%) uczestniczyło w kilku różnych formach spotkań towarzyskich na wolnym powietrzu (Ryc. 53).



Ryc. 53. Uroczystości rodzinne i spotkania towarzyskie na świeżym powietrzu odbywane przez 50 pacjentów grupy kontrolnej jako jeden z potencjalnych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu.

5. DYSKUSJA

5.1. Badania nad występowaniem zakażeń wywoływanych przez wirusa Zachodniego Nilu i inne arbowirusy u ludzi na obszarach endemicznych

Choroby przenoszone przez owady stanowią ogromne zagrożenie zdrowotne zarówno dla ludności endemicznej, jak i turystów szczególnie w krajach strefy tropikalnej, subtropikalnej i śródziemnomorskiej. Z danych szacunkowych Światowej Organizacji Zdrowia wynika, że rocznie notuje się około 1 mld przypadków chorób wektorowych, co skutkuje około 1 mln zgonów. Ponadto uważa się, że 17% wszystkich chorób zakaźnych na świecie to właśnie choroby przenoszone przez owady (WHO, 2016). Spośród chorób, których wektorem są komary największe znaczenie w skali globalnej odgrywają: malaria, denga, gorączka Chikungunya, zakażenie wirusem Zachodniego Nilu, japońskiego zapalenia mózgu oraz żółtej gorączki (Mirzaian i wsp., 2010).

Badania nad częstością występowania zakażeń wywoływanych wirusem Zachodniego Nilu wśród osób podróżujących do krajów odmiennej strefy geograficzno - klimatycznej przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej są pierwszymi w Polsce oraz jednymi z nielicznych na świecie. Obecność przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu wykazano u sześciu osób, co stanowiło 6,8% grupy badanej. Cztery przypadki zakażenia wirusem importowano do Polski z kontynentu afrykańskiego. Jeden z przypadków zakażenia WNV zawleczono do Polski z Republiki Środkowej Afryki. Mężczyzna przebywał 22 miesiące na misji w miejscowości Bagandou w pobliżu rzeki Lobaye. Teren ten pokrywają lasy równikowe, a panujący tam równikowy wybitnie wilgotny klimat powoduje, że pora deszczowa trwa od marca – kwietnia do października – listopada. Wszystkie te czynniki sprzyjają niekontrolowanemu rozwojowi populacji komarów. W latach 1975 – 1976 w Republice Środkowej Afryki przeprowadzone zostały pierwsze badania nad występowaniem wirusa Zachodniego Nilu na terenie tego kraju. Analizę laboratoryjną wykonano u 349 osób z koczowniczego plemienia Pigmejów zamieszkującego dorzecze rzeki Lobaye. Swoiste przeciwciała przeciwko WNV stwierdzono u 2,3% badanej populacji (Sureau i wsp., 1977). W późniejszym czasie w kraju tym notowano pojedyncze przypadki zakażenia WNV u ludzi (Diamond, 2009). W krajach graniczących bezpośrednio z Republiką Środkowej Afryki również prowadzone były badania nad występowaniem wirusa Zachodniego Nilu. W latach 2000 – 2003 badaniom poddano 256 dorosłych mieszkańców z dziewięciu wiosek w Kamerunie. Obecność swoistych przeciwciał przeciwko WNV wykazano u 6,6% populacji

badanej (Kuniholm i wsp., 2006). W latach 2002 – 2005 przeprowadzone zostały badania seropozytywności u koni żyjących na terenie Afryki Subsaharyjskiej. Najwyższy odsetek seropozytywnych zwierząt stwierdzono wśród populacji z Czadu (97%) oraz Senegalu (92%). Niższe wartości, na poziomie około 30% stwierdzono u zwierząt z Demokratycznej Republiki Konga (Cabre i wsp., 2006). Dane z 2016 roku sugerują, że u zwierząt domowych w Kamerunie seropozytywność może wynosić nawet 86,2% u osłów, 68,7% u koni, 27,3% u psów oraz 6,9% u kóz (Davoust i wsp., 2016).

Kolejny z przypadków, w którym potwierdzono obecność swoistych przeciwciał u polskich podróżników pochodził od osoby wyjeżdżającej do Afryki Wschodniej, na wyspę Madagaskar. Podczas swojego 18-miesięcznego pobytu w ośrodku misyjnym w pobliżu miasta Morombe mężczyzna notował u siebie bardzo liczne ukłucia komarów. Na tym obszarze kraju panuje klimat podrównikowy suchy, a środowiskiem geograficzno – przyrodniczym są lasy monsunowe, sawanna i półpustynie. Leżące w pobliżu wioski jezioro stanowi jednak doskonałe środowisko dla rozwoju populacji komarów. Na Madagaskarze pierwszej izolacji wirusa Zachodniego Nilu dokonano w 1978 roku od rodzimego gatunku papugi. W latach 1982 – 1988 kolejne izolacje przeprowadzono w populacji komarów (Maquart i wsp., 2016). Patogen wyizolowano także od ludzi w 1981 roku (4 przypadki), w 1982 roku (6 przypadków) oraz w 1983 roku (3 przypadki) (Mackenzie i wsp., 2002). W latach 1989 – 1990 na Madagaskarze przeprowadzono analizę obecności swoistych przeciwciał u ludności endemicznej w wieku do 5 do 20 lat, które wykazano we krwi obwodowej średnio u 29,9% grupy badanej. Na terenach górskich odnotowano najniższe wartości – 11,4%, na wschodzie kraju – 30,4%, a na zachodnim wybrzeżu – 45,3% (Mackenzie i wsp., 2002; Maquart i wsp., 2016). Kolejne badania na Madagaskarze wykonano w 1996 roku, a swoiste przeciwciała przeciwko WNV wykryto u 2,1% badanych dzieci poniżej 15 roku życia zamieszkujących wyżynne tereny wyspy. W 1999 roku badania prowadzone również u dzieci w północno – zachodniej części kraju wykazały seropozytywność u 10,6% badanych (Maquart i wsp., 2016). Kluczowym jednak wydaje się być śmiertelny przypadek zapalenia mózgu wywołanego WNV odnotowany w 2011 roku u 58-letniej kobiety z wyspy Reunion podróżującej na Madagaskar (Larrieu i wsp., 2013).

Spośród przypadków zakażenia wirusem Zachodniego Nilu wykazanych w grupie polskich podróżników najciekawszymi wydają się być przypadki pochodzące z Afryki Zachodniej. U dwóch mężczyzn przebywających w tym samym czasie w identycznych warunkach geograficzno – środowiskowych na misji w Beninie stwierdzono obecność przeciwciał IgG przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu. Mężczyźni pracowali w miejscowości Biro w departamencie N'Dali w środkowej części kraju. Panujący tu podrównikowy wilgotny klimat

oraz otoczenie sawanny drzewiastej to czynniki sprzyjające rozwojowi populacji komarów. Brak jest jednak badań prowadzonych na terenie Beninu, mogących świadczyć o obecności WNV na terenie tego kraju. Badania prowadzone były jednak w krajach sąsiadujących z Beninem, m.in. w Ghanie w 2008 roku w grupie 529 dzieci oraz 795 dorosłych. Wykazały one obecność przeciwciał klasy IgG u 4,8% dzieci oraz 27,9% dorosłych. Dodatkowo 2,4% dzieci posiadało przeciwciała klasy IgM, mogące świadczyć o świeżym zakażeniu (Wang i wsp., 2009). W latach 2011 – 2012 poszukiwano swoistych przeciwciał przeciwko WNV w populacji koni pochodzących z południowo – zachodniej części Nigerii. Ich obecność stwierdzono aż u 90,3% poddanej analizie populacji zwierząt (Sule i wsp., 2015). W 2015 roku przeprowadzono badania u mieszkańców zachodniej Nigerii, u których obecność swoistych przeciwciał przeciwko WNV wykazano u 23,7% badanych (Kolawole i wsp., 2015).

Kolejny przypadek zakażenia WNV zawleczony został do Polski z Rosji, a obecność swoistych przeciwciał IgG wykazano u 30-letniego mężczyzny przebywającego na obszarze tego kraju w latach 2012 - 2015. Mężczyzna ten na stałe mieszkał w mieście Perm, jednak zgłaszał częste podróże i wycieczki turystyczne podczas swojego pobytu. Przebywał on także nad Morzem Kaspijskim oraz w obwodzie wołgogradzkim. W roku 2012 w Rosji odnotowano aż 447 przypadków zakażenia człowieka WNV, w głównej mierze w obwodach wołgogradzkim, astrachańskim i woronieckim (ECDC, 2012). W roku 2013 przypadków było 177, a w kolejnych latach liczba zakażeń u ludzi nie przekraczała 50 (ECDC, 2013, 2014, 2015). Świadczy to o utrzymywaniu się stałej transmisji wirusa na terytorium Rosji.

Jeden z przypadków zakażenia wirusem Zachodniego Nilu udokumentowanych w niniejszej rozprawie importowany był do Polski z Australii, gdzie 27-letnia kobieta przebywała przez okres 24 miesięcy. Mieszkała ona w mieście Melbourne, jednak prowadziła bardzo aktywny tryb życia i bardzo dużo podróżowała po całej wyspie. Wirus Zachodniego Nilu, znany w Australii jako wirus Kunjin, czyli tzw. rodowód 1b WNV obecny jest na terenie kraju od 1960 roku. Rokrocznie powoduje kilka – kilkanaście przypadków zakażenia u ludzi, jednak rzadko obserwuje się przypadki zajęcia ośrodkowego układu nerwowego. W latach 2004 – 2011 odnotowano tylko 13 potwierdzonych przypadków zakażenia wirusem Kunjin u ludzi. Zachorowania te występowały głównie na terenie stanów Terytorium Północne i Queensland, rzadziej natomiast na terenie stanu Wiktorja i Australia Zachodnia (Prow, 2013). Jednak w roku 2011 w Australii miała miejsce jedna z największych epidemii zapalenia mózgu u koni w historii kraju. Do zachorowania mogło dojść nawet u 1 tys. zwierząt, a śmiertelność wynosiła 10-15%. Po wielkiej epidemii z 2011 roku przeprowadzone zostały badania seropozytywności u ludzi i królików mieszkających na terenie stanu Nowa Południowa Walia. Próbkę krwi od

ludzi pobierane były przed i po epidemii. Nie wykazano jednak znaczących różnic, gdyż w populacji badanej przed wybuchem epidemii seropozytywność wynosiła 0,7%, natomiast po epidemii 0,6% (Prow i wsp., 2014a). Próbkę krwi królików pobierane były na terenie wszystkich stanów Australii, z Tasmanią włącznie. W stanie Nowa Południowa Walia stwierdzono jedną z najniższych wartości seropozytywności – 8,8%. Najwyższe wartości odnotowano w stanach Queensland (37,3%), Wiktoria (23,4%) i Terytorium Północne (11,7%) (Prow i wsp., 2014a).

Wirus Zachodniego Nilu nie jest często uwzględniany jako czynnik etiologiczny stanów gorączkowych u osób powracających z podróży międzynarodowych. W opracowaniu Cleton i wsp. analizie poddano częstotliwość zlecenia badań w kierunku zakażeń arbowirusami u holenderskich turystów powracających z podróży zagranicznych w latach 2009 – 2013. W ciągu 5 lat w Holandii badania takie wykonano u 8.126 osób. Niemniej jednak oznaczenia przeciwciał w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu zlecono tylko u 120 osób, a wynik pozytywny uzyskano u pięciu (4,2%) – dwa przypadki importowane były z Europy Południowej, dwa przypadki z Afryki Subsaharyjskiej oraz jeden przypadek z Afryki Północnej (Cleton i wsp., 2015). W opracowaniu tym wykazano, że badania w kierunku infekcji WNV wśród osób powracających do Holandii z terenu Południowej Europy, czyli obszaru najczęściej wybieranego na wakacje przez Holendrów, wykonano tylko u 30 osób, a wynik dodatni uzyskano jedynie u dwóch. W tym czasie na terenie Starego Kontynentu rozpoznano co najmniej kilka dużych epidemii WNV. Nasuwa to podejrzenie, że liczba przypadków wykrytych może być niedoszacowana, a liczba badań zleconych niewspółmiernie niska. Konieczność włączenia oznaczeń w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u osób powracających z wyjazdów międzynarodowych jest więc niezwykle istotna (Gabriela i wsp., 2013; Cleton i wsp., 2015). Podobna sytuacja ma miejsce w Polsce, gdzie Europa Południowa również jest najchętniej wybierana jako cel wakacyjnych podróży. Pacjenci po powrocie z krajów basenu Morza Śródziemnego rzadko zgłaszają się do szpitala z powodu niepokojących objawów chorobowych. W niniejszym opracowaniu stanowili oni tylko 6% grupy badanej. U osób powracających z terenu Azji Południowej i Południowo – Wschodniej analizie w kierunku zakażenia WNV w opracowaniu Cleton i wsp. poddano 31 osób. U żadnej nie uzyskano wyniku pozytywnego. W niniejszej rozprawie doktorskiej również nie wykazano zakażenia WNV u osób powracających z Azji, a stanowili oni 11% pacjentów grupy badanej. Infekcja wirusem Zachodniego Nilu u osób powracających z terenu Afryki Północnej i Subsaharyjskiej podejrzewana była w opracowaniu Cleton i wsp. u 27 osób, a potwierdzenie uzyskano u trzech. Wśród polskich podróżników zakwalifikowanych do grupy badanej niemal

75% powracało do kraju z kontynentu afrykańskiego. U czterech osób wykazano obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu. W pracy Cleton i wsp. badania w kierunku WNV zaordynowano tylko u dziewięciu osób powracających z Ameryki Północnej oraz u pięciu z Ameryki Południowej, infekcji WNV jednak nie potwierdzono. Podobnie w niniejszej rozprawie nie wykazano zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u osób powracających z Ameryki Południowej (4% grupy badanej).

Każdego roku przez port w Shenzhen różnymi środkami lokomocji dostaje się do Chin około 100 mln osób. Działająca w Chinach Inspekcja Kontroli Wejścia i Wyjścia oraz Biuro Kwarantanny w roku 2010 wyposażyły duże porty w termoczule detektory w postaci bramek, umożliwiające pomiar temperatury u wszystkich podróżnych wchodzących do budynku portu i szybką identyfikację osób z temperaturą ciała powyżej 37,5°C. W opracowaniu Shi i wsp. wszystkich 619 gorączkujących pacjentów wjeżdżających do Chin przez port w Shenzhen poddano badaniom w kierunku zakażeń wywołanych przez arbowirusy m.in. wirusa Zachodniego Nilu. U żadnego z badanych turystów nie wykryto obecności przeciwciał przeciwko WNV ani materiału genetycznego wirusa. Ponad 80% osób poddanych badaniom we wspomnianym opracowaniu wjeżdżało do Chin z krajów azjatyckich, które nie są terenami hiperendemicznego występowania wirusa Zachodniego Nilu (Shi i wsp., 2013). Podobne wyniki badań uzyskano w niniejszej pracy, gdzie również nie wykazano obecności swoistych przeciwciał przeciwko WNV u pacjentów powracających z terenów Azji.

W latach 2007 – 2012 w Belgii retrospektywnej analizie w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu poddano surowice 889 pacjentów powracających z podróży międzynarodowych. Infekcję WNV potwierdzono u czterech pacjentów, a u jednego uznano ją za prawdopodobną (0,56%). Pacjenci, u których rozpoznano zakażenie WNV podróżowali do USA, Senegalu, Demokratycznej Republiki Konga, Grecji i Sudanu (Van den Bossche i wsp., 2015). Zdecydowanie wyższe wartości uzyskano wśród polskich podróżników, gdzie odsetek osób, u których wykazano obecność swoistych przeciwciał wynosił prawie 7,0%.

Pojedyncze przypadki zakażeń wirusem Zachodniego Nilu importowanych przez osoby podróżujące notuje się na całym świecie. Pierwsze doniesienia na temat zakażenia u turystów wyjeżdżających na tereny endemicznego występowania wirusa pojawiły się w 2001 roku w Holandii. Opisano tam dwa niezależne przypadki gorączki Zachodniego Nilu o łagodnym przebiegu klinicznym – u mężczyzny i kobiety przebywających na wakacjach w Izraelu (Meeuse i wsp., 2001; Van der Klooster, 2002). W 2002 roku w Czechach odnotowano pierwszy przypadek gorączki Zachodniego Nilu u 69-letniego mężczyzny po 3-tygodniowym pobycie w USA (Hubálek i wsp., 2006). W tym samym roku odnotowano podobny przypadek

u 82-letniego mężczyzny z Francji, u którego pomimo podeszłego wieku zakażenie przebiegało łagodnie (Charles i wsp., 2003). Dwa pierwsze przypadki importowane do Danii opisano w 2003 roku. Zapalenie mózgu wywołane infekcją wirusem Zachodniego Nilu rozpoznano wówczas u 46-letniego mężczyzny po powrocie z wyjazdu turystycznego do Izraela oraz 73-letniego Kanadyjczyka duńskiego pochodzenia, odwiedzającego rodzinę w Danii (Knudsen i wsp., 2003). Również w 2003 roku opisano kolejny przypadek zapalenia mózgu u Holendra podróżującego wcześniej do Kanady (Gebhardt, 2003). W 2004 roku udokumentowano 2 przypadki zakażenia wirusem Zachodniego Nilu importowane do Irlandii z prowincji Algarve, leżącej w południowej części Portugalii (Connell i wsp., 2004). W 2005 roku u czterech Francuzów zdiagnozowano zakażenie wirusem Zachodniego Nilu po pobycie w Dżibuti (Decam, 2005).

W 2006 roku bardzo ciekawy przypadek z towarzyszeniem objawów przypominających zespół Guillan – Barré stwierdzono u 51-letniego misjonarza przebywającego w latach 2004 – 2006 w Nikaragui (Maillo i wsp., 2008). W 2009 roku opisany został inny przypadek 58-letniego mężczyzny z Izraela, u którego podczas pobytu w Australii rozpoznano zapalenie mózgu wywołane przez wirus Zachodniego Nilu. Pomimo możliwości rodzimej transmisji WNV w Australii, analiza genetyczna wykazała, że szczep wirusa pochodził z Izraela, a do zakażenia doszło najprawdopodobniej jeszcze przed wyjazdem do Australii (Rogers i wsp., 2009). W 2010 roku klasyczną gorączkę Zachodniego Nilu (gorączka, bóle mięśni, bóle głowy, ból gałek ocznych, wysypka) rozpoznano u dwojga Holendrów, powracających z 10-dniowych wakacji w Izraelu (Aboutaleb i wsp., 2010). Zapalenie opon mózgowo rdzeniowych i mózgu stwierdzono także u 28-letniej Niemki po powrocie z dwutygodniowych wakacji spędzonych w Kanadzie w 2011 roku (Schultze-Amberger i wsp., 2012).

W Niemczech w 2012 roku odnotowano zakażenie WNV u 4 osób: śmiertelny przypadek 65-letniego mężczyzny powracającego z Korfu (Grecja), ciężkie zapalenie mózgu u 60-letniej kobiety po powrocie z Czarnogóry, gorączkę Zachodniego Nilu u 23-letniej pacjentki powracającej z Egiptu oraz 43-letniej turystki po wakacjach spędzonych w Tunezji (Gabriela i wsp., 2013). W Belgii w 2012 roku odnotowano importowany z Grecji śmiertelny przypadek zapalenia mózgu o etiologii WNV u 73-letniej kobiety (Cnops i wsp., 2013). W tym samym roku w Holandii opisany został kolejny przypadek 44-letniej pacjentki powracającej z wakacji w Egipcie z bardzo rzadką manifestacją kliniczną zakażenia – zespołem przypominającym *poliomyelitis* (Kropman i wsp., 2012).

Większość przypadków opisywanych na świecie charakteryzowała się bardzo ciężkim przebiegiem klinicznym z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego. Zakażenie wirusem

Zachodniego Nilu u 70 – 80% osób może przebiegać bezobjawowo, a do rozwinięcia łagodnych, grypopodobnych objawów dochodzi u mniej więcej 20 – 30% osób. Tylko u 1% pacjentów pojawia się zajęcie ośrodkowego układu nerwowego i cechy pełnoobjawowej infekcji (Sejvar i wsp., 2014; Weatherhead i wsp., 2015). Wskazuje to na słuszność tezy udowodnionej przez Cleton i wsp., którzy analizując badania zlecane przez holenderskich lekarzy u turystów powracających z podróży międzynarodowych w latach 2009 – 2013 wykazali, że podejrzenie infekcji wywołanej przez WNV nasuwało się dopiero w przypadkach o ciężkim przebiegu klinicznym z manifestacją objawów neurologicznych (Cleton i wsp., 2015). Autorzy podkreślali jednocześnie, że etiologia niemal 50% przypadków stanów gorączkowych po powrocie z podróży zagranicznych pozostaje nieustalona. Polscy podróżnicy, u których poszukiwano swoistych przeciwciał przeciwko WNV w większości nie zgłaszali objawów świadczących o ciężkiej postaci zakażenia toczonego się w ośrodkowym układzie nerwowym. W grupie 88 pacjentów tylko u dwóch zaobserwowano zapalenie mózgu o nieustalonej etiologii. Mniej nasilone objawy neurologiczne notowano u 27% badanych osób i należały one do najrzadziej zgłaszanych.

Otrzymane wyniki badań seropozytywności w kierunku infekcji WNV wśród polskich osób podróżujących można porównać z opracowaniami dotyczącymi zakażeń innymi arbowirusami ściśle związanymi z wyjazdami do krajów odmiennej strefy klimatycznej, takimi jak wirus dengi, japońskiego zapalenia mózgu, czy Chikungunya.

Wirus dengi jest najczęściej występującym arbowirusem na świecie, a na terenach endemicznego jego występowania w ponad 100 krajach żyje 2,5 mld ludzi (WHO, 2016). Dane opracowane przez ekspertów sugerują, że rocznie może dochodzić do zakażenia nawet u 390 mln ludzi (Bhatt i wsp., 2013). Badania 619 gorączkujących podróżników wjeżdżających do Chin przez port w Shenzhen w 2013 roku potwierdziły zakażenie wirusem dengi u 34 osób (5,5% grupy badanej) (Shi i wsp., 2016). Wśród australijskich turystów powracających z Azji Południowej i Południowo – Wschodniej w latach 2010 – 2012 stwierdzono 86 przypadków gorączki dengi, importowanych głównie z indonezyjskiej wyspy Bali (Ernst i wsp., 2015). GeoSentinel Surveillance Network to medyczna sieć informatyczna zrzeszająca specjalistów medycyny tropikalnej, chorób zakaźnych i medycyny podróży z sześciu kontynentów. Zgłaszane są do niej potwierdzone przypadki chorób obserwowanych u turystów powracających z podróży międzynarodowych. Przeanalizowano przypadki zakażenia wirusem dengi u pacjentów powracających z Brazylii w latach 1997 – 2013. W tym czasie rozpoznano i zgłoszono 92 przypadki zakażeń DENV (Wilson i wsp., 2014). W latach 2006 – 2007 poddano analizie zapadalność na dengę wśród holenderskich turystów (n = 1207) powracających

z terenów endemicznego występowania wirusa. Infekcję DENV potwierdzono u 14 analizowanych osób (1,2% grupy badanej) (Baaten i wsp., 2011).

W opracowaniu Polwiang za pomocą analizy matematycznej oszacowano ryzyko zakażenia wirusem dengi występujące u turystów odwiedzających Tajlandię w określonych prowincjach kraju, w zależności od pory roku. Wartości te wynosiły odpowiednio 0,48 – 5,77 na 100 tys. turystów w porze suchej oraz 1,40 – 14,69 na 100 tys. turystów w porze deszczowej (Polwiang, 2016). Podobne badania przeprowadzono w Korei Południowej i Japonii, gdzie w latach 2006 – 2010 stwierdzono 367 importowanych przypadków dengi w Korei i 589 w Japonii. Po przeprowadzeniu analizy epidemiologicznej współczynnik zapadalności podczas podróży na terenach endemicznego występowania dengi wynosił odpowiednio 0,15 na 100 tys. turystów dla Korei i 0,09 na 100 tys. turystów dla Japonii (Jeong i wsp., 2016). Próbę uśrednienia wartości współczynnika zapadalności na dengę wśród turystów podejmowano w wielu pracach. Średnie wartości wahały się pomiędzy 10,2/100 tys. osób/miesiąc do 30/100 tys. osób/miesiąc (Ratnam i wsp., 2013).

W latach 2006 – 2007 wśród holenderskich turystów (n=1207) powracających z terenów endemicznego występowania DENV zakażenie potwierdzono u 1,2% badanych. Współczynnik zapadalności na gorączkę dengę dla podróży krótkoterminowych oszacowano na 14,6 na 1 tys. osób w ciągu miesiąca (Baaten i wsp., 2011).

EuroTravNet to sieć informatyczna ściśle współpracująca i wykorzystująca technikę GeoSentinel Global Surveillance Network. Szesnaście stron EuroTravNet z dziewięciu krajów świata zbiera dane kliniczne i epidemiologiczne na temat chorób nabywanych podczas podróży międzynarodowych. Dane z 2009 roku mówią o 172 przypadkach dengi i 18 zakażeniach wirusem Chikungunya (n=6.392) (Odolini i wsp., 2012). W roku 2011 dengę zgłoszono u 146 turystów, a gorączkę Chikungunya u 6 osób (n=5.965) (Warne i wsp., 2014).

Wirus CHIKV, podobnie jak wirus dengi charakteryzuje się szerokim rozpowszechnieniem geograficznym, a w 2006 roku tylko w Indiach spowodował on ponad 1,3 mln potwierdzonych przypadków (Gibney i wsp., 2011). Liczba zachorowań notowana wśród turystów powracających z podróży międzynarodowych nie jest jednak tak wysoka, jak w przypadku dengi. W ciągu 15 lat (1995 – 2009) w Stanach Zjednoczonych odnotowano 109 potwierdzonych przypadków zakażenia wirusem Chikungunya. W 57% przypadków choroba importowana była z Indii, natomiast 8% z innych krajów azjatyckich. Tylko u 6% pacjentów do zakażenia wirusem doszło w Afryce (Gibney i wsp., 2011). Badania 619 gorączkujących podróżników wjeżdżających do Chin przez port w Shenzhen w 2013 roku potwierdziły zakażenie wirusem Chikungunya jedynie u 2 osób (Shi i wsp., 2016). W latach 2010 – 2013

w USA odnotowano 115 przypadków zakażeń CHIKV, co stanowi średnio 23 przypadki rocznie (Lindsey i wsp., 2015b).

Na terenach zagrożonych transmisją wirusa japońskiego zapalenia mózgu żyje około 3 mld ludzi, czyli niemal 60% populacji świata. Rocznie dochodzi do ponad 50 tys. zakażeń JEV, co skutkuje 15 tys. zgonów (Pavli i Maltezu, 2015). Badania w grupie 619 gorączkujących podróżników, wjeżdżających do Chin przez port w Shenzhen w 2013 roku potwierdziły zakażenie wirusem japońskiego zapalenia mózgu w 17 przypadkach (Shi i wsp., 2016).

Wirus Zika, należący podobnie jak wirus Zachodniego Nilu oraz wirus dengi do rodzaju *Flavivirus*, również jest patogenem zagrażającym osobom podróżującym. Jedną z większych epidemii zakażeń tym wirusem miała miejsce w 2007 roku na archipelagu wysp należących do Mikronezji. Pierwszy przypadek zakażenia wirusem Zika, który potwierdzono u osoby podróżującej z Europy stwierdzono w listopadzie 2013 roku u 50-letniego Niemca powracającego z Tajlandii (Tappe i wsp., 2014). Kolejna duża epidemia wywołana przez ZIKV miała miejsce w 2013 i 2014 roku w Polinezji Francuskiej, gdzie zakażeniu uległo nawet 30 tys. mieszkańców (Musso i Gubler, 2016). Podczas trwania tej epidemii odnotowano także przypadki zakażenia wśród turystów – dwa przypadki u małżeństwa importowane do Włoch, dwa przypadki zawleczone do Japonii, jeden do Francji oraz Norwegii (Kutsuna i wsp., 2014; Zammarchi i wsp., 2015; Musso i Gubler, 2016). W kolejnych latach wirus Zika jako czynnik etiologiczny gorączki po powrocie z podróży międzynarodowej stwierdzono w Niemczech (powrót z Malezji) oraz w Australii (powrót z Indonezji) (Kwong i wsp., 2013; Musso i Gubler, 2016). Wirus stale rozprzestrzeniał się w świecie, osiągając w 2015 roku kontynent amerykański, gdzie występuje już stale w ponad 20 krajach. Największa epidemia miała jednak miejsce w Brazylii, gdzie stwierdzono od 440 tys. do 1,3 mln prawdopodobnych przypadków zachorowań (Musso i Gubler, 2016). W marcu 2015 roku odnotowano zakażenie ZIKV u Włocha powracającego z Brazylii, a w grudniu 2015 roku u Niemca powracającego z Haiti (Musso i Gubler, 2016). W 2016 roku opisano osiem przypadków importowanych zakażeń wirusem Zika do Izraela. Spośród potwierdzonych przypadków pięć dotyczyło podróży do Kolumbii oraz kolejne - Dominikany, Meksyku i Wietnamu (Meltzer i wsp., 2016).

Dla wirusów dengi i Chikungunya rezerwuarem jest człowiek, co znacznie ułatwia ich transmisję szczególnie na terenach gęsto zaludnionych. Jednocześnie jest to przyczyną ich bardzo szerokiego rozprzestrzenienia geograficznego i bardzo dużej liczby notowanych przypadków na świecie. W 2013 roku w obu Amerykach zanotowano około 2,4 mln przypadków dengi, z czego do USA importowano 772 zakażenia (Lindsey i wsp., 2015a).

Spośród 8.126 turystów powracających do Holandii z podróży międzynarodowej do Azji Południowo – Wschodniej w latach 2009 – 2013, badania w kierunku zakażenia wirusem dengi zlecono u 828 osób. Wynik pozytywny uzyskano u 180 z nich (21%). Oznaczenia w kierunku zakażenia wirusem Chikungunya zlecono u 428 pacjentów, a infekcję potwierdzono ostatecznie u 51 osób (12%). U pacjentów powracających z regionu Afryki Subsaharyjskiej badania w kierunku dengi wykonano u 349 osób, a wynik dodatni otrzymano u 21 osób (6%). Na tym samym terenie zakażenie CHIKV podejrzewano u 174 osób, a potwierdzono u 5 z nich (3%). W Ameryce Środkowej, na Karaibach i w Ameryce Południowej badanie w kierunku dengi wykonano u 514 pacjentów (wynik dodatni u 308 chorych, niemal 60% badanych), a pod kątem Chikungunya - u 69 osób (wynik dodatni u 9 osób, około 13% badanych) (Cleton i wsp., 2015).

We Włoszech przeanalizowano liczbę przypadków dengi i zakażenia wirusem Chikungunya zgłaszanych do Ministerstwa Zdrowia w latach 2008 – 2011. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono 109 przypadków gorączki dengi (40,4% Azja, 27,5% Ameryka Południowa i Środkowa, 9,2% Afryka), natomiast zakażenia wirusem Chikungunya potwierdzono u 21 osób, głównie powracających z wysp Oceanu Indyjskiego i Azji (Napoli i wsp., 2012).

Analiza seropozytywności zakażeń wywoływanych przez arbowirusy w 2004 roku wśród ludności endemicznej w Kenii wykazała 14,4% wyników dodatnich dla dengi, 9,5% dla wirusa Zachodniego Nilu, 9,2% dla żółtej gorączki oraz 34% dla wirusa Chikungunya (Mease i wsp., 2011).

Liczba przypadków zakażeń wywołanych przez arbowirusy może być poważnie niedoszacowana. Potwierdza to badanie przeprowadzone wśród holenderskich pacjentów powracających z regionu Oceanu Indyjskiego w latach 2007 – 2010. Badania w kierunku zakażenia wirusem dengi zlecono u 158 badanych osób, potwierdzając ostatecznie zakażenie u 41 osób. Pulę surowic ujemnych retrospektywnie przebadano także w kierunku zakażenia wirusem Chikungunya, które rozpoznano w 8 przypadkach (Reusken i wsp., 2013). Podobne badania przeprowadzono w Kanadzie, gdzie retrospektywnej analizie poddano 1.304 surowice pacjentów gorączkujących po powrocie z podróży międzynarodowych, u których w latach 2006 – 2007 oraz 2013 – 2014 wykluczono malarię. Zakażenie wirusem dengi potwierdzono w 33 przypadkach, a Chikungunya - w pięciu (Kariyawasam i wsp., 2016).

W Afryce liczba przypadków malarii u gorączkujących pacjentów jest zazwyczaj zawyżana, natomiast zakażenia wywoływane przez arbowirusy są znacząco niedoszacowane (LaBeaud i wsp., 2011; Kolawole i wsp., 2015; Sow i wsp., 2016). Wśród ludności endemicznej w Mali niemal 70% populacji żyje na obszarach wiejskich, gdzie ryzyko kontaktu z owadami

jest bardzo wysokie. U większości gorączkujących pacjentów za czynnik etiologiczny uznawane są zarodźce malarii, a diagnostyka różnicowa z uwzględnieniem wirusów przenoszonych przez komary przeprowadzana jest wyjątkowo rzadko (Safronetz i wsp., 2016). Badania wykonane w grupie 376 gorączkujących osób, u których wykluczono malarię i zakażenie wirusem żółtej gorączki wykazały, że za stan choroby u pacjentów mogą odpowiadać również inne tropikalne drobnoustroje, np. krętki *Leptospira* spp., wirus dengi, gorączki krwotocznej krymsko – kongijskiej, Chikungunya, czy wirus Zachodniego Nilu (Safronetz i wsp., 2016). Niezwykle niebezpieczne wydaje się być nadużywanie leków przeciwmalarycznych, które powoduje narastanie oporności wielolekowej wśród zarodźców *Plasmodium* spp., a strefy chlorochinooporności, meflochinooporności, czy nawet artemizynooporności stale się poszerzają.

Wykonywanie oznaczeń mających na celu wykrycie importowanych przypadków zakażeń wirusowych u osób podróżujących może mieć niekiedy kluczowe znaczenie. Szczególnie istotne jest to w krajach, gdzie rodzime populacje komarów są zdolne do przenoszenia egzotycznych patogenów zawleczonych z obszarów tropikalnych (Rezza i wsp., 2007; Grandadam i wsp., 2011; Reusken i wsp., 2013). Doskonałym przykładem może być epidemia zakażeń wirusem Chikungunya w gminie Ravenna na północy Włoch (prowincja Emilia – Romagna), podczas której w dwóch małych wioskach odnotowano infekcję u 205 osób niewyjeżdżających za granicę. Epidemia ta została zapoczątkowana przez Hindusa, który po powrocie z Indii w jednej z miejscowości w pobliżu Rawenny odwiedzał swoich krewnych, manifestując przy tym objawy kliniczne zakażenia wirusem Chikungunya (Rezza i wsp., 2007). Rodzime przypadki zakażenia CHIKV stwierdzono także we Francji w 2010 roku, gdzie u 7-letniej dziewczynki po powrocie z wakacji spędzonych w Indiach wykazano zakażenie tym wirusem. Po trzech tygodniach odnotowano dwa kolejne przypadki u dziewczynek niepodróżujących na tereny endemicznego występowania wirusa (Grandadam i wsp., 2011). W 2013 roku w Stanach Zjednoczonych, które nie są terenem endemicznego występowania wirusa dengi odnotowano 49 autochtonicznych przypadków zakażenia DENV na Florydzie (Lindsey i wsp., 2015a).

5.2. Główne potencjalne czynniki ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u osób podróżujących

W XXI wieku obserwowany jest stały wzrost nasilenia ruchu turystycznego na świecie. Badania mające na celu określenie stref występowania chorób wirusowych, bakteryjnych, czy pasożytniczych, zwłaszcza o charakterze transmisyjnym, mają kluczowe znaczenie dla zapewnienia bezpieczeństwa osobom podróżującym. Niezwykle ważne wydaje się być również określenie środowiskowych czynników ryzyka chorób zagrażających osobom wyjeżdżającym poza granice kraju. W niniejszej rozprawie doktorskiej podjęto się próby zdefiniowania głównych czynników predysponujących do zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u osób podróżujących do krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej.

Przygotowanie medyczne osób wyjeżdżających do tropiku jest jednym z najważniejszych czynników chroniących przed zachorowaniem na groźne zarażenia egzotyczne, w tym infekcyjne i pasożytnicze choroby wektorowe. Ogromną rolę przypisuje się specjalistom medycyny morskiej i tropikalnej oraz lekarzom chorób zakaźnych, którzy informują osoby podróżujące o zagrożeniach, jakie mogą napotkać podczas wyjazdu. Niezmiernie ważne zatem jest uczulenie lekarzy różnych specjalności klinicznych na pomijany w diagnostyce różnicowej i zwykle zapomniany problem medyczny, jakim niewątpliwie jest wirus Zachodniego Nilu, co wykazano w niniejszej pracy. Strefy endemicznego występowania wirusa są bardzo szerokie, jednak najgroźniejszymi regionami świata pod względem epidemiologii zakażeń WNV wydają się być: Afryka, Europa Południowa oraz Ameryka Północna. Spośród pacjentów powracających do Polski z podróży międzynarodowych, u których poszukiwano swoistych przeciwciał przeciwko WNV w ramach niniejszej pracy, aż 74% osób grupy badanej powracało z kontynentu afrykańskiego. Najpopularniejszymi okazały się kraje Afryki Równikowej. Największe ryzyko związane z transmisją chorób tropikalnych i zakaźnych przenoszonych przez komary związane było z przebywaniem w lasach deszczowych, gdzie dominuje klimat tropikalny lasów deszczowych (klasyfikacja klimatów wg Köppena). Taki rodzaj roślinności dominuje w Kamerunie (n=10), Kongo (n=1), Gabonie (n=1) oraz Demokratycznej Republice Konga (n=7). Wysokie ryzyko towarzyszy także przebywaniu na sawannie drzewiastej, którą spotkać można w Republice Środkowej Afryki, gdzie podróżowało pięciu pacjentów grupy badanej. U jednego z nich wykazano właśnie obecność swoistych przeciwciał w kierunku WNV w klasie IgM, wskazujących na ostrą fazę zakażenia. Na terenie tego kraju, podobnie jak w Angoli (n=3) dominuje wilgotny klimat sawann. Do Czadu natomiast podróżowało czterech pacjentów grupy badanej. Na terenie Czadu występuje bardzo zróżnicowana szata roślinna,

od typowej pustynnej, przez półpustynie, suchą sawannę trawiastą, aż po wilgotną sawannę drzewiastą w południowej części kraju.

Obszary Afryki Wschodniej stanowiły drugą, najczęściej odwiedzaną część kontynentu. Najpopularniejszym krajem wśród pacjentów grupy badanej okazała się Tanzania (n=7), gdzie we wschodniej części kraju dominują nadbrzeżne lasy wschodniej Afryki. Na terenie kraju dominuje klimat sawann, a w centralnej części kraju - klimat stepów i pustyń, gdzie populacja komarów jest najmniej liczna. Drugim najczęściej odwiedzanym krajem Afryki Wschodniej był Madagaskar (n=4), bardzo zróżnicowany pod względem panującego tu klimatu. W części wschodniej dominuje klimat tropikalny lasów deszczowych oraz tropikalny monsunowy. Przebywanie w tej części kraju, gdzie szatę roślinną stanowi tropikalny las deszczowy niesie ze sobą największe ryzyko transmisji chorób zakaźnych i pasożytniczych, przenoszonych przez komary. W części zachodniej kraju występuje wilgotny klimat sawann z sawanną drzewiastą. W centralnej części dominuje sawanna trawiasta, natomiast w południowej - klimat stepów i pustyń. U jednego z pacjentów powracających do Polski z Madagaskaru potwierdzono obecność swoistych przeciwciał IgG anty-WNV. Mężczyzna ten przebywał w południowo - zachodniej części kraju, gdzie populacja komarów wydaje się być mało liczna. Jednak w bliskim sąsiedztwie polskiego ośrodka misyjnego na Madagaskarze znajduje się jezioro, które stanowi doskonałe środowisko dla rozwoju wektorów. Kolejnym najczęściej odwiedzanym przez Polaków krajem Afryki Wschodniej była Kenia (n=3), gdzie największe prawdopodobieństwo wystąpienia chorób tropikalnych i pasożytniczych wiąże się w przebywaniem w części zachodniej i centralnej (klimat sawann). Resztę kraju pokrywają pustynie lub półpustynie oraz busz, gdzie ryzyko zachorowania na choroby wektorowe jest niskie. Na wybrzeżu kraju spotyka się natomiast las nabrzeżny wschodniej Afryki, gdzie ryzyko jest już wyższe. Polscy podróżnicy wyjeżdżali także do Etiopii (n=2), gdzie w części zachodniej przeważa sawanna drzewiasta i w tej właśnie części kraju ryzyko wystąpienia chorób wektorowych jest najwyższe. Do Ugandy i Rwandy podróżowały tylko trzy osoby. Na terenie tych krajów dominuje wilgotny klimat sawann oraz klimat tropikalny lasów deszczowych w pobliżu Jeziora Wiktorii. Wyjazd do tych krajów obarczony jest wysokim ryzykiem zachorowania na choroby tropikalne i pasożytnicze (Ryc. 54). Do Zambii natomiast podróżowała jedna osoba; w kraju tym dominuje klimat subtropikalny.

Polscy podróżnicy chętnie wybierali także kraje Afryki Zachodniej, gdzie największe ryzyko transmisji chorób wektorowych występuje w części południowej, wybrzeżnej Beninu (n=2), Wybrzeża Kości Słoniowej (n=1), czy Nigerii (n=1). Na tych obszarach dominuje klimat tropikalny lasów deszczowych. W pozostałej części krajów Afryki Zachodniej dominuje,

podobnie jak na terytorium Gambii (n=7) czy Senegalu (n=3), klimat sawann. Podkreślić należy, że spośród polskich podróżników odwiedzających Benin (n=2) u wszystkich stwierdzono obecność swoistych przeciwciał anti-WNV. Mężczyźni przebywali w tym samym czasie w polskim ośrodku misyjnym w centralnej części kraju.

Do najrzadziej odwiedzanych regionów afrykańskich należała Afryka Północna, gdzie tylko na terenie Sudanu Południowego (n=2) panuje klimat wilgotnych sawann. Większa część krajów tego regionu, jak Egipt (n=1), czy Sudan (n=1) leży w granicach panowania suchego klimatu pustyń. Jedynie na terenie wybrzeża Libii (n=1) notuje się występowanie klimatu śródziemnomorskiego, gdzie populacja komarów spotyka warunki konieczne do ich rozmnażania. Do Republiki Południowej Afryki podróżowało tylko trzech pacjentów z grupy badanej. W kraju tym dominuje klimat subtropikalny.



Ryc. 54. Zagrożenie wirusem Zachodniego Nilu wśród mieszkańców Ugandy nad Jeziorem Wiktorii. Kolekcja własna.

Pacjenci zakwalifikowani do grupy badanej w kierunku obecności swoistych przeciwciał anti-WNV w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej bardzo rzadko podróżowali do krajów europejskich (n=6). Najpopularniejszymi kierunkami geograficznymi okazały się kraje o klimacie śródziemnomorskim, takie jak Włochy (n=2), Turcja (n=2) oraz Grecja (n=1). Tylko jeden mężczyzna, u którego potwierdzono seropozytywność w kierunku WNV wyjechał do Rosji, przebywając w mieście Perm, gdzie panuje klimat kontynentalny z ciepłym latem.

Pacjent ten odbywał jednak liczne wycieczki turystyczne, w tym nad Morze Kaspijskie, uznawane za obszar endemicznego występowania WNV, gdzie miejscowo stwierdza się klimat śródziemnomorski. Żaden z pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej nie podróżował do Ameryki Północnej.

Za główny czynnik ryzyka zakażenia WNV wśród Polaków powracających z wyjazdów międzynarodowych uznano długość podróży. Wszyscy pacjenci, u których stwierdzono obecność swoistych przeciwciał anti-WNV przebywali za granicą naszego kraju na wyjazdach długoterminowych, a czas ich trwania zawierał się w przedziale 18 – 36 miesięcy, średnio 26 miesięcy. Podczas długotrwałego pobytu za granicą, szczególnie na terenie kraju o klimacie tropikalnym lub subtropikalnym bardzo ważne jest stosowanie profilaktyki mechanicznej przeciwko ukłuciom komarów. Wśród pacjentów z wykazaną obecnością przeciwciał anti-WNV najczęściej stosowano moskitierę do spania (n=4), siatki w drzwiach i oknach (n=4) oraz repelenty na skórę (n=3).

Czynnikiem predysponującym do wystąpienia zakażenia wirusem Zachodniego Nilu może być także płeć męska. W grupie osób, u których wykazano obecność swoistych przeciwciał anti-WNV pięciu z sześciu pacjentów to mężczyźni (83,3%). Tylko w jednym przypadku zakażeniu wirusem uległa kobieta.

Równie istotnym czynnikiem ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu okazał się cel odbycia wyjazdu międzynarodowego. Czterech spośród sześciu pacjentów z przebyłym zakażeniem WNV powracało do kraju z misji humanitarnej (66,7%). W ośrodkach misyjnych na świecie przebywa obecnie 2007 polskich misjonarzy (stan na dzień 1 października 2016 roku). Największą ich liczebność stwierdza się na kontynencie afrykańskim (810 misjonarzy), południowo-amerykańskim (784 misjonarzy) oraz azjatyckim (327 misjonarzy). Mniejsza grupa polskich misjonarzy przebywa aktualnie w Oceanii (n=67) oraz Ameryce Północnej (n=19) (dane Centrum Formacji Misyjnej w Warszawie). Misjonarze najczęściej przebywają w bardzo trudnych warunkach środowiskowych czy klimatycznych, a stosowane środki mechanicznej profilaktyki zmniejszające ryzyko ukłuć komarów mogą być nieskuteczne. Dwie spośród 6 osób ze stwierdzoną obecnością swoistych przeciwciał w kierunku WNV wyjechały z kraju w celach zawodowych. Jednocześnie osoby te zgłaszały wielokrotne wyjazdy o charakterze turystycznym w trakcie swojego pobytu za granicą. Prawdopodobnie właśnie podczas takiego wyjazdu doszło u nich do zakażenia wirusem.

Duże znaczenie dla prawdopodobieństwa zakażenia wirusem Zachodniego Nilu ma również środowisko geograficzno – przyrodnicze, w którym pacjenci przebywali podczas swoich podróży. Trzech spośród sześciu pacjentów z wykazaną obecnością przeciwciał anti-

WNV przebywało na sawannie drzewiastej, którą charakteryzuje wilgotny klimat sawann. Suma opadów na takim terenie jest bardzo wysoka, co sprzyja rozwojowi populacji komarów. Dane na temat światowej migracji ptaków świadczą jednoznacznie, że sawanna drzewiasta wybierana jest najczęściej przez liczne gatunki ptaków na miejsca swoich zimowisk. W związku z tym przebywanie w takim środowisku może nieść ze sobą istotne ryzyko zakażenia wirusem Zachodniego Nilu. Podobnie liczebna grupa przebywała podczas swojego pobytu zagranicznego na pastwiskach oraz łąkach. Teren ten jest miejscem żerowania wielu gatunków siewkowców czy ptaków wróblowatych, które odgrywają znaczącą rolę w cyklu życiowym wirusa Zachodniego Nilu. Przebywanie w takim terenie, szczególnie w krajach o klimacie tropikalnym czy subtropikalnym może nieść ze sobą znaczne ryzyko wystąpienia zakażenia WNV. Trzy spośród sześciu osób zakażonych wirusem Zachodniego Nilu przebywały podczas swojej podróży nad jeziorem, a dwie nad rzeką, które najczęściej są miejscem niekontrolowanego rozwoju populacji komarów. Dodatkowo jest to środowisko bytowania licznych gatunków ptaków wodno – błotnych, dlatego podczas pobytu nad akwenami lub rzekami należy bardzo skrupulatnie stosować mechaniczne środki przeciwko ukłuciom komarów. Dwie osoby zgłosiły jednocześnie, że ich miejsce noclegowe znajdowało się właśnie w pobliżu zbiornika wodnego. Aktywność wektorów jest najwyższa szczególnie w porze nocnej, więc taka lokalizacja noclegu jest bardzo ryzykowna. Dodatkowy brak klimatyzacji zdecydowanie podnosi ryzyko transmisji chorób przenoszonych przez komary. W takim środowisku konieczne jest spanie pod moskitierą, stosowanie repelentów na skórę oraz posiadanie siatek w drzwiach i oknach. Dwie spośród osób z wykazaną seropozytywnością przebywały na plaży na wybrzeżu oceanicznym lub morskim. Narażenie na ukłucia komarów w tym środowisku nie jest najwyższe. Wyjątek stanowią plaże, do których droga prowadzi przez gęste zarośla lub lasy. Wtedy ryzyko wystąpienia ukłuć owadów, szczególnie w krajach o klimacie tropikalnym lub subtropikalnym zdecydowanie wzrasta. Tylko jedna osoba z wykazaną obecnością przeciwciał przeciwko WNV przebywała na terenie dżungli tropikalnej, która z punktu widzenia ryzyka transmisji chorób wektorowych jest najbardziej niebezpiecznym środowiskiem w skali świata. Ponadto trzy osoby deklarowały usytuowanie miejsca noclegowego w lesie lub dżungli. Z punktu widzenia ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu mniejsze prawdopodobieństwo infekcji związane jest z przebywaniem w górach, na półpustyniach lub pustyniach oraz nad wodospadami.

Miejsce pobytu podczas podróży zagranicznych również może mieć kluczowe znaczenie dla transmisji zakażeń wirusem Zachodniego Nilu. Wśród pacjentów, u których potwierdzono zakażenie WNV w ramach przedstawianej rozprawy doktorskiej, pięć osób przebywało

na terenach wiejskich, gdzie populacja komarów charakteryzuje się większą liczebnością niż w miastach. Znane są jednak doniesienia na temat zakażeń WNV, które dotyczyły miast, jak epidemia z 1996 roku w Bukareszcie (Rumunia) lub w 1999 roku w Nowym Jorku (USA). Dwie z osób z wykazaną obecnością przeciwciał anti-WNV przebywały w dzielnicach biedoty.

Warunki socjoekonomiczne pobytu w wysokim stopniu mogą predysponować do wystąpienia zakażenia wirusem Zachodniego Nilu, gdyż wektory charakteryzują się najwyższą aktywnością szczególnie w porze nocnej. Niemal wszyscy pacjenci podczas swojej międzynarodowej podróży przebywali w skromnych warunkach – cztery osoby mieszkały w pokoju gościnnym pozbawionym klimatyzacji. W szalasie przebywało dwóch misjonarzy podczas udzielania pomocy lokalnej ludności. Na farmie przebywały dwie osoby. Natomiast tylko jedna osoba mieszkała w ekskluzywnym hotelu z klimatyzacją. Przebywanie w takich warunkach, a szczególnie brak konieczności otwierania okien w porze nocnej znacznie zmniejsza ryzyko wystąpienia chorób wektorowych.

Uprawianie sportu, który potencjalnie predysponuje do wystąpienia większej liczby ukłuć komarów nie jest najważniejszym czynnikiem ryzyka zakażenia WNV. Tylko jedna osoba spośród sześciu z wykazaną seropozytywnością deklarowała tramping, trekking, wspinaczkę górską, nurkowanie, żeglarstwo, czy kajakarstwo. Niewielkie ryzyko transmisji wirusem niesie ze sobą także kontakt ze zwierzętami podczas podróży zagranicznej. Dwie osoby podawały odwiedzanie targowisk z żywymi zwierzętami, jedna wizytę w ogrodzie zoologicznym oraz kolejną jazdę konną. Żaden z pacjentów nie zgłaszał jazdy na słoniu, wielbłądzie czy mule lub ośle.

Podczas pobytu w odległych krajach osoby z wykazaną obecnością swoistych przeciwciał przeciwko WNV narażone były na liczne ukłucia komarów także podczas odwiedzania lokalnych społeczności (n=6), spacerów po zachodzie słońca (n=3), pobytu na stepie lub łące (n=3), czy wizyty na farmie i w gospodarstwie rolnym (n=3). Wyprawę do dżungli, najbardziej niebezpiecznego pod względem transmisji chorób wektorowych środowiska świata, deklarowało dwóch pacjentów. Tylko jedna osoba przebywała na safari w parku narodowym i odwiedziła rezerwat dzikich ptaków. Ryzyko transmisji podczas takiej wycieczki może mieć jednak kluczowe znaczenie dla zakażenia wirusem. W rezerwatach przyrody zamieszkuje najczęściej bardzo liczna populacja ptaków, a towarzyszy jej także wyjątkowo liczebna populacja komarów.

Podczas wyjazdów zagranicznych, szczególnie do krajów strefy tropikalnej i subtropikalnej bardzo istotne jest przeciwdziałanie ukłuciom komarów. Cztery spośród sześciu zakażonych

wirusem osób stosowało moskitierę do spania oraz siatki w drzwiach i oknach. Tylko dwie osoby używały repelentów na skórę.

5.3. Migracje ptaków a epidemiologia zakażeń wirusem Zachodniego Nilu na świecie

Ptaki stanowią najważniejsze ogniwo w cyklu życiowym wirusa Zachodniego Nilu, gdyż są jedynymi rezerwuarami tego patogenu. Ogromną rolę w epidemiologii zakażeń, a także w bardzo szerokim rozprzestrzenieniu geograficznym wirusa przypisuje się szczególnie ptakom wędrownym. Coroczne migracje tych zwierząt polegają na przemieszczaniu się z lęgowiska na zimowiska, które najczęściej położone są na mniejszych szerokościach geograficznych. Szlaki migracyjne liczą najczęściej tysiące lub dziesiątki tysięcy kilometrów i biegną niekiedy przez kilka kontynentów.

Powodem odbywania przez ptaki tak dalekich wędrówek są zmieniające się pory roku, a co za tym idzie zmiana zasobności pokarmu na danym terenie. Szacuje się, że fakt ten popycha do dalekodystansowych podróży około 50 mld ptaków rocznie. Równie ważnym argumentem jest bardzo duża bioróżnorodność spotykana w tropikalnym lesie deszczowym czy na sawannach drzewiastych. Tereny te wybierane najczęściej przez ptaki na zimowiska charakteryzują się bardzo liczną i zróżnicowaną populacją drapieżników, a ekspozycja na ich ataki staje się szczególnie niebezpieczna w okresie lęgowym. Lasy deszczowe lub sawanny zamieszkiwane są jednocześnie przez bardzo liczne gatunki ptaków, które muszą konkurować ze sobą o miejsce do gniazdowania oraz pokarm. Zdecydowanie mniejsza bioróżnorodność spotykana w lasach strefy umiarkowanej powoduje, że są one doskonałymi lęgowiskami, a dużą śmiertelność podczas migracji rekompensuje ogromny sukces rozrodczy (Nowakowski, 2007).

Podczas swych wędrówek ptaki pokonują często bardzo niesprzyjające tereny, jak morza, oceany, pustynie czy góry. Przykładem takiego przemieszczania się może być szlamik rdzawy, który z terenów wschodniej Syberii i zachodniej Alaski przelatuje nieprzerwanym lotem około 10,5 tys. kilometrów nad Oceanem Spokojnym na zimowiska w Nowej Zelandii. Nieco krótszą drogę pokonuje kobczyk amurski, który z Indii do Południowej Afryki pokonuje około 4 tys. kilometrów. Jest to jednak najdłuższy lot drapieżnika nad wodą w całym ptasim świecie (Ryc. 55, trasa nr 9) (Newton, 2008). Wymieniając przykłady trudnych podróży ptaków, wspomnieć należy także o gatunkach migrujących z terenów wschodniej Azji do Afryki. Ptaki te na swej drodze napotykają dużo większe trudności niż populacje zamieszkujące w Europie.

Do pokonania mają pustynie i półpustynie centralnej Azji, pozbawione drzew równiny Iranu i pustynie Półwyspu Arabskiego. Niektóre z nich pokonują dodatkowo jedno z najwyższych gór Azji – Tienszan czy Pamiro – Ałaj. Kilka gatunków ptaków na trasie swych migracji spotyka najwyższe góry świata – Himalaje. Co najmniej jeden – gęś tybetańska pokonuje je na wysokości 8 tys. metrów, przelatując nad najwyższymi szczytami. Ptak ten zamieszkuje tereny położone w okolicach wysokogórskich jezior na Równinie Tybetańskiej, a zimuje na równinnych terenach Indii. Dystans dzielący lęgowiska z zimowiskami (około 700 – 1000 km) pokonuje w jeden dzień, lecąc z prędkością około 150 km/h (Newton, 2008). Do pokonywania Himalajów ptaki wykorzystują jeszcze jedną, alternatywną drogę przez Dolinę Kali Gandaki (około 6500 m n.p.m). Przykładem może być żuraw stepowy, który swoją podróż rozpoczyna wczesnie rano, gdy korzystne prądy termiczne wznoszą stado na wysokość umożliwiającą im przelot przez dolinę. Kilka godzin później wiatr zmienia swój kierunek i ptaki mogą w tym czasie pokonać zaledwie kilka metrów, narażając się jednocześnie na częste ataki orłów przednich (Newton, 2008). Pokonywanie na trasie nawet tak wielkich trudności nie odstrasza jednak ptaków, bo korzyści płynące z odbycia niekiedy karkołomnej podróży wynagradza sukces prokreacyjny.

Inne trudne trasy wędrówek ptaków uwidacznia rycina 55. Z punktu widzenia epidemiologii zakażeń wirusem Zachodniego Nilu na świecie, najważniejszymi wydają się być trasa nr 7 wiodąca z Europy do Afryki. W latach 2004 – 2005 na Węgrzech znaleziono kilka martwych jastrzębi gołębiarzy i krogulców. Miało to miejsce na tym samym terenie, na którym w 2003 roku odnotowano zachorowania u gęsi. Po przeprowadzeniu analizy molekularnej wykazano jednak, że za te zachorowania odpowiedzialny był rodowód 2 WNV, który znany był z wywoływania zakażeń w Afryce Środkowej i na Madagaskarze. Wykazanie jego obecności na terenie Europy świadczyło o alarmującym rozprzestrzenianiu się wirusa na świecie (Bakanoyi i wsp., 2006).

Kolejną ważną drogą migracyjną jest trasa nr 9 pokonywana przez kobczyka amurskiego (Ryc. 55). Ten drapieżny ptak migruje z Azji Wschodniej do Afryki Południowej. W latach 2009 – 2010 badaniom poddano populację ptaków i koni z Szanghaju w Chinach. Swoiste przeciwciała przeciwko WNV stwierdzono u 5,3% badanych ptaków, nie potwierdzono jej natomiast u koni (Lan i wsp., 2013). Rok później zbadano również produkcję przeciwciał przeciwko WNV w populacji kotów i psów z Szanghaju, a potwierdzono ją u 14,9 kotów oraz 4,9% psów (Chancey i wsp., 2015). W 2009 roku w Korei Południowej wykazano seropozytywność u ptaków, jednak nie udało się wyizolować wirusa. Dokonano tego dopiero

w 2015 roku u gołębia, jednoznacznie potwierdzając obecność wirusa Zachodniego Nilu na terenie tego kraju (Chancey i wsp., 2015; Kim i wsp., 2016).

Następną, ważną z punktu widzenia epidemiologii zakażeń wirusem Zachodniego Nilu jest trasa nr 5 wiodąca z okolicy Wielkich Jezior na pograniczu USA i Kanady do Ameryki Południowej (Ryc. 55). Wirus w USA zaalarmował po raz pierwszy w 1999 roku podczas epidemii w okolicach Nowego Jorku, a w 2004 roku obecny był we wszystkich stanach kontynentalnych. Ponadto w 2001 roku patogen pojawił się w Kanadzie. Genotyp WNV wyizolowany w USA odpowiedzialny był także za zakażenia wykryte w Tunezji w 1997 roku oraz w Izraelu w 1998 roku (Nash i wsp., 1999; Gray i wsp., 2014; Chancey i wsp., 2015).



Ryc. 55. Trudne trasy wędrówek ptaków migrujących.

Objaśnienia: trasa nr 1 – siewka szara; trasa nr 2 – rybitwa popielata; trasa nr 3 – myszołów periowy; trasa nr 4 - śnieżyca duża; trasa nr 5 – liczne amerykańskie gatunki migrujące pomiędzy Ameryką Północną a Południową; trasa nr 6 – batalion; trasa nr 7 – liczne europejskie gatunki migrujące na zimowiska w Afryce; trasa nr 8 – białorzotka zwyczajna; trasa nr 9 – kobczyk amurski; trasa nr 10 – świstunka północna; trasa 11 – burzyk cienkodzioby (Newton, 2008).

Nieznany jest gatunek ptaka migrującego pomiędzy Izraelem a USA. Znany jest jednak fakt, że na terenie Izraela przecinają się liczne trasy migracyjne ptaków, a Dolina Jordanu

wraz z Doliną Hula to jedno z najważniejszych miejsc przystankowych na mapie świata. Znane jest jednak także zjawisko polowania na najcenniejsze gatunki ptaków, a także chwytanie ich i sprzedawanie do prywatnych kolekcji. Jest bardzo prawdopodobne, że być może właśnie taka sytuacja miała miejsce w USA. Istnieje sugestia, że kilka schwytanych do niewoli ptaków mogło nawet dać początek tej wielkiej epidemii.

5.4. Badania nad występowaniem wirusa Zachodniego Nilu w Polsce

W Polsce pierwsze doniesienie o wykryciu obecności wirusa Zachodniego Nilu pochodzi z 1995 roku, gdzie w badaniach przeprowadzonych w Łomiankach pod Warszawą, na skraju Puszczy Kampinoskiej analizie poddano populację wróbli, należących do ptaków osiadłych. W wynikach potwierdzono obecność przeciwciał przeciwko WNV u 12,1% przebadanych wróbli mazurków (*Passer montanus*) oraz u 2,8% wróbli domowych (*Passer domesticus*) (Juricova i wsp., 1998). Raport końcowy Dyrektoriatu Zdrowia Publicznego Komisji Europejskiej na rok 2002 głosił, że wirus Zachodniego Nilu został wykryty za pomocą badań serologicznych i wirusologicznych u ptaków i stawonogów w szeregu państw europejskich, w tym również w Polsce (Knap i Kubica-Biernat, 2003). Ten sam raport stwierdzał, że ryzyko przeniesienia zakażenia na ludzi jest niewielkie z powodu niekorzystnych warunków klimatycznych. Podobne stanowisko przedstawiła także grupa polskich ekspertów powołana przez Głównego Inspektora Sanitarnego w 2003 roku. Opublikowany raport wskazywał na konieczność wykonywania oznaczeń w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u ludzi oraz stałe monitorowanie populacji komarów i ptaków na terenie naszego kraju (Knap i Kubica-Biernat, 2003).

W 2005 roku w Klinice Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji w Białymstoku wykryto pierwszy możliwy przypadek autochtonicznej gorączki Zachodniego Nilu u kobiety, która nigdy nie wyjeżdżała poza granice kraju. Spośród objawów klinicznych u pacjentki występowały gorączka, bóle głowy, bóle mięśni oraz biegunka. Po przeprowadzeniu diagnostyki różnicowej w kierunku neuroinfekcji wykazano wysokie miano przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu w klasie IgM (Hermanowska-Szpakowicz i wsp., 2006). U pacjentki potwierdzono niezależnie obecność swoistych przeciwciał w kierunku *Borrelia* spp. Ponadto, pochodziła ona z obszaru endemicznego występowania kleszczowego zapalenia mózgu, co stwarza potencjalne ryzyko pojawienia się niespecyficznych reakcji krzyżowych, zwłaszcza w klasie IgM. W laboratorium referencyjnym nie uzyskano jednak ostatecznego

potwierdzenia zakażenia WNV, czyniąc ten przypadek jedynie prawdopodobnym. Rok później w badaniach prowadzonych u 93 leśników mieszkających na terenie dwóch województw - podlaskiego i świętokrzyskiego wykazano obecność swoistych przeciwciał anty - WNV u pięciu mężczyzn. Badania prowadzono dwuetapowo. W pierwszej kolejności wykonywano oznaczenia w surowicy pacjentów metodą immunoenzymatyczną ELISA, a uzyskane pozytywne wyniki potwierdzano techniką immunofluorescencji pośredniej. Przeprowadzona analiza wskazywała na możliwość rodzimej transmisji wirusa na obszarach leśnych południowej i północno – wschodniej Polski (Kondrusik i wsp., 2007).

W 2006 roku przeprowadzono badania populacji dzikich i domowych ptaków w Polsce, a obecność swoistych przeciwciał potwierdzono u 5,2% analizowanych zwierząt (trzech bocianów białych, jednego łabędzia niemego i jednej wrony). W tych samych badaniach nie stwierdzono obecności przeciwciał u 78 koni (Hubálek i wsp., 2008b). W latach 2007 – 2010 przeprowadzono także badania tkanki mózgowej 2140 ptaków, w których nie stwierdzono obecności RNA wirusa Zachodniego Nilu (Niczyporuk i wsp., 2011a). Podobne badania 1912 próbek tkanki mózgowej ptaków podjęte w latach 2009 – 2011 również nie wykazały obecności materiału genetycznego WNV (Niczyporuk i wsp., 2011b). Badania serologiczne wykonane w latach 2010 – 2014 wykazały natomiast obecność swoistych przeciwciał u 63 bocianów białych i jednej zięby zwyczajnej spośród 474 przebadanych ptaków występujących na terenie Polski (Niczyporuk i wsp., 2015).

Badania entomologiczne prowadzone w latach 2004 – 2009 na populacji 15.400 komarów w czterech województwach (kujawsko – pomorskim, mazowieckim, podlaskim, warmińsko – mazurskim) nie wykazały obecności materiału genetycznego wirusa Zachodniego Nilu (Kubica-Biernat i wsp., 2009). W badaniach tych wykazano jednak występowanie na terenie Polski komarów z rodzaju *Culex pipiens*, które są najważniejszymi wektorami wirusa Zachodniego Nilu. Ich obecność potwierdzono również w badaniach prowadzonych w okolicach Wrocławia na obszarach popowodziowych (Weitze i wsp., 2015).

Badania immunodiagnostyczne przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy wykazały obecność granicznego poziomu przeciwciał w klasie IgG przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu u mieszkańca wsi w powiecie kaliskim, w województwie wielkopolskim. Mężczyzna bardzo często obserwował u siebie ukłucia komarów, gdyż mieszkał na terenach wiejskich, a w wolnych chwilach wyjeżdżał nad rzekę, jezioro, do lasu czy na łąkę. Sugeruje się potencjalne prawdopodobieństwo występowania autochtonicznej transmisji wirusa Zachodniego Nilu również na obszarze Wielkopolski. Uzyskane wyniki badań epidemiologiczno – diagnostycznych powinny stać się inspiracją dla dalszych poszukiwań

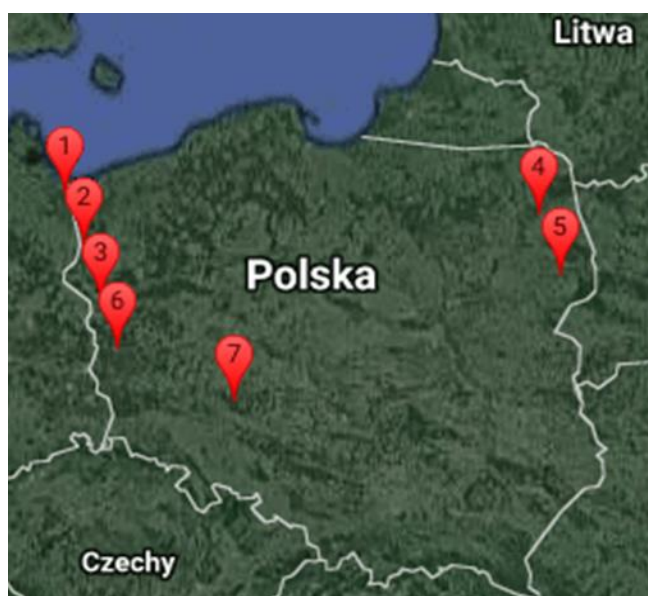
obecności wirusa wśród mieszkańców różnych regionów naszego kraju, zwłaszcza pochodzących z zawodowych grup ryzyka, szczególnie podatnych na zakażenia WNV w naturalnym środowisku przyrodniczym. Bardzo obiecującym wydaje się być poddanie kolejnej analizie immunodiagnostycznej i molekularnej zarówno wektorów, jak i wędrownych i osiadłych ptaków zasiedlających obszar kompleksów leśnych i dolin rzecznych w gminie Godziesze Wielkie, z której pochodził rolnik z niewielkim stężeniem swoistych przeciwciał we krwi obwodowej.

5.5. Wędrowki ptaków a ryzyko rozprzestrzenienia wirusa Zachodniego Nilu na terenie naszego kraju

W Polsce stwierdzono naturalne występowanie 451 gatunków ptaków lęgowych i zimujących (Komisja Faunistyczna, stan na dzień 31 grudnia 2015 roku). Spośród nich, 15 gatunków to ptaki zagrożone wyginięciem w skali globalnej (np. bernikla rdzawoszyja, raróg czy wodniczka). Poza tym w Polsce zamieszkuje ponad 10% populacji europejskiej bociana białego (zimuje w Afryce od Kenii i Ugandy aż po Republikę Południowej Afryki), wodniczki, żurawia, bielika, bociana czarnego (zimowiska od Doliny Nilu poprzez Sudan Południowy, Ugandę i Republikę Środkowej Afryki), orlika krzykliwego (zimuje w Afryce Środkowej i Wschodniej), czy bąka. Konieczne było zatem wyznaczenie na terenie kraju specjalnych obszarów szczególnej ochrony, tzw. ostoji ptaków. Łącznie, ptasie ostoje o znaczeniu międzynarodowym zajmują powierzchnię ponad 64 tys. km², czyli niemal 20% powierzchni naszego kraju. Najważniejszymi ostojami znajdującymi się na terenie Polski są Zalew Szczeciński, Dolina Dolnej Odry, Ujście Warty, Dolina Biebrzy, Dolina Górnej Narwi, Dolina Środkowej Odry i Dolina Baryczy (Ryc. 56) (Wilk i wsp., 2010).

Polska znajduje się na trasie przelotów bardzo wielu gatunków ptaków migrujących, które niekiedy w bardzo licznych stadach wykorzystują naturalne, niepoddane ingerencji człowieka doliny rzeczne oraz rozwiniętą linię nadmorską. Liczne ostoje stanowią bardzo ważny punkt przystankowy na trasie dalszych migracji, a niektóre z nich są miejscem docelowym bardzo odległych podróży. Ochrona ważnych na mapie świata tradycyjnych punktów postoju może mieć kluczowe znaczenie dla przetrwania niekiedy całych gatunków. Biegusy rdzawe wędrują każdego roku z Afryki na Syberię, a na trasie swojej migracji wykonują jeden postój na płycznach Morza Wattów. Inny podgatunek tych ptaków wędruje rokrocznie z zimowisk w Patagonii na lęgowiska w Kanadzie. Miejscem przystankowym

o kluczowym znaczeniu dla ich migracji jest Zatoka Delaware u wschodnich wybrzeży USA (Sikora i wsp., 2011). Na terenie Polski również znajdują się ważne punkty przystankowe dla ptaków migrujących. W przypadku trzech gatunków ptaków – żurawia, gęsi białoczelnej i gęsi zbożowej Polska jest punktem przystankowym o znaczeniu międzynarodowym, a w ostojach na terenie naszego kraju zatrzymuje się ponad 1% populacji wędrownej. Ważne punkty przystankowe w Polsce ma także łabędź krzykliwy, mewa mała i bielaczka. W morskich ostojach zatrzymują się ptaki zimujące, jak alka, nurnik, markaczka, uhła i lodówka (Wilk i wsp., 2010).



Ryc. 57. Najważniejsze ostoje ptaków w Polsce.

Usytuowanie geograficzne naszego kraju powoduje, że są tu zlokalizowane niezwykle ważne ostoje, szczególnie dla ptaków wodno – błotnych. W wielu z nich zauważano niezwykle duże populacje ptaków migrujących, niekiedy przekraczające 100 tys. osobników – np. nad Zalewem Szczecińskim, w Dolinie Dolnej Odry, nad Ujściem Warty, Zatoką Pucką, w Dolinie Biebrzy. Zalew Szczeciński to jedna z najistotniejszych w kraju ostoi dla ptaków migrujących i zimujących. Obserwowano tu populacje ptaków wodno - błotnych liczące 150 tys. osobników w zimie oraz 250 tys. podczas migracji. Ostoja ta jest kluczowym w skali kraju lęgowiskiem zwłaszcza dla ohara (zimuje w basenie Morza Śródziemnego), kani rudej (zimuje nad Morzem Śródziemnym), kani czarnej (zimuje na południe od Sahary), bielika (gatunek osiadły), derkacza (zimowiska w Afryce Wschodniej) oraz wąsatki (ptak osiadły). W okresie pozalęgowym Zalew Szczeciński jest bardzo ważną ostoją dla gęsi zbożowej, łabędzia

krzykliwego, łyski, kormorana, mewy siodłatej, mewy małej, rybitwy czarnej i rybitwy wielkodziobej (Richarz i Puchta, 2006; Wilk i wsp., 2010).

Dolina Dolnej Odry to również jedno z ważniejszych miejsc na mapie Polski dla ptaków wodno – błotnych, których populacje przekraczają tu 150 tys. osobników wiosną oraz 50 tys. osobników jesienią i zimą. Ostoja ta jest także jednym z najważniejszych w kraju lęgowisk łąbiedzia niemego (zimuje u wybrzeży Morza Kaspijskiego), krakwy (zimowiska w Europie Zachodniej i Południowej oraz w Afryce Północnej), kani czarnej, kani rudej, bielika, błotniaka stawowego (zimuje w Afryce Środkowej i Wschodniej), kropiatki (zimuje w Europie Zachodniej i Afryce Południowej), derkacza, żurawia (zimuje na Półwyspie Iberyjskim oraz na wybrzeżu północnej Afryki), podróżniczka (zimowiska w północnej Afryce) i brzęczki (zimowiska w Afryce) (Richarz i Puchta, 2006; Wilk i wsp., 2010).

Ujście Warty to teren przyrodniczy o znaczeniu nie tylko ogólnopolskim, ale także ogólnoeuropejskim. Podczas migracji może się tu zatrzymać nawet kilkaset tysięcy ptaków, poza tym miejsce to jest jednym z najważniejszych noclegowisk żurawi i gęsi w Europie. Jesienią można tu obserwować nawet kilkaset czapli białych (zimujących w północnej i środkowej Afryce). Wśród ptaków zaliczanych do siewkowców występujących na terenie Ujścia Warty w dużych populacjach wymienić należy kulika wielkiego (zimowiska w Europie Zachodniej i Południowej) oraz rycyka (zimuje w basenie Morza Śródziemnego i Afryce Subsaharyjskiej). Populacje derkacza i kropiatki na terenie Ujścia Warty należą do najliczniejszych w kraju. W tej ostoi lęgowska swe posiada wiele gatunków kaczek, z których wyróżnić można liczną populację krakwy (Richarz i Puchta, 2006; Wilk i wsp., 2010).

Ostoja w Zatoce Puckiej to jedno z najważniejszych miejsc zimowania i postoju ptaków wodnych zlokalizowanych na polskich wodach przybrzeżnych. Populacje ptaków przekraczają tu 20 tys. osobników. Rokrocznie obserwować tu można ponad 100 tys. ptaków wodnych, spośród których najliczniejsze są populacje kormoranów (zimowiska na południu Europy), łyski (część polskiej populacji zimuje w okolicy ciepłych jezior w Koninie, pozostała populacja migruje na południe Europy), czernicy (zimuje na Morzu Bałtyckim lub na południu Europy), łąbiedzia niemego, krzyżówki (gatunek osiadły), nurogęsi (zimuje w Polsce), lodówki (zimuje w Polsce), ogorzalki (zimuje u wybrzeży Bałtyku), łąbiedzia krzykliwego (zimuje w Polsce) i gągoła (zatrzymuje się w Polsce podczas migracji). Migrujące ptaki siewkowe również często zatrzymują się na brzegach Zatoki Puckiej (Richarz i Puchta, 2006; Wilk i wsp., 2010).

W Dolinie Biebrzy znajdują się nieliczne w Polsce turzycowiska zamieszkiwane przez najcenniejsze gatunki ptaków w tej ostoi, m.in. cietrzewia (ptak osiadły), uszatkę błotną (zimowiska nad Morzem Śródziemnym), dubelta (zimuje w Afryce Subsaharyjskiej)

i wodniczkę (zimowiska w Afryce Zachodniej). W innych częściach tej ostoi pojawiają się ptaki niestroniące od towarzystwa ludzi, jak rybitwa białoczelna (zimuje na wschodnich wybrzeżach Afryki oraz nad Morzem Śródziemnym) i rzeczna (zimowiska w Afryce), kulik wielki, czy sieweczka obroźna. Na licznych w tej ostoi starorzeczach i rozlewiskach doskonale czują się rybitwa czarna (zimowiska u zachodnich wybrzeży Afryki) i białoskrzydła (zimująca w Afryce), zielonka (zimuje w Europie Południowej oraz w północnej i wschodniej Afryce) i kropiatka. Dolina Biebrzy to także teren lęgowy cennych gatunków ptaków leśnych – dzięcioła trójpalczastego, białogrzbietego i zielonosiwego (gatunki osiadłe) (Richarz i Puchta, 2006; Wilk i wsp., 2010).

Innymi ważnymi dla ptaków migrujących ostojami w Polsce są miejsca, w których ich liczebność osiąga ponad 50 tys. osobników – np. Miedwie, Zbiornik Jeziorsko, Zbiornik Otmuchowski, Zbiornik Mietkowski, Dolina Nidy, czy Dolina Baryczy. Jezioro Miedwie stanowi bardzo istotną ostoję dla ptaków wodno – błotnych zarówno w okresie migracji, jak i podczas zimowisk. Ich zgrupowania mogą sięgać 40 tys. osobników zimą oraz 77 tys. osobników podczas migracji, a najliczniejszymi gatunkami są gęś zbożowa, gęś białoczelna, perkoz dwuczuby (zimuje w Afryce Zachodniej i basenie Morza Śródziemnego), żuraw, łyska, siewka złota i czajka (zimuje w Europie Zachodniej, basenie Morza Śródziemnego i w Afryce Północnej). Zbiornik Jeziorsko podczas wiosennej i jesiennej migracji stanowi bardzo ważne miejsce wypoczynku dla ptaków wodno – błotnych, które mogą się tu gromadzić w liczbie do niemal 78 tys. Obserwowane są tu liczne krzyżówki, cyraneczki (zimowiska w Afryce Północnej i w Dolinie Nilu), gęsi zbożowe, perkozy dwuczube i rdzawoszyje, żurawie, kormorany i mewy małe. Zbiornik Mietkowski to jedno z ważniejszych w kraju miejsc przystankowych i zimowisk gęsi. Koncentracja niektórych gatunków może wynosić kilkadziesiąt tysięcy osobników. Ostoja ta ma też bardzo duże znaczenie dla przelatujących nad Polską siewkowców. Zbiornik Otmuchowski natomiast gromadzi około 1% populacji szlaku wędrówkowego gęsi zbożowej. Jest to teren o dużym znaczeniu także dla gęsi białoczelnej, cyraneczki, krzyżówki i czajki. Ostoja ta jest również ważnym obszarem przystankowym dla migrujących ptaków siewkowatych. Dolina Baryczy to również istotny punkt przystankowy, w którym w szczycie przelotów można spotkać około 40 – 70 tys. ptaków. W okresie łagodnej zimy miejsce to stanowi zimowisko dla gęsi zbożowej, nurogęsi czy krzyżówki. Kolejnym ważnym terenem dla ptaków wodno – błotnych jest Dolina Nidy, stanowiąca jednocześnie jedno z najważniejszych miejsc lęgowych derkacza, zielonki, kropiatki, bączka, dzięcioła białoszyjego i błotniaka stawowego (Richarz i Puchta, 2006; Wilk i wsp., 2010).

Większość ptaków, która na terenie Polski ma doskonałe miejsca lęgowe, migruje na zimowiska najczęściej na południe, do basenu Morza Śródziemnego lub dalej, do Afryki. Jedną z najdalszych podróży odbywa bocian biały, który zimuje w Afryce Wschodniej i Południowej. Na drodze swej wędrówki ptak ten ma liczne miejsca przystankowe, w których odpoczywa, zbierając siły przed dalszym lotem. Dużo trudniejszym okazuje się nieprzerwany lot nad Morzem Śródziemnym i Saharą. Rokitniczka, pliszka żółta i kukułka zwyczajna potrafią pokonać ten dystans liczący około 1,5 tys. – 2,5 tys. kilometrów bez żadnego międzylądowania (Newton, 2008). Tereny, na których polskie populacje ptaków spędzają czas zimą, obarczone są wysokim zagrożeniem transmisji wirusa Zachodniego Nilu. Został on bowiem wyizolowany w Senegalu, Algierii, Wybrzeżu Kości Słoniowej, Etiopii, Nigerii, Ugandzie, Republice Środkowej Afryki, Republice Południowej Afryki, Egipcie, Kenii, Tunezji, Maroku, Demokratycznej Republice Konga oraz na Madagaskarze i wyspie Reunion (Mackenzie i wsp., 2002). Dodatkowo, spośród krajów europejskich, jego obecność wykazano w Hiszpanii, Francji, we Włoszech, Grecji oraz Turcji.

Wykazanie obecności wirusa Zachodniego Nilu na terenie kraju, w którym dotąd nie notowano zakażeń u ludzi ma istotne znaczenie epidemiologiczne dla zdrowia publicznego. Głównie ze względu na umieszczenie tego patogenu na liście czynników infekcyjnych, w kierunku których należy przeprowadzić rutynową diagnostykę u honorowych krwiodawców oraz dawców przeszczepów tkankowych. Zdarzały się bowiem przypadki zakażenia wirusem podczas transfuzji krwi czy przeszczepienia narządów wewnętrznych.

Bardzo istotne jest prowadzenie systematycznych szkoleń dla lekarzy pierwszego kontaktu, specjalistów chorób zakaźnych, czy lekarzy medycyny podróży na temat zakażeń wywoływanych przez arbowirusy i podawanie bieżących informacji o aktualnie toczących się epidemiach stanowiących szczególne zagrożenie zdrowotne na odwiedzanych obszarach geograficznych (Reusken i wsp., 2013; Jeong i wsp., 2016).

6. WNIOSKI

- 1. Ze względu na gwałtowne rozprzestrzenianie się wirusa Zachodniego Nilu na całym świecie istnieje pilna potrzeba informowania turystów korzystających z aktywności sportowo-rekreacyjnej w naturalnym środowisku przyrodniczym o istotnym zagrożeniu zdrowotnym związanym z wyjazdem do krajów odmiennej strefy klimatyczno-środowiskowej przez specjalistów chorób zakaźnych lub lekarzy medycyny podróży.**
- 2. Na terenach endemicznych wskazane jest zapobieganie ukłuciom komarów przenoszących wirusa Zachodniego Nilu przez osoby podróżujące na obszarach tropikalnych lasów deszczowych, wilgotnej sawanny drzewiastej oraz wypoczywających nad rzeką lub jeziorem zasiedlanym przez wędrowne ptaki wodno-błotne.**
- 3. Gorączka Zachodniego Nilu jest chorobą infekcyjną dość często występującą wśród osób powracających do Polski z długoterminowych podróży międzynarodowych o charakterze misyjnym i humanitarnym oraz zawodowym.**
- 4. Sugeruje się konieczność rutynowego uwzględniania zakażenia wirusem Zachodniego Nilu w diagnostyce różnicowej stanów gorączkowych, bólów głowy i objawów neurologicznych o nieustalonej etiologii u osób podróżujących do obszarów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej, zwłaszcza krajów afrykańskich, Australii i Rosji.**
- 5. Stwierdzono prawdopodobną możliwość rodzimej transmisji wirusa Zachodniego Nilu na terytorium Polski u osoby niewyjeżdżającej z kraju, szczególnie narażonej na liczne ukłucia owadów na terenach leśnych, a także mającej zawodowy kontakt ze środowiskiem wiejskim oraz osiadłymi i wędrownymi ptakami.**
- 6. Z uwagi na wykazaną w badaniach potencjalną obecność wirusa Zachodniego Nilu na obszarach rolniczych południowej Wielkopolski, konieczne jest wprowadzenie systematycznego monitorowania epidemiologicznego i laboratoryjnego mieszkańców tego rejonu geograficznego, wykazujących aktywność zawodową i rekreacyjną w naturalnym środowisku przyrodniczym.**

7. STRESZCZENIE

Wprowadzenie: Wirus Zachodniego Nilu (WNV) jest jedynym arbowirusem obecnym na wszystkich kontynentach kuli ziemskiej z wyjątkiem Antarktydy. Jego rezerwuarem są ptaki, zarówno gatunki osiadłe, jak i migrujące. To właśnie tym ostatnim przypisuje się szczególną rolę w gwałtownym rozprzestrzenianiu geograficznym patogenu na świecie. Wiele gatunków ssaków może pełnić rolę żywiciela przypadkowego wirusa, jednak tylko u ludzi i koni stwierdza się występowanie groźnych dla życia i zdrowia neuroinfekcji – zapalenia mózgu lub opon mózgowo – rdzeniowych. Za przenoszenie zakażeń wirusem Zachodniego Nilu odpowiedzialne są komary, ale mianem mostu łączącego żywicieli specyficznych i przypadkowych określa się owady z rodzaju *Culex*. Wirus Zachodniego Nilu występując endemicznie w Europie Południowej, Afryce, Ameryce Północnej oraz Australii, może stanowić znaczące zagrożenie zdrowotne dla Polaków odbywających podróże międzynarodowe.

Cele pracy: (1) Określenie czynników ryzyka sprzyjających zakażeniu wirusem Zachodniego Nilu u osób podróżujących do krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej; (2) Oznaczenie częstości występowania swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu u pacjentów powracających do Polski z obszarów odmiennej strefy klimatyczno-środowiskowej i sanitarno-higienicznej; (3) Ocena występowania objawów klinicznych gorączki Zachodniego Nilu u pacjentów hospitalizowanych w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu po powrocie do kraju z obszarów endemicznego występowania choroby; (4) Analiza częstości występowania swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu wśród zawodowych grup ryzyka narażonych na potencjalne występowanie autochtonicznego zakażenia w Polsce; (5) Wykazanie możliwości rodzimej transmisji wirusa Zachodniego Nilu wśród polskiej populacji u osób niewyjeżdżających poza granice kraju.

Materiał i metody: Badania kliniczne, epidemiologiczne oraz immunodiagnostyczne w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu przeprowadzono w próbie populacji 88 osób podróżujących do krajów odmiennej strefy klimatyczno-środowiskowej i sanitarno-higienicznej w wieku od 25 do 80 lat (średnia wieku $44,2 \pm 12,8$ lat), w tym u 42 kobiet i 46 mężczyzn. Do grupy badanej należało 87 Polaków oraz jeden Nigeryjczyk. Grupę kontrolną stanowiło 50 pacjentów w wieku od 21 do 75 lat (średnia wieku $50,2 \pm 14,8$ lat), w tym 20 kobiet i 30 mężczyzn nigdy niewyjeżdżających poza granice kraju oraz szczególnie narażonych na ukłucia komarów. Do grupy kwalifikowano zarówno osoby wykonujące czynności

zawodowe związane z większym narażeniem na ukłucia owadów (rolnicy, leśnicy, myśliwi, drwale, architekci, geolodzy, ornitolodzy, hodowcy ryb, weterynarze, przewodnicy wycieczek), jak i osoby spędzające czas wolny oraz uprawiające sport rekreacyjnie lub wyczynowo na otwartej przestrzeni (zbieranie grzybów i jagód, wycieczki do lasu, nad rzekę i/lub jezioro, bieganie w parku, kajakarstwo, pływanie, kolarstwo, wędkarstwo, fotografowanie przyrody).

Badanie poziomu swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu w surowicy krwi obwodowej pacjentów grupy badanej i grupy kontrolnej przeprowadzono z wykorzystaniem referencyjnego testu immunoenzymatycznego West Nile Detect™ IgM Capture ELISA oraz West Nile Detect™ IgG ELISA (InBios International, Seattle, Washington, USA). Wywiad epidemiologiczny zbierano w oparciu o oryginalną ankietę przeznaczoną dla pacjentów podróżujących za granicę celem określenia głównych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu. Uzyskane na jej podstawie informacje uwzględniały kierunek podróży oraz długość i miejsce pobytu, środowisko geograficzno - przyrodnicze, w którym przebywał pacjent, cel wyjazdu zagranicznego, jego charakter oraz warunki socjoekonomiczne pobytu. Dla osób wyjeżdżających w celach zawodowych konieczne było określenie charakteru wykonywanej pracy. Kolejna grupa pytań dotyczyła rodzaju aktywności rekreacyjnej i sportowej, posiadanych pasji i zainteresowań oraz lokalizacji zakwaterowania mogących mieć wpływ na zwiększone narażenie na ukłucia komarów.

Wyniki: W grupie 88 osób podróżujących wartości indeksu testu immunoenzymatycznego wykrywającego swoiste przeciwciała IgM kierunku WNV wahały się w zakresie 0,915 – 9,873 (średnia $1,264 \pm 0,950$), natomiast dla przeciwciał IgG wynosiły one 0,823 – 4,193 (średnia $1,243 \pm 0,644$). Obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu stwierdzono u 6 spośród 88 pacjentów powracających do Polski z wyjazdów międzynarodowych (6,8%), co stanowiło 68 pacjentów na 1000 osób podróżujących (zakres: 25,4 – 142,5 na 1000 osób). U jednej osoby stwierdzono wysoki poziom swoistych przeciwciał IgM (1,1%), u czterech pacjentów wysokie wartości immunoglobuliny w klasie IgG (4,5%), u jednego natomiast graniczny poziom swoistych przeciwciał IgG (1,1%). W grupie 6 osób, w wieku od 27 do 59 lat (średnia 43,5 lat), u których stwierdzono zakażenie WNV po powrocie z podróży międzynarodowej było pięciu mężczyzn oraz jedna kobieta. Krajami docelowymi podróży, z których importowano do Polski przypadki zakażenia WNV były Benin (n=2), Republika Środkowej Afryki (n=1), Madagaskar (n=1), Rosja (n=1) oraz Australia (n=1). Celem podróży tych pacjentów była praca duszpasterska i humanitarna w ośrodkach misyjnych (n=4) oraz wyjazd w celach zawodowych (n=2). Wszyscy pacjenci z wykazaną seropozytywnością przebywali na wyjazdach długoterminowych, a czas ich pobytu w tropiku

wynosił od 18 do 36 miesięcy (średnio 26 miesięcy). Osoby zakażone WNV podróżowały po obszarach wiejskich lub dzielnicach biedoty, przebywały w tropikalnym lesie deszczowym, na obszarze drzewiastej sawanny, podmokłej łące lub pastwisku, nocowały w okolicy rzeki lub jeziora, w pobliżu siedlisk dzikich ptaków wodno-błotnych. Do objawów klinicznych najczęściej zgłaszanych przez pacjentów serpozytywnych w kierunku WNV należała gorączka, znaczne osłabienie ogólne, wzmożona potliwość, dreszcze, bóle głowy oraz objawy neurologiczne.

Wśród 50 pacjentów grupy kontrolnej, niewyjeżdżających poza granice Polski, wartości indeksu techniki immunoenzymatycznej wykrywającej swoiste przeciwciała IgM w kierunku Wirusa Zachodniego Nilu zawierały się w przedziale 0,983 - 1,825 (średnia $1,184 \pm 0,181$), natomiast poziomy IgG anty - WNV wahały się w zakresie 0,823 – 4,193 (średnia $1,243 \pm 0,644$). Obecność granicznego poziomu swoistych przeciwciał IgG przeciwko WNV stwierdzono u jednego spośród 50 pacjentów zakwalifikowanych do grupy kontrolnej, którzy nigdy nie opuszczali terytorium naszego kraju (2,0%), co stanowiło 20 przypadków na 1000 mieszkańców Polski (zakres 0,5 – 106,5 na 1000 mieszkańców). Mężczyzna ten pochodził z terenów wiejskich w miejscowości Godziesze Małe, w gminie Godziesze Wielkie w południowej części powiatu kaliskiego, w centralnej Polsce. Pacjent mieszkał w domu jednorodzinnym wolnostojącym oraz często obserwował na swojej skórze ukłucia komarów w pobliżu miejsca zamieszkania. Pacjent zawodowo zajmował się rolnictwem (pole uprawne, sad owocowy) oraz transportem i obróbką drewna. W wolnych chwilach interesował się myślistwem, wędkarstwem, zbieraniem grzybów oraz hodowlą kwiatów. Uprawiał także sport na otwartej przestrzeni (jogging w lesie, jazda na rowerze, kąpiel w otwartych zbiornikach wodnych). Uczestniczył bardzo często w wycieczkach do lasu, na łąkę oraz nad jezioro i rzekę. Korzystał ponadto z usług gospodarstw agroturystycznych oraz brał udział w spotkaniach rodzinnych na łonie natury w porze wieczornej (spotkania w ogrodzie, grilowanie), podczas których często obserwował u siebie ukłucia komarów.

Wnioski: (1) Ze względu na gwałtowne rozprzestrzenianie się wirusa Zachodniego Nilu na całym świecie istnieje pilna potrzeba informowania turystów, korzystających z aktywności sportowo-rekreacyjnej w naturalnym środowisku przyrodniczym, o istotnym zagrożeniu zdrowotnym związanym z wyjazdem do krajów odmiennej strefy klimatyczno-środowiskowej przez specjalistów chorób zakaźnych lub lekarzy medycyny podróży; (2) Na terenach endemicznych wskazane jest zapobieganie ukłuciom komarów przenoszących wirusa Zachodniego Nilu przez osoby podróżujące po obszarach tropikalnych lasów deszczowych, wilgotnej sawanny drzewiastej oraz wypoczywających nad rzeką lub jeziorem zasiedlanym

przez wędrowne ptaki wodno-błotne; (3) Gorączka Zachodniego Nilu jest chorobą infekcyjną dość często występującą wśród osób powracających do Polski z długoterminowych podróży międzynarodowych o charakterze misyjnym i humanitarnym oraz zawodowym; (4) Sugeruje się konieczność rutynowego uwzględniania zakażenia wirusem Zachodniego Nilu w diagnostyce różnicowej stanów gorączkowych, bólów głowy i objawów neurologicznych o nieustalonej etiologii u osób podróżujących do obszarów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej, zwłaszcza krajów afrykańskich, Australii i Rosji; (5) Stwierdzono prawdopodobną możliwość rodzimej transmisji wirusa Zachodniego Nilu na terytorium Polski u osoby niewyjeżdżającej z kraju, szczególnie narażonej na liczne ukłucia owadów na terenach leśnych, a także mającej zawodowy kontakt ze środowiskiem wiejskim oraz osiadłymi i wędrownymi ptakami; (6) Z uwagi na wykazaną w badaniach potencjalną obecność wirusa Zachodniego Nilu na obszarach rolniczych południowej Wielkopolski, konieczne jest wprowadzenie systematycznego monitorowania epidemiologicznego i laboratoryjnego mieszkańców tego rejonu geograficznego, wykazujących aktywność zawodową i rekreacyjną w naturalnym środowisku przyrodniczym.

Słowa kluczowe: wirus Zachodniego Nilu, rozprzestrzenienie geograficzne, czynniki ryzyka, immunodiagnostyka, zakażenie autochtoniczne, medycyna podróży, choroby tropikalne.

ABSTRACT

Introduction: West Nile virus (WNV) is currently the only arbovirus observed on all continents except Antarctica. Its reservoir are birds, both sedentary and migratory species, the latter ones believed to be responsible for a rapid geographical spread of the pathogen all over the world. Many species of mammals may play an accidental role of the virus host, but only humans and horses exhibit dangerous neuroinfections – i.e. encephalitis or meningitis – that are health and life threatening. Mosquitoes are responsible for the transmission of WNV infections, however *Culex* spp. are considered to be a bridge between specific and accidental hosts. WNV is endemic in southern Europe, Africa, North America, and Australia, and is likely to pose significant danger to the health of Polish travelers engaged on international journeys.

Aims: This study was carried out in order (1) to determine potential risk factors of WNV infection in people traveling to countries in the tropical or the Mediterranean zone;

(2) to estimate the prevalence of WNV-specific antibodies in patients returning to Poland from areas of different climatic, sanitary and hygienic conditions; (3) to evaluate clinical symptoms of West Nile fever in a group of patients hospitalized in the Department and Clinic of Tropical and Parasitic Diseases, Poznań University of Medical Sciences (Poland), after returning to the country from endemic areas; (4) to analyze the incidence of WNV-specific antibodies among the representatives of the occupational risk groups exposed to a potential risk of autochthonous infection in Poland; and (5) to demonstrate the possibility of domestic transmission of WNV among a Polish population in persons not leaving the country.

Materials and methods: Clinical and epidemiological examinations as well as immunodiagnostic assays for WNV infection were conducted in a cohort of 88 patients traveling to the areas of different climatic and sanitary-hygienic standards, aged 25 to 80 years (mean age 44.2 ± 12.8 years), including 42 women and 46 men. The study group included 87 Poles and 1 Nigerian. The control group consisted of 50 patients aged from 21 to 75 years (mean age 50.2 ± 14.8 years), including 20 women and 30 men, that never left Poland and were particularly exposed to mosquito bites in a natural environment. Patients qualified to the control group included persons performing occupational activities associated with greater exposure to insect bites (i.e. farmers, foresters, hunters, loggers, architects, geologists, ornithologists, fish farmers, veterinarians, and tour guides), as well as people who spend free time or play sports recreationally or professionally in the open space (mushrooms and berries picking, trips to the forest, river or lakes, jogging in the park, canoeing, swimming, cycling, fishing, and photographing wildlife). Levels of WNV-specific antibodies in serum samples in the study and the control group were carried out using reference immunodiagnostic West Nile Detect™ IgM Capture ELISA and West Nile Detect™ IgG ELISA (InBios International, Seattle, Washington, USA). Epidemiological interview based on the original questionnaire for patients traveling abroad was collected to determine the main risk factors of West Nile virus infection. The obtained information was referring to i.a. the destination of travel, the length and place of stay, geoenvironmental details, the purpose and character of traveling abroad, and socioeconomic conditions of stay. Patients traveling for professional reasons were asked to specify the nature of their work. The last group of questions related to the type of recreational activity and sport, passions and interests, and location of accommodation that could affect the increased exposure to mosquito bites.

Results: In the study group of 88 patients, the index values for detecting WNV-specific IgM antibody ranged from 0.915 to 9.873 (mean 1.264 ± 0.950), and titers for IgG antibody reached from 0.823 to 4.193 (mean 1.243 ± 0.644). The presence of specific antibodies against

WNV was found in 6 of the 88 patients returning to Poland from international travels (6.8%), which accounts for 68 patients per 1000 traveling people (range: 25.4 - 142.5 per 1,000 people). One male expressed a high value of WNV-specific IgM antibody (1.1%), another four patients – high levels of specific IgG (4.5%), whereas one patient exhibited an equivocal level of specific IgG (1.1%). The group of infected patients was aged from 27 to 59 years (mean age 43.5 years) and included 1 woman and 5 men. Travel destination countries, from which WNV was imported to Poland were as follows: Benin (n=2), Central African Republic (n=1), Madagascar (n=1), Russia (n=1), and Australia (n=1). The purpose of travel was pastoral and humanitarian mission work (n=4) or other professional reasons (n=2). All patients demonstrating seropositivity were staying on long-term trips – the time of their stay in the tropical and subtropical zone ranged from 18 to 36 months (mean 26 months). Patients infected with WNV were traveling through rural areas or poor neighborhoods, dwelled in the tropical rain forest, areas of woody savannah, wet meadows or grasslands, stayed overnight near a river, lake, or a habitat of wild waterfowl. Clinical symptoms most commonly reported by seropositive patients included fever, severe overall weakness, sweating, chills, headache and neurological symptoms.

In the control group of 50 patients, that never left Polish borders, the index values of the enzyme immunoassay for West Nile virus-specific IgM antibody ranged from 0.983 to 1.825 (average 1.184 ± 0.181), whereas levels of anti-WNV IgG reached from 0.823 to 4.193 (average 1.243 ± 0.644). The presence of the borderline level of specific IgG antibody to WNV was found in one of the 50 patients enrolled in the control group (2.0%), which accounts for 20 cases per 1,000 Polish inhabitants (range 0.5-106.5 per 1000 inhabitants). That patient comes from rural areas of Godziesze Małe, in the municipality of Godziesze Wielkie, located in the southern part of the district of Kalisz, in central Poland. The patient lives in a detached house and often observes mosquitoes near his residence. The patient deals professionally with agriculture (field crops, fruit trees) and the transportation and processing of wood. In his spare time he is interested in hunting, fishing, gathering mushrooms and the cultivation of flowers. He plays sport in the open air (jogging in the woods, cycling, swimming in fresh water). He participates frequently in trips to the forest, meadows and lake or river. What is more, the patient willingly uses the services of rural tourism and takes part in open-air evening family meetings (garden, grill), during which he often gets mosquito bites.

Conclusions: (1) Due to the rapid spread of West Nile virus in the world, there is an urgent need to inform tourists enjoying the activity of sports and recreation in the natural environment, about a significant health threat associated with going to the countries of different climate zone; (2) In West Nile virus endemic areas, it is advisable to persons traveling to the tropical

rainforest, wet woody savannah and vacationing on a river or lake habituated by migratory wild waterfowl to use mechanical prophylaxis to avoid mosquito bites; (3) West Nile fever is an infectious disease, that often occurs among people returning to Poland from missionary and humanitarian or professional long-term international journeys; (4) It is suggested to take into account the need for routine West Nile virus infection screening in the differential diagnosis of fever, headache and neurological symptoms of unknown etiology in people traveling to areas of the tropical and Mediterranean zones, especially African countries, Australia and Russia; (5) The data suggest probable possibility of indigenous transmission of West Nile virus on the Polish territory in a person claiming never leaving the country, particularly exposed to the numerous bites of insects in forested areas as well as having professional contact with the rural environment and sedentary or migratory birds; (6) Due to the potential presence of the West Nile virus in the agricultural areas of southern Wielkopolska Province, it is necessary to perform systematic epidemiological and laboratory monitoring of the inhabitants of this geographic area showing occupational and recreational activity in the natural environment.

Keywords: West Nile virus, geographical distribution, risk factors, immunodiagnostics, autochthonous infection, travel medicine, tropical diseases.

8. PIŚMIENICTWO

1. Abad-Cobo A., Llorente F., del Carmen Barbero M., Cruz-Lopez F. i wsp. Serosurvey reveals exposure to West Nile virus in asymptomatic horse populations in Central Spain prior to recent disease foci. *Transbound Emerg Dis.* 2016; doi: 10.1111/tbed.12510.
2. Aboutaleb N., Beersma M.F., Wunderink H.F., Vossen A.C., Visser L.G. West Nile virus infection in two Dutch travellers returning from Israel. *Euro Surveill.* 2010; 15(34): pii=19649.
3. Abutarbush S.M., Al-Majali A.M. West Nile virus infection in horses in Jordan: clinical cases, seroprevalence and risk factors. *Transbound Emerg Dis.* 2014; 61(Suppl1): 1-6.
4. Aharonson-Raz K., Lichter-Peled A., Tal S., Gelman B. i wsp. Spatial and temporal distribution of West Nile virus in horses in Israel (1997–2013) - from endemic to epidemics. *PLoS ONE.* 2014; 9(11): doi:10.1371/journal.pone.0113149.
5. Ahmetagić S., Petković J., Hukić M., Smriko-Nuhanović A., Piljić D. Human West Nile virus infection in Bosnia and Herzegovina. *Med Glas (Zenica).* 2015; 12(1): 47-51.
6. Anukumar B., Sapkal G.N., Tandale B.V., Balasubramanian R., Gangale D. West Nile encephalitis outbreak in Kerala, India, 2011. *J Clin Virol.* 2014; 61: 152–155.
7. Aubry M., Finke J., Teissier A., Roche C. i wsp. Seroprevalence of arboviruses among blood donors in French Polynesia, 2011–2013. *Int J Infect Dis.* 2015; 41: 11–12.
8. Auguste A.J., Liria J., Forrester N.L., Giambalvo D. i wsp. Evolutionary and ecological characterization of Mayaro virus strains isolated during an outbreak, Venezuela, 2010. *Emerg Infect Dis.* 2015; 21(10): 1742-1750.
9. Baaten G.G., Sonder G.J., Zaaijer H.L., van Gool T. i wsp. Travel-related dengue virus infections, the Netherlands, 2006-2007. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17: 821-828.
10. Bagheri M., Terenius O., Oshaghi M.A., Motazakker M. i wsp. West Nile virus in mosquitoes of Iranian wetlands. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015; 15(12): 750-754.
11. Bakonyi T., Hubalek Z., Rudolf I., Nowotny N. Novel Flavivirus or new lineage of West Nile virus, Central Europe. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11(2): 225-231.
12. Bakonyi T., Ivanics E., Erdélyi K., Ursu K. i wsp. Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, Central Europe. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12(4): 618-623.
13. Bakonyi T., Ferenczi E., Erdelyi K., Kutasi O. i wsp. Explosive spread of a neuroinvasive lineage 2 West Nile virus in Central Europe, 2008/2009. *Vet Microbiol.* 2013; 165: 61–70.

14. Balança G., Gaidet N., Savini G., Vollot B. i wsp. Low West Nile virus circulation in wild birds in an area of recurring outbreaks in Southern France. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6): 737-741.
15. Barakat A.M., Smura T., Kuivanen S., Huhtamo E. i wsp. The presence and seroprevalence of arthropod-borne viruses in Nasiriyah Governorate, Southern Iraq: a cross-sectional study. *Am J Trop Med Hyg.* 2016; 94(4): 794-799.
16. Bárdos V., Adamcová J., Dedei S., Gjini N. i wsp. Neutralizing antibodies against some neurotropic viruses determined in human sera in Albania. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* 1959; 3: 277-282.
17. Barrera R., Hunsperger E., Muñoz-Jordán J.L., Amador M. i wsp. First isolation of West Nile virus in the Caribbean. *Am J Trop Med Hyg.* 2008; 78(4): 666–668.
18. Barros S.C., Ramos F., Fagulha T., Duarte M. i wsp. Serological evidence of West Nile virus circulation in Portugal. *Vet Microbiol.* 2011; 152: 407-410.
19. Barzon L., Pacenti M., Franchin E., Pagni S. i wsp. Large human outbreak of West Nile virus infection in North-Eastern Italy in 2012. *Viruses.* 2013; 5: 2825-2839.
20. Barzon L., Pacenti M., Sinigaglia A., Berto A. i wsp. West Nile virus infection in children. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2015a; 13(11): 1373–1386.
21. Barzon L., Pacenti M., Ulbert S., Palù G. Latest developments and challenges in the diagnosis of human West Nile virus infections. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2015b; 13(3): 327-342.
22. Benjelloun A., El Harrak M., Belkadi B. West Nile disease epidemiology in North-West Africa: bibliographical review. *Transbound Emerg Dis.* 2016; 63(6): 153-159.
23. Bernkopf H., Lrvine S., Nerson R. Isolation of West Nile virus in Israel. *J Infect Dis.* 1953; 93(3): 207-218.
24. Bertelsen M.F., Olberg R.A., Crawshaw G.J., Dibernardo A. i wsp. West Nile virus infection in the eastern loggerhead shrike (*Lanius ludovicianus migrans*): pathology, epidemiology, and immunization. *J Wildl Dis.* 2004; 40(3): 538-542.
25. Bhatt S., Gething P.W., Brady O.J., Messina J.P. i wsp. The global distribution and burden of dengue. *Nature.* 2013; 496: 504-507.
26. Blázquez AB., Sáiz JC. West Nile virus (WNV) transmission routes in the murine model: Intrauterine, by breastfeeding and after cannibal ingestion. *Virus Res.* 2010; 151: 240–243.
27. Bondre V.P., Jadi R.S., Mishra A.C., Yergolkar P.N., Arankalle V.A. West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage. *J Gen Virol.* 2007; 88: 875-884.

28. Bosch I., Herrera F., Navarro J.C., Lentino M. i wsp. West Nile virus, Venezuela. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13(4): 651-653.
29. Brinton M.A. Replication cycle and molecular biology of the West Nile virus. *Viruses.* 2014; 6: 13-53.
30. Busch M.P., Kleinman S.H., Tobler L.H., Kamel H.T. i wsp. Virus and antibody dynamics in acute West Nile virus infection. *J Infect Dis.* 2008; 198(7): 984-993.
31. Cabre O., Grandadam M., Marié J.L., Gravier P. i wsp. West Nile virus in horses, Sub-Saharan Africa. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12(12): 1958-1960.
32. Calzolari M., Pautasso A., Montarsi F., Albieri A. i wsp. West Nile virus surveillance in 2013 via mosquito screening in Northern Italy and the influence of weather on virus circulation. *PLoS ONE.* 2015; 10(10): doi:10.1371/journal.pone.0140915.
33. Caraballo E.V., Hunsperger E., Martínez I. Characterization of Puerto Rican West Nile virus isolates in mice. *Virology.* 2015; 12: 137: doi: 10.1186/s12985-015-0363-8.
34. Chaintoutis S.C., Dovas C.I., Danis K., Gewehr S. i wsp. Surveillance and early warning of West Nile virus lineage 2 using backyard chickens and correlation to human neuroinvasive cases. *Zoonoses Public Health.* 2015; 62: 344–355.
35. Chancey C., Grinev A., Volkova E., Rios M. The Global ecology and epidemiology of West Nile virus. *Biomed Res Int.* 2015; doi: 10.1155/2015/376230.
36. Charles P.E., Zeller H., Bonnotte B., Decasimacker A.L. i wsp. Imported West Nile virus infection in Europe. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(6): 750.
37. Chevalier V., Reynaud P., Lefrançois T., Durand B. i wsp. Predicting West Nile virus seroprevalence in wild birds in Senegal. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6): 589-596.
38. Chinikar S., Javadi A., Ataei B., Shakeri H. i wsp. Detection of West Nile virus genome and specific antibodies in Iranian encephalitis patients. *Epidemiol Infect.* 2012; 140(8): 1525-1529.
39. Ciota A.T., Kramer L.D. Vector-virus interactions and transmission dynamics of West Nile virus. *Viruses.* 2013; 5: 3021-3047.
40. Claflin S.B., Webb C.E. Ross River virus: many vectors and unusual hosts make for an unpredictable pathogen. *PLoS Pathog.* 2015; 11(9): doi:10.1371/journal.ppat.1005070.
41. Cleton N., Koopmans M., Reimerink J., Godeke G.J., Reusken C. Come fly with me: Review of clinically important arboviruses for global travelers. *J Clin Virol.* 2012; 55: 191–203.

42. Cleton N.B., Reusken C.B., Wagenaar J.F., van der Vaart E.E. i wsp. Syndromic approach to arboviral diagnostics for global travelers as a basis for infectious disease surveillance. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9(9): doi:10.1371/journal.pntd.0004073.
43. Cnops L., Papa A., Lagra F., Weyers P. i wsp. West Nile virus infection in Belgian traveler returning from Greece. *Emerg Infect Dis*. 2013; 19(4): 684-685.
44. Colpitts T.M., Conway M.J., Montgomery R.R., Fikriga E. West Nile virus: biology, transmission, and human infection. *Clin Microbiol Rev*. 2012; 25(4): 635–648.
45. Colpitts TM. *West Nile Virus. Methods and Protocols*. New York, Humana Press, 2016: 1-294.
46. Connell J., McKeown P., Garvey P., Cotter S. i wsp. Two linked cases of West Nile virus (WNV) acquired by Irish tourists in the Algarve, Portugal. *Euro Surveill*. 2004; 8(32): pii=2517.
47. Cox S.L., Campbell G.D., Nemeth N.M. Outbreaks of West Nile virus in captive waterfowl in Ontario, Canada. *Avian Pathol*. 2015; 44(2): 135–141.
48. Csank T., Bhide K., Bencurova E., Dolinska S. i wsp. Detection of West Nile virus and tick-borne encephalitis virus in birds in Slovakia, using a universal primer set. *Arch Virol*. 2016; 161: 1679–1683.
49. Dahmani M., Alwassouf S., Grech-Angelini S., Marié J.L. i wsp. Seroprevalence of Toscana virus in dogs from Corsica, France. *Parasit Vectors*. 2016; 9: doi: 10.1186/s13071-016-1665-4.
50. Davoust B., Leparc-Goffart I., Demoncheaux J.P., Tine R. i wsp. Serologic surveillance for West Nile virus in dogs, Africa. *Emerg Infect Dis*. 2014; 20(8): 1415-1417.
51. Davoust B., Maquart M., Roqueplo C., Gravier P. i wsp. Serological survey of West Nile virus in domestic animals from Northwest Senegal. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2016; 16(5): 359-361.
52. Decam C. West Nile virus, human - France (ex Djibouti). *ProMED-mail* 2005; June 8, 20050607.1585.
53. Delbue S., Ferrante P., Mariotto S., Zanusso G. i wsp. Review of West Nile virus epidemiology in Italy and report of a case of West Nile virus encephalitis. *J Neurovirol*. 2014; 20: 437–441.
54. Del Giudice P., Schuffenecker I., Vandebos F., Counillon E., Zeller H. Human West Nile virus, France. *Emerg Infect Dis*. 2004; 10(10): 1885-1886.

55. Depoortere E., Kavle J., Keus K., Zeller H. i wsp. Outbreak of West Nile virus causing severe neurological involvement in children, Nuba Mountains, Sudan, 2002. *Trop Med Int Health*. 2004; 9(6): 730-736.
56. Diamond M.S. West Nile Encephalitis Virus Infection. *Viral Pathogenesis and the Host Immune Response*. New York, Springer-Verlag, 2009: 1-485.
57. Diaz L.A., Komar N., Visintin A., Dantur Juri M.J. i wsp. West Nile virus in birds, Argentina. *Emerg Infect Dis*. 2008; 14(4): 689-691.
58. Diaz L.A., Goñi S.E., Iserte J.A., Quaglia A.I. i wsp. Exploring genomic, geographic and virulence interactions among epidemic and non-epidemic St. Louis encephalitis virus (*Flavivirus*) strains. *PLoS ONE*. 2015; 10(8): doi:10.1371/journal.pone.0136316.
59. Dinu S., Cotar A.I., Pănculescu-Gătej I.R., Fălcută E. i wsp. West Nile virus circulation in south-eastern Romania, 2011 to 2013. *Euro Surveill*. 2015; 20(20): pii=21130.
60. Dridi M., Rauw F., Muylkens B., Lecollinet S. i wsp. Setting up a SPF chicken model for the pathotyping of West Nile virus (WNV) strains. *Transbound Emerg Dis*. 2013; 60(Suppl. 2): 51–62.
61. Dupuis A.P., Marra P.P., Reitsma R., Jones M.J. i wsp. Serologic evidence for West Nile virus transmission in Puerto Rico and Cuba. *Am J Trop Med Hyg*. 2005; 73(2): 474–476.
62. ECDC, 2011: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/Pages/2011-table.aspx
63. ECDC, 2012: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/Pages/2012-table.aspx
64. ECDC, 2013: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/Pages/2013-table.aspx
65. ECDC, 2014: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/Pages/2014-table.aspx
66. ECDC, 2015: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/Pages/2015-table.aspx
67. Elizondo-Quiroga D., Davis C.T., Fernandez-Salas I., Escobar-Lopez R. i wsp. West Nile virus isolation in human and mosquitoes, Mexico. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11(9): 1449-1452.
68. Elizondo-Quiroga D., Elizondo-Quiroga A. West Nile virus and its theories, a big puzzle in Mexico and Latin America. *J Glob Infect Dis*. 2013; 5(4): 168-175.

69. Elyan D.S., Moustafa L., Noormal B., Jacobs J.S. i wsp. Serological evidence of Flaviviruses infection among acute febrile illness patients in Afghanistan. *J Infect Dev Ctries.* 2014; 8(9): 1176-1180.
70. Engler O., Savini G., Papa A., Figuerola J. i wsp. European surveillance for West Nile virus in mosquito populations. *Int J Environ Res Public Health.* 2013; 10: 4869-4895.
71. Erdélyi K., Ursu K., Ferenczi E., Szeredi L. i wsp. Clinical and pathologic features of lineage 2 West Nile virus infections in birds of prey in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2007; 7(2): 181-188.
72. Ergunay K., Gunay F., Erisoz Kasap O., Oter K. i wsp. Serological, molecular and entomological surveillance demonstrates widespread circulation of West Nile virus in Turkey. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014; 8(7): doi:10.1371/journal.pntd.0003028.
73. Ernst T., McCarthy S., Chidlow G., Luang-Suarkia D. i wsp. Emergence of a new lineage of dengue virus type 2 identified in travelers entering Western Australia from Indonesia, 2010-2012. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9(1): doi:10.1371/journal.pntd.0003442.
74. Escribano-Romero E., Lupulovic D., Merino-Ramos T., Blazquez A.B. i wsp. West Nile virus serosurveillance in pigs, wild boars, and roe deer in Serbia. *Vet Microbiol.* 2015; 176: 365–369.
75. Fall A.G., Diaïté A., Seck M.T., Bouyer J. i wsp. West Nile virus transmission in sentinel chickens and potential mosquito vectors, Senegal River Delta, 2008–2009. *Int J Environ Res Public Health.* 2013; 10: 4718-4727.
76. Ferraguti M., De-La Puente J.M., Soriguer R., Llorente F. i wsp. West Nile virus-neutralizing antibodies in wild birds from southern Spain. *Epidemiol Infect.* 2016; 144: 1907–1911.
77. Figuerola J., Baouab R.E., Soriguer R., Fassi-Fihri O. i wsp. West Nile virus antibodies in wild birds, Morocco, 2008. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15(10): 1651-1653.
78. Frost M.J., Zhang J., Edmonds J.H., Prow N.A. i wsp. Characterization of virulent West Nile virus Kunjin strain, Australia, 2011. *Emerg Infect Dis.* 2012; 18(5): 792-800.
79. Fyodorova M.V., Savage H.M., Lopatina J.V., Bulgakova T.A. i wsp. Evaluation of potential West Nile virus vectors in Volgograd region, Russia, 2003 (Diptera: Culicidae): species composition, bloodmeal host utilization, and virus infections rates of mosquitoes. *J Med Entomol.* 2006; 43(3): 552-563.
80. Gabriela M., Emmericha P., Frank C., Fiedler M. i wsp. Increase in West Nile virus infections imported to Germany in 2012. *J Clin Virol.* 2013; 58: 587– 589.

81. Gebhardt D.O. Another case of West Nile fever in the Netherlands: a man with encephalitis following a trip to Canada [Dutch]. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2003; 147(27): 1336.
82. George S., Gourie-Devi M., Rao J.A., Prasad S.R., Pavri K.M. Isolation of West Nile virus from the brain of children who had died of encephalitis. *Bull World Health Organ.* 1984; 62(6): 879-882.
83. George S., Jacob P.G., Rao J.A. Isolation of Japanese encephalitis & West Nile viruses from mosquitoes collected in Kolar district of Karnataka state during 1977-79. *Indian J Med Res.* 1987; 85: 235-238.
84. Gibney K.B., Fischer M., Prince H.E., Kramer L.D. i wsp. Chikungunya fever in the United States: a fifteen year review of cases. *Clin Infect Dis.* 2011; 52(5): 121–126.
85. Grandadam M., Caro V., Plumet S., Thiberge J.M. i wsp. Chikungunya virus, Southeastern France. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(5): 910-913.
86. Gray T.J., Webb C.E. A review of the epidemiological and clinical aspects of West Nile virus. *Int J Gen Med.* 2014; 7: 193-203.
87. Grinev A., Chancey C., Volkova E., Añez G. i wsp. Genetic variability of West Nile virus in U.S. blood donors from the 2012 epidemic season. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016; 10(5): doi:10.1371/journal.pntd.0004717.
88. Hadjichristodoulou C., Pournaras S., Mavrouli M., Marka A. i wsp. West Nile virus seroprevalence in the Greek population in 2013: A nationwide cross-sectional survey. *PLoS ONE.* 2015; 10(11): doi:10.1371/journal.pone.0143803.
89. Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S., Montgomery S.P. i wsp. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11(8): 1167-1173.
90. Hermanowska – Szpakowicz T., Grygorczuk S., Kondrusik M., Zajkowska J., Pancewicz S. Zakażenie wirusem Zachodniego Nilu. *Przegl Epidemiol.* 2006; 60: 93-98.
91. Himsworth C.G., Gurney K.E., Neimanis A.S., Wobeser G.A., Leighton F.A. An outbreak of West Nile virus infection in captive lesser scaup (*Aythya affinis*) ducklings. *Avian Dis.* 2009; 53(1): 129-134.
92. <https://www.allaboutbirds.org/>
93. <https://research.pasteur.fr/en/culex-piapiens-2-jpg/>
94. Hubálek Z., Halouzka J. West Nile fever—a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis.* 1999; 5(5): 643-650.
95. Hubálek Z., Lukáčova L., Halouzka J., Širůček P. i wsp. Import of West Nile virus infection in the Czech Republic. *Eur J Epidemiol.* 2006; 21(4): 323-324.

96. Hubálek Z., Halouzka J., Juricová Z., Sikutová S. i wsp. Serologic survey of birds for West Nile flavivirus in southern Moravia (Czech Republic). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008a; 8(5): 659-666.
97. Hubálek Z., Wegner E., Halouzka J., Tryjanowski P. i wsp. Serologic survey of potential vertebrate hosts for West Nile virus in Poland. *Viral Immunol.* 2008b; 21(2): 247-253.
98. Hubálek Z., Ludvikova E., Jahn P., Treml F. i wsp. West Nile virus equine serosurvey in the Czech and Slovak Republics. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013; 13(10): 733-738.
99. Huhn G.D., Sejvar J.J., Montgomery S.P., Dworkin M.S. West Nile virus in the United States: an update on an emerging infectious disease. *Am Fam Physician.* 2003; 68(4): 653-660.
100. Hurlbut H.S., Rizk F., Taylor R.M., Work T.H. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am J Trop Med Hyg.* 1956; 5(4): 579–620.
101. Isaacson M. Viral hemorrhagic fever hazards for travelers in Africa. *Clin Infect Dis.* 2001; 33: 1707–1712.
102. Jentes E.S., Robinson J., Johnson B.W., Conde I. i wsp. Acute arboviral infections in Guinea, West Africa, 2006. *Am J Trop Med Hyg.* 2010; 83(2): 388–394.
103. Jeong Y.E., Lee W.C., Cho J.E., Han M.G., Lee W.J. Comparison of the epidemiological aspects of imported dengue cases between Korea and Japan, 2006-2010. *Osong Public Health Res Perspect.* 2016; 7(1): 71-74.
104. Jonduo M.H., Bande G., Horwood P.F. Arboviruses of human health significance in Papua New Guinea. *PNG Med J.* 2012; 55(1-4): 35-44.
105. Jourdain E., Gauthier-Clerc M., Sabatier P., Grege O. i wsp. Magpies as host for West Nile virus, Southern France. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14(1): 158-160.
106. Julander J.G., Winger Q.A., Rickords L.F., Shi P.Y. i wsp. West Nile virus infection of the placenta. *Virology.* 2006; 347: 175 – 182.
107. Jupp P.G. The ecology of West Nile virus in South Africa and the occurrence of outbreaks in humans. *Ann N Y Acad Sci.* 2001; 951: 143-152.
108. Juricova Z., Pinowski J., Literak I., Hahn K.H., Romanowski J. 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.
109. Kanamitsu M., Taniguchi K., Urasawa S., Ogata T. i wsp. Geographic distribution of arbovirus antibodies in indigenous human population in the Indo-Australian Archipelago. *Am J Trop Med Hyg.* 1979; 28(2): 351-363.

110. Kariyawasam R., Lau R., Eshaghi A., Patel SN. i wsp. Spectrum of viral pathogens in blood of malaria-free ill travelers returning to Canada. *Emerg Infect Dis.* 2016; 22(5): 854-861.
111. Kemenesi G., Krtinić B., Milankov V., Kutas A. i wsp. West Nile virus surveillance in mosquitoes, April to October 2013, Vojvodina province, Serbia: implications for the 2014 season. *Euro Surveill.* 2014; 19(16): pii=20779.
112. Khan S.A., Dutta P., Khan A.M., Chowdhury P. i wsp. West Nile virus infections, Assam, India. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(5): 947-948.
113. Khan E., Farooqi J.Q., Barr K.L., Prakoso D. i wsp. Flaviviruses as a cause of undifferentiated fever in Sindh Province, Pakistan: a preliminary report. *Front Public Health.* 2016; 4(8): doi: 10.3389/fpubh.2016.00008.
114. Kim C.Y., Oh H., Song J., Hur M. i wsp. First detection of West Nile virus in domestic pigeon in Korea. *J Vet Sci.* 2016; 17(4): 587-589.
115. Kleinschmidt-DeMasters B.K., Beckham J.D. West Nile virus encephalitis 16 years later. *Brain Pathol.* 2015; 25: 625–633.
116. Knap J.P., Kubica – Biernat B. Czy gorączka Zachodniego Nilu (WNF) dotarła do Polski? Stanowisko Zespołu Ekspertów powołanych przez Głównego Inspektora Sanitarnego. *Przegl Epidemiol.* 2003; 57: 399-404.
117. Knudsen T.B., Wilcke J.T., Andersen O. Two imported cases of West Nile fever in Denmark [Danish]. *Ugeskr Laeger.* 2003; 165(19): 2003-2004.
118. Kolawole, Oladipo E., Kola, Oloke J. West Nile virus infection in Ogbomoso: serological evidence. *J Immunoassay Immunochem.* 2015; 36(6): 573-578.
119. Kolodziejek J., Seidel B., Jungbauer C., Dimmel K. i wsp. West Nile virus positive blood donation and subsequent entomological investigation, Austria, 2014. *PLoS ONE.* 2015; 10(5): doi:10.1371/journal.pone.0126381.
120. Komar O., Robbins M.B., Klenk K., Bradley J. i wsp. West Nile virus transmission in resident birds, Dominican Republic. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(10): 1299-1302.
121. Komar N., Clark G.G. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Rev Panam Salud Publica.* 2006; 19(2): 112-117.
122. Komar N., Bessoff K., Diaz A., Amador M. i wsp. Avian hosts of West Nile virus in Puerto Rico. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12(1): 47-54.
123. Kondrusik M., Ferenczi E., Zajkowska J., Pancewicz S. i wsp. 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.

124. Kropman E., Bakker L.J., de Sonnaville J.J., Koopmans M.P. i wsp. West Nile virus poliomyelitis after a holiday in Egypt [Dutch]. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2012; 155(35): 4333.
125. Kubica-Biernat B., Kruminis-Łozowska W., Stańczak J., Cieniuch S. A study on the occurrence of West Nile virus in mosquitoes (Diptera: *Culicidae*) on the selected areas in Poland [Polish]. *Ann Parasitol.* 2009; 55(3): 259-263.
126. Kulkarni M.A., Berrang-Ford L., Buck P.A., Drebot M.A. i wsp. Major emerging vector-borne zoonotic diseases of public health importance in Canada. *Emerg Microbes Infect.* 2015; 4: doi: 10.1038/emi.2015.33.
127. Kuniholm M.H., Wolfe N.D., Huang C.Y.H., Mpoudi-Ngole E. i wsp. Seroprevalence and distribution of *Flaviviridae*, *Togaviridae* and *Bunyaviridae* infections in rural Cameroonian adults. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; 74(6): 1078–1083.
128. Kunze U. The International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis (ISW TBE): review of 17 years of activity and commitment. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7(3): 399-404.
129. Kuroлта I.C., Krajinovic V., Topic A., Kuzmanc I. i wsp. First molecular analysis of West Nile virus during the 2013 outbreak in Croatia. *Virus Res.* 2014; 189: 63–66.
130. Kutsuna S., Kato Y., Takasaki T., Moi M. i wsp. Two cases of Zika fever imported from French Polynesia to Japan, December 2013 to January 2014. *Euro Surveill.* 2014; 19(4): pii:20683.
131. Kwong J.C., Druce J.D., Leder K. Zika virus infection acquired during brief travel to Indonesia. *Am J Trop Med Hyg.* 2013; 89: 516-517.
132. LaBeaud A.D., Sutherland L.J., Muiruri S., Muchiri E.M. i wsp. Arbovirus prevalence in mosquitoes, Kenya. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(2): 233-241.
133. Ladbury G.A.F., Gavana M., Danis K., Papa A. i wsp. Population seroprevalence study after a West Nile virus lineage 2 epidemic, Greece, 2010. *PLoS ONE.* 2013; 8(11): doi:10.1371/journal.pone.0080432.
134. LaDeau S.L., Kilpatrick A.M., Marra P.P. West Nile virus emergence and large-scale declines of North American bird populations. *Nature.* 2007; 447: 710-714.
135. Lan D.L., Wang C.S., Deng B., Zhou J.P. i wsp. Serological investigation on West Nile virus in birds and horses in Shanghai, China. *Epidemiol Infect.* 2013; 141: 596-600.
136. Larrieu S., Cardinale E., Ocquidant P., Roger M. i wsp. A fatal neuroinvasive West Nile virus infection in a traveler returning from Madagascar: clinical, epidemiological and veterinary investigations. *Am J Trop Med Hyg.* 2013; 89(2): 211–213.

137. Le Guenno B., Bougermouh A., Azzam T., Bouakaz R. West Nile: a deadly virus? *Lancet*. 1996; 348(9037): 1315.
138. Leroy H., Arvieux C., Biziragusenyuka J., Chapplain J.M. i wsp. A retrospective study of 230 consecutive patients hospitalized for presumed travel-related illness (2000-2006). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2008; 27(11): 1137-1140.
139. Lindsey N.P., Lehman J.A., Staples J.E., Fischer M. West Nile virus and other arboviral diseases – United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013; 62(25): 513–517.
140. Lindsey N.P., Lehman J.A., Staples J.E., Fischer M. West Nile virus and other nationally notifiable arboviral diseases – United States, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2015a; 64(34): 929-934.
141. Lindsey N.P., Prince H.E., Kosoy O., Laven J. i wsp. Chikungunya virus infections among travelers–United States, 2010–2013. *Am J Trop Med Hyg*. 2015b; 92(1): 82–87.
142. Llorente F., Pérez-Ramírez E., Fernández-Pinero J., Soriguer R. i wsp. Flaviviruses in game birds, Southern Spain, 2011–2012. *Emerg Infect Dis*. 2013; 19(6): 1023-1025.
143. Lohitharajah J., Malavige G.N., Shun Chua A.J., Lee Ng M. i wsp. Emergence of human West Nile virus infection in Sri Lanka. *BMC Infect Dis*. 2015; 15: 305.
144. López R.H., Soto S.U., Gallego-Gómez J.C. Evolutionary relationships of West Nile virus detected in mosquitoes from a migratory bird zone of Colombian Caribbean. *Virol J*. 2015; 12: 80.
145. Lu Z., Fu S.H., Cao L., Tang C.J. i wsp. Human infection with West Nile virus, Xinjiang, China, 2011. *Emerg Infect Dis*. 2014; 20(8): 1421-1423.
146. Lustig Y., Hindiyeh M., Orshan L., Weiss L. i wsp. Mosquito surveillance for 15 years reveals high genetic diversity among West Nile viruses in Israel. *J Infect Dis*. 2016; 213: 1107–1114.
147. Macdonald W.W., Smith C.E.G., Webb H.E. Arboviral infections in Sarawak: observations on the mosquitoes. *J Med Entomol*. 1965; 1(4): 335-347.
148. Mackenzie J.S., Barrett A.D.T., Deubel V. *Japanese Encephalitis and West Nile Viruses*. Berlin, Springer-Verlag, 2002: 1-420.
149. Mackenzie J.S., Williams D.T. The zoonotic Flaviviruses of Southern, South-Eastern and Eastern Asia, and Australia: the potential for emergent viruses. *Zoonoses Public Health*. 2009; 56: 338-356.
150. Maillo B.M., López-Vélez R., Norman F., de Ory F. i wsp. Importation of West Nile virus infection from Nicaragua to Spain. *Emerg Infect Dis*. 2008; 14(7): 1171-1173.

151. Mann B.R., McMullen A.R., Guzman H., Tesh R.B., Barrett A.D. Dynamic transmission of West Nile virus across the United States-Mexican border. *Virology*. 2013; 436(1): 75-80.
152. Mansfield K.L., Johnson N., Phipps L.P., Stephenson J.R. i wsp. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis. *J Gen Virol*. 2009; 90: 1781–1794.
153. Maquart M., Boyer S., Rakotoharinome V.M., Ravaomanana J. i wsp. High prevalence of West Nile virus in domestic birds and detection in 2 new mosquito species in Madagascar. *PLoS ONE*. 2016; 11(1): doi:10.1371/journal.pone.0147589.
154. Marlina S., Muhd Radzi S.F., Lani R., Chee Sieng K. i wsp. Seroprevalence screening for the West Nile virus in Malaysia's Orang Asli population. *Parasit Vectors*. 2014; 7: doi: 10.1186/s13071-014-0597-0.
155. Mattar S., Edwards E., Laguado J., González M. i wsp. West Nile virus antibodies in Colombian horses. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11(9): 1497-1498.
156. Maxmen A. Birds sound the alarm on West Nile virus. Evolving virulence tracked by samples of virus taken from dead crows and blue jays. *Nature*. 2012: doi:10.1038/nature.2012.11399.
157. May F.J., Davis C.T., Tesh R.B., Barret A.D.T. 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.
158. Mazzei M., Savini G., Di Gennaro A., Macchioni F. i wsp. West Nile seroprevalence study in Bolivian horses, 2011. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2013; 13(12): 894-896.
159. McIntosh B.M., Jupp P.G., Dos Santos I., Meenehan G.M. Epidemics of West Nile and Sindbis viruses in South Africa with *Culex univittatus* Theobald as vector. *South Afr J Sci*. 1976; 72(10): 295-300.
160. McMullen A.R., Albayrak H., May F.J., Davis C.T. i wsp. Molecular evolution of lineage 2 West Nile virus. *J Gen Virol*. 2013; 94: 318–325.
161. Mease L.E., Coldren R.L., Musila L.A, Prosser T. i wsp. Seroprevalence of arboviral infections among rural Kenyan adults: a cross-sectional study. *Virol J*. 2011; 8: 371.
162. Meeuse J.J., ter Borg F., Lohmann H.J., Groen J. Patient with West Nile fever in the Netherlands [Dutch]. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2001; 145(43): 2084-2086.
163. Melnick J.L., Paul J.R., Riordan J.T., Barnett V.H.H. i wsp. Isolation from human sera in Egypt of a virus apparently identical to West Nile virus. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1951; 77: 661–665.

164. Meltzer E., Leshem E., Lustig Y., Gottesman G., Schwartz E. The clinical spectrum of Zika virus in returning travelers. *Am J Med.* 2016; 129(10): 1126–1130.
165. Memish Z.A., Fagbo S.F., Ali O.A., AlHakeem R.E. i wsp. Is the epidemiology of Alkhurma hemorrhagic fever changing?: A three-year overview in Saudi Arabia. *PLoS ONE.* 2014; 9(2): doi:10.1371/journal.pone.0085564.
166. Messina J.P., Pigott D.M., Golding N., Duda K.A. i wsp. The global distribution of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2015; 109: 503–513.
167. Mets M.B., Chhabra M.S. Eye manifestations of intrauterine infections and their impact on childhood blindness. *Surv Ophthalmol.* 2008; 53: 95-111.
168. Mirzaian E., Durham M.J., Hess K., Goad J.A. Mosquito-borne illnesses in travelers: a review of risk and prevention. *Pharmacotherapy.* 2010; 30(10): 1031-1043.
169. Monaco F., Goffredo M., Briguglio P., Pinoni C. i wsp. The 2011 West Nile disease outbreak in Sardinia region, Italy. *Vet Ital.* 2015; 51(1): 5-16.
170. Monath T.P., Vasconcelos P.F.C. Yellow fever. *J Clin Virol.* 2015; 64: 160–173.
171. Morales M.A., Barrandeguy M., Fabbri C., Garcia J.B. i wsp. West Nile virus isolation from equines in Argentina, 2006. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12(10): 1559-1561.
172. Morales-Betoulle M.E., Komar N., Panella N.A., Alvarez D. i wsp. West Nile virus ecology in a tropical ecosystem in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg.* 2013; 88(1): 116–126.
173. Moureau G., Cook S., Lemey P., Nougairede A. i wsp. New insights into Flavivirus evolution, taxonomy and biogeographic history, extended by analysis of canonical and alternative coding sequences. *PLoS ONE.* 2015; 10(2): doi:10.1371/journal.pone.0117849.
174. Mukhopadhyay S., Kim B-S., Chipman P.R., Rossmann M.G., Kuhn R.J. Structure of West Nile virus. *Science.* 2003; 302(5643): 248.
175. Murata R., Hashiguchi K., Yoshii K., Kariwa H. i wsp. Seroprevalence of West Nile virus in wild birds in far Eastern Russia using a focus reduction neutralization test. *Am J Trop Med Hyg.* 2011; 84(3): 461–465.
176. Murray K.O., Ruktanonchai D., Hesalroad D., Fonken E., Nolan M.S. West Nile virus, Texas, USA, 2012. *Emerg Infect Dis.* 2013; 19(11): 1836-1838.
177. Murgue B., Murri S., Triki H., Deubel V., Zeller H.G. West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000. *Ann N Y Acad Sci.* 2001; 951: 117-126.
178. Musso D., Gubler D.J. Zika virus. *Clin Microbiol Rev.* 2016; 29(3): 487-524.
179. Mweene-Ndumba I., Siziya S., Monze M., Mazaba M.L. i wsp. Seroprevalence of West Nile virus specific IgG and IgM antibodies in North-Western and Western provinces of Zambia. *Afri Health Sci.* 2015; 15(3): 803-809.

180. Myint K.S., Kosasih H., Artika I.M., Perkasa A. i wsp. West Nile virus documented in Indonesia from acute febrile illness specimen. *Am J Trop Med Hyg.* 2014; 90(2): 260-262.
181. Napoli C., Salcuni P., Pompa M.G., Declich S., Rizzo C. Estimated imported infections of Chikungunya and dengue in Italy, 2008 to 2011. *J Travel Med.* 2012; 19(5): 294–297.
182. Nash D., Mostashari F., Fine A., Miller J. i wsp. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med.* 2001; 344(24): 1807–1814.
183. Newton I. *The Migration Ecology of Birds.* London, Academic Press, Elsevier, 2008: 1-976.
184. Niczyporuk J.S., Samorek-Salamonowicz E., Kozdruń W., Mizak Z. The survey of wild birds for West Nile virus in Poland. *Pol J Vet Sci.* 2011a; 14(4): 573-577.
185. Niczyporuk J.S., Samorek-Salamonowicz E., Kozdruń W., Mizak Z. Attempts to detect West Nile virus in wild birds in Poland. *Acta Vet Hung.* 2011b; 59(3): 405-408.
186. Niczyporuk J.S., Samorek-Salamonowicz E., Lecollinet S., Pancewicz S.A. i wsp. Occurrence of West Nile virus antibodies in wild birds, horses, and humans in Poland. *Biomed Res Int.* 2015; doi: 10.1155/2015/234181.
187. Nowakowski K. Badania wędrówek ptaków a bioróżnorodność. *Wszechświat*, 2007, 108; 181-186.
188. Ocal M., Orsten S., Inkaya A.C., Yetim E. i wsp. Ongoing activity of Toscana virus genotype A and West Nile virus lineage 1 strains in Turkey: a clinical and field survey. *Zoonoses Public Health.* 2014; 61: 480–491.
189. Odolini S., Parola P., Gkrania-Klotsas E., Caumes E. i wsp. Travel-related imported infections in Europe, EuroTravNet 2009. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18: 468–474.
190. Orshan L., Bin H., Schnur H., Kaufman A. i wsp. Mosquito vectors of West Nile fever in Israel. *J Med Entomol.* 2008; 45(5): 939-947.
191. Osorio J.E., Ciuoderis K.A., Lopera J.G., Piedrahita L.D. i wsp. Characterization of West Nile viruses isolated from captive American flamingoes (*Phoenicopterus ruber*) in Medellin, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2012; 87(3): 565–572.
192. Pachler K., Lebl K., Berer D., Rudolf I. i wsp. Putative new West Nile virus lineage in *Uranotaenia unguiculata* mosquitoes, Austria, 2013. *Emerg Infect Dis.* 2014; 20(12): 2119-2122.
193. Papa A., Danis K., Athanasiadou A., Delianidou M., Panagiotopoulos T. Persistence of West Nile virus immunoglobulin M antibodies, Greece. *J Med Virol.* 2011; 83: 1857–1860.
194. Papa A. West Nile virus infections in humans—focus on Greece. *J Clin Virol.* 2013; 58: 351– 353.

195. Paramasivan R., Mishra A.C., Mourya D.T. West Nile virus: the Indian scenario. *Indian J Med Res.* 2003; 118: 101-108.
196. Patel H., Sander B., Nelder M.P. Long-term sequelae of West Nile virus-related illness: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2015; 15: 951–959.
197. Patsoula E., Vakali A., Balatsos G., Pervanidou D. i wsp. West Nile virus circulation in mosquitoes in Greece (2010–2013). *Biomed Res Int.* 2016; doi: 10.1155/2016/2450682.
198. Pauvolid-Correa A., Campos Z., Juliano R., Velez J. i wsp. Serological evidence of widespread circulation of West Nile virus and other Flaviviruses in equines of the Pantanal, Brazil. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014; 8(2): doi:10.1371/journal.pntd.0002706.
199. Pavli A., Maltezos H.C. Travel-acquired Japanese encephalitis and vaccination considerations. *J Infect Dev Ctries.* 2015; 9(9): 917-924.
200. Pem-Novosel I., Vilibic-Cavlek T., Gjenero-Margan I., Pandak N. i wsp. First outbreak of West Nile virus neuroinvasive disease in humans, Croatia, 2012. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013; 14(1): 82-84.
201. Perić L., Šimašek D., Vilibić-Čavlek T., Mišir M. i wsp. Clinical aspects of West Nile virus infections in humans in Croatia. *Med Sci.* 2013; 39: 81-88.
202. Pesko K.N., Ebel G.D. West Nile virus population genetics and evolution. *Infect Genet Evol.* 2012; 12: 181–190.
203. Petrović T., Blázquez A.B., Lupulović D., Lazić G. i wsp. Monitoring West Nile virus (WNV) infection in wild birds in Serbia during 2012: first isolation and characterisation of WNV strains from Serbia. *Euro Surveill.* 2013; 18(44): pii=20622.
204. Platonov A.E., Fedorova M.V., Karan L.S., Shopenskaya T.A. i wsp. Epidemiology of West Nile infections in Volgograd, Russia, in relations to climate change and mosquito (Diptera: *Culicidae*) bionomics. *Parasitol Res.* 2008; 103(Suppl 1): 45-53.
205. Polwiang S. Estimation of dengue infection for travelers in Thailand. *Travel Med Infect Dis.* 2016; 14: 398-406.
206. Prow N.A. The changing epidemiology of Kunjin virus in Australia. *Int J Environ Res Public Health.* 2013; 10: 6255-6272.
207. Prow N.A., Hewlett E.K., Faddy H.M., Coiacetto F. i wsp. The Australian public is still vulnerable to emerging virulent strains of West Nile virus. *Front Publ Health.* 2014a; 2(146): doi:10.3389/fpubh.2014.00146.

208. Prow N.A., Setoh Y.X., Biron R.M., Sester D.P. i wsp. The West Nile virus-like Flavivirus Koutango is highly virulent in mice due to delayed viral clearance and the induction of a poor neutralizing antibody response. *J Virol.* 2014b; 88(17): 9947-9962.
209. Pridjian G., Sirois P.A., McRae S., Hinckley A.F. i wsp. 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.
210. Pupo M., Guadalupe Guzmán M., Fernández R., Llop A. i wsp. West Nile virus infection in humans and horses, Cuba. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12(6): 1022-1024.
211. Quirin R., Salas M., Zientara S., Zeller H. i wsp. West Nile virus, Guadeloupe. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10(4): 706 – 708.
212. Račnik J., Slavec B., Zadavec M., Zorman Rojs O. West Nile virus monitoring in wild birds in Slovenia. *Medical Sciences.* 2013; 39: 89-94.
213. Rahav G., Hagin M., Maor Y., Yahalom G. i wsp. Primary versus nonprimary West Nile virus infection: a cohort study. *J Infect Dis.* 2016; 213: 755–761.
214. Ratnam I., Leder K., Black J., Torresi J. Dengue fever and international travel. *J Travel Med.* 2013; 20(6): 384–393.
215. Ravagnan S., Montarsi F., Cazzin S., Porcellato E. i wsp. First report outside Eastern Europe of West Nile virus lineage 2 related to the Volgograd 2007 strain, northeastern Italy, 2014. *Parasit Vectors.* 2015; 8: 418.
216. Reusken C.B., Bakker J., Reimerink J.H., Zelena H., Koopmans M.G. Underdiagnosis of Chikungunya virus infections in symptomatic Dutch travelers returning from the Indian Ocean area. *J Travel Med.* 2013; 20(1): 44–46.
217. Rezza G., Nicoletti L., Angelini R., Romi R. i wsp. Infection with Chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet.* 2007; 370: 1840–1846.
218. Richarz K., Puchta A. Ptaki. *Przewodnik.* Warszawa, Muza, 2006: 1-382.
219. Rios-Ibarra C., Blitvich B.J., Farfan-Ale J., Ramos-Jimenez J. i wsp. Fatal human case of West Nile virus disease, Mexico, 2009. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16(4): 741-743.
220. Rogers B.A., Hueston L., Ratnam I. Imported West Nile virus encephalitis in an Israeli tourist. *Med J Aust.* 2009; 191: 232-234.
221. Rolin A.I, Berrang-Ford L., Kulkarni M.A. The risk of Rift Valley fever virus introduction and establishment in the United States and European Union. *Emerg Microbes Infect.* 2013; 2(12), doi:10.1038/emi.2013.81.

222. Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Mendel J. i wsp. 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): pii=20867.
223. Rutvisuttinunt W., Chinnawirotpisan P., Klungthong C., Kumar Shrestha S. i wsp. Evidence of West Nile virus infection in Nepal. *BMC Infect Dis.* 2014; 14: doi: 10.1186/s12879-014-0606-0.
224. Safronetz D., Sacko M., Sogoba N., Rosenke K. i wsp. Vectorborne infections, Mali. *Emerg Infect Dis.* 2016; 22(2): 340-342.
225. Savuta G.H., Ludu L., Anita A., Anita D., Ionescu A. West Nile virus infections in Romania – past, present and perspective. *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara.* 2008; 41: 301-309.
226. Schoepp R.J., Rossi C.A., Khan S.H., Goba A., Fair J.N. Undiagnosed acute viral febrile illnesses, Sierra Leone. *Emerg Infect Dis.* 2014; 20(7): 1176-1182.
227. Schultze-Amberger J., Emmerich P., Günther S., Schmidt-Chanasit J. West Nile virus meningoencephalitis imported into Germany. *Emerg Infect Dis.* 2012; 18(10): 1698-1700.
228. Sejvar J.J. West Nile virus: An historical overview. *Ochsner J.* 2003; 5(3): 6-10.
229. Sejvar J.J. Clinical manifestations and outcomes of West Nile virus infection. *Viruses.* 2014; 6: 606-623.
230. Selvey L.A., Dailey L., Lindsay M., Armstrong P. i wsp. The changing epidemiology of Murray Valley encephalitis in Australia: The 2011 outbreak and a review of the literature. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014; 8(1), doi:10.1371/journal.pntd.0002656.
231. Shi L., Fu S., Wang L., Li X. i wsp. Surveillance of mosquito-borne infectious diseases in febrile travelers entering China via Shenzhen ports, China, 2013. *Travel Med Infect Dis.* 2016; 14: 123-130.
232. Shoba D., Abraham A.M. Epidemiological and clinical aspects on West Nile virus, a globally emerging pathogen. *Infect Dis.* 2016; 48(8): 571–586.
233. Shukla J., Saxena D., Rathinam S., Lalitha P. i wsp. Molecular detection and characterization of West Nile virus associated with multifocal retinitis in patients from southern India. *Int J Infect Dis.* 2012; 16: 53-59.
234. Sikora A., Chylarecki P., Missner W., Neubauer G. Monitoring ptaków wodno – błotnych w okresie wędrówek. Warszawa, Generalna Dyrekcja Ochrony Środowiska, 2011: 1-158.
235. Sirois P.A., Pridjian G., McRae S., Hinckley A.F. i wsp. Developmental outcomes in young children born to mothers with West Nile illness during pregnancy. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2014; 100(10): 792–796.

236. Smithburn K.C, Hughes T.P, Burke A.W, Paul J.H. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med Hyg.* 1940; 20: 471–472.
237. Sow A., Loucoubar C., Diallo D., Faye O. i wsp. Concurrent malaria and arbovirus infections in Kedougou, southeastern Senegal. *Malar J.* 2016; 15: 47.
238. Spiroski M., Milenkovic Z., Petlichkovski A., Ivanovski L. i wsp. Killer cell immunoglobulin-like receptor genes in four human West Nile virus infections reported 2011 in the Republic of Macedonia. *Hum Immunol.* 2013; 74(3): 389-394.
239. Straková P., Šikutová S., Jedličková P., Sitko J. i wsp. The common coot as sentinel species for the presence of West Nile and Usutu flaviviruses in Central Europe. *Res Vet Sci.* 2015; 102: 159–161.
240. Sule W.F., Oluwayelu D.O., Adedokun R.A., Rufai N. i wsp. High seroprevalence of West Nile virus antibodies observed in horses from Southwestern Nigeria. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015; 15(3): 218-220.
241. Sureau P., Jaeger G., Pinerd G., Palisson M.J., Bedaya-N'Garo S. Sero-epidemiological survey of arbovirus diseases in the Bi-Aka pygmies of Lobaye, Central African Republic. *Bull Soc Pathol Exot Filiales.* 1977; 70(2): 131-137.
242. Szentpali-Gavaller K., Antal L., Toth M., Kemenesi G. i wsp. Monitoring of West Nile virus in mosquitoes between 2011–2012 in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014; 14(9): 648-655.
243. Tappe D., Rissland J., Gabriel M., Emmerich P. i wsp. First case of laboratory- confirmed Zika virus infections imported into Europe, November 2013. *Euro Surveill.* 2014; 19(4): pii=20685.
244. Valiakos G, Touloudi A, Iacovakis C, Athanasiou L. i wsp. Molecular detection and phylogenetic analysis of West Nile virus lineage 2 in sedentary wild birds (Eurasian magpie), Greece, 2010. *Euro Surveill.* 2011; 16(18): pii=19862.
245. Valiakos G., Touloudi A., Athanasiou L.V., Giannakopoulos A. i wsp. Serological and molecular investigation into the role of wild birds in the epidemiology of West Nile virus in Greece. *Virol J.* 2012; 9: 266.
246. Van den Bossche D., Cnops L., Meersman K., Domingo C. Chikungunya virus and West Nile virus infections imported into Belgium, 2007–2012. *Epidemiol Infect.* 2015; 143: 2227–2236.
247. Van der Klooster J.M. Female patient with West-Nile fever in the Netherlands [Dutch]. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2002; 146(2): 90-91.

248. Vazquez A., Sanchez-Seco M.P., Ruiz S., Molero F. i wsp. Putative new lineage of West Nile virus, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16(3): 549-552.
249. Vieira M.A., Romano A.P., Borba A.S., Silva E.V. i wsp. West Nile virus encephalitis: the first human case recorded in Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2015; 93(2): 377-379.
250. Vilibic-Cavlek T., Kaic B., Barbic L., Pem-Novosel I. i wsp. First evidence of simultaneous occurrence of West Nile virus and Usutu virus neuroinvasive disease in humans in Croatia during the 2013 outbreak. *Infection.* 2014; 42(4): 689-695.
251. Wang H., Liang G. Epidemiology of Japanese encephalitis: past, present, and future prospects. *Ther Clin Risk Manag.* 2015; 19(11): 435-448.
252. Wang W., Sarkodie F., Danso K., Addo-Yobo E. i wsp. Seroprevalence of West Nile virus in Ghana. *Viral Immunol.* 2009; 22(1): 17-22.
253. Warne B., Weld L.H., Cramer J.P., Field V.K. i wsp. Travel-related infection in European travelers, EuroTravNet 2011. *J Travel Med.* 2014; 21(4): 248–254.
254. Wasfia F., Dachraouia K., Chernia S., Bosworthb A. i wsp. West Nile virus in Tunisia, 2014: First isolation from mosquitoes. *Acta Trop.* 2016; 159: 106–110.
255. Weatherhead J.E., Miller V.E., Garcia M.N., Hasbun R. i wsp. Long-term neurological outcomes in West Nile virus–infected patients: an observational study. *Am J Trop Med Hyg.* 2015; 92(5): 1006–1012.
256. Weitze T., Jawień P., Rydzanicz K., Lonc E., Becker N. *Culex pipiens* s.l. and *Culex torrentium* (Culicidae) in Wrocław area (Poland): occurrence and breeding site preferences of mosquito vectors. *Parasitol Res.* 2015; 114(1): 289–295.
257. WHO. Vector-borne diseases, 2016: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs387/en/
258. Wilk T., Jujka M., Krogulec J., Chylarecki P. *Ostoje ptaków o znaczeniu międzynarodowym w Polsce*. Marki, Ogólnopolskie Towarzystwo Ochrony Ptaków, 2010: 1-597.
259. Williams R.A., Vázquez A., Asante I., Bonney K. i wsp. Yaoundé-like virus in resident wild bird, Ghana. *Afr J Microbiol Res.* 2012; 6(9): 1966-1969.
260. Wilson M.E., Chen L.H., Han P.V., Keystone J.S. i wsp. Illness in travelers returned from Brazil: The GeoSentinel experience and implications for the 2014 FIFA World Cup and the 2016 Summer Olympics. *Clin Infect Dis.* 2014; 58(10): 1347–1356.
261. Winston D.J., Vikram H.R., Rabe I.B., Dhillon G. i wsp. Donor-derived West Nile virus infection in solid organ transplant recipients: Report of four additional cases and review of clinical, diagnostic, and therapeutic features. *Transplantation.* 2014; 97: 881-889.

262. Wodak E., Richter S., Bago Z., Revilla-Fernandez S. i wsp. Detection and molecular analysis of West Nile virus infections in birds of prey in the eastern part of Austria in 2008 and 2009. *Vet Microbiol.* 2011; 149: 358-366.
263. Zaayman D., Venter M. West Nile virus neurologic disease in humans, South Africa, September 2008–May 2009. *Emerg Infect Dis.* 2012; 18(12): 2051-2054.
264. Zammarchi L., Stella G., Mantella A., Bartolozzi D. i wsp. Zika virus infections imported to Italy: clinical, immunological and virological findings, and public health implications. *J Clin Virol.* 2015; 63: 32–35.
265. Zé-Zé L., Proença P., Osório H.C., Gomes S. i wsp. Human case of West Nile neuroinvasive disease in Portugal, summer 2015. *Euro Surveill.* 2015; 20(38): pii=30024.
266. Ziegler U., Skrypnyk A., Keller M., Staubach C. i wsp. West Nile virus antibody prevalence in horses of Ukraine. *Viruses.* 2013; 5: 2469-2482.
267. Zohaib A., Saqib M., Beck C., Hussain M.H. i wsp. High prevalence of West Nile virus in equins from the two provinces of Pakistan. *Epidemiol Infect.* 2015; 143: 1931-1935.

9. SPIS TABEL

Tabela I. Najważniejsze gatunki ptaków będących rezerwuarem wirusa Zachodniego Nilu na poszczególnych kontynentach i krajach świata.

Tabela II. Najważniejsze wektory wirusa Zachodniego Nilu w poszczególnych krajach świata.

Tabela III. Stężenia swoistych przeciwciał IgM i IgG w kierunku gorączki Zachodniego Nilu u 6 osób seropozytywnych powracających z krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej.

Tabela IV. Objawy kliniczne występujące w grupie 88 pacjentów powracających z krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej.

Tabela V. Objawy kliniczne występujące u 6 pacjentów ze stwierdzoną obecnością swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu po powrocie z podróży zagranicznej.

Tabela VI. Objawy kliniczne występujące w podgrupie 82 pacjentów seronegatywnych w kierunku wirusa Zachodniego Nilu podróżujących do krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej.

10. SPIS RYCIN

Ryc. 1. Budowa wirusa Zachodniego Nilu.

Ryc. 2. Cykl życiowy wirusa Zachodniego Nilu.

Ryc. 3. Martwa modrosójka błękitna znaleziona podczas epidemii wirusa Zachodniego Nilu w Teksasie w Stanach Zjednoczonych w 2012 roku.

Ryc. 4. Wilgowrony mniejsze oraz wróbel zwyczajny jako przedstawiciele ptaków o różnej wrażliwości na zakażenie wirusem Zachodniego Nilu.

Ryc. 5. Komar z gatunku *Culex pipiens* - główny wektor wirusa Zachodniego Nilu o rozprzestrzenieniu kosmopolitycznym.

Ryc. 6. Aktualne rozprzestrzenienie geograficzne wirusa Zachodniego Nilu z podziałem na rodowody.

Ryc. 7. Podział wirusa Zachodniego Nilu na rodowody i klady w zależności od stopnia zróżnicowania sekwencji nukleotydowych.

Ryc. 8. Jinja, miasteczko portowe nad Jeziorem Wiktorii w prowincji Zachodniego Nilu w Ugandzie (Afryka Wschodnia) – początek źródeł Nilu.

Ryc. 9. Obozowisko nad brzegiem Orinoko w dżungli wenezuelskiej istotnym ryzykiem zwiększonej ekspozycji na ukłucia komarów.

Ryc. 10. Wodno-błotne ptaki egzotyczne będące naturalnym rezerwuarem wirusa Zachodniego Nilu w krajach strefy międzyzwrotnikowej. A. Marabut afrykański (*Leptoptilos crumeniferus*) w wiosce rybackiej nad Jeziorem Wiktorii w Ugandzie. B. Kolonia flamingów różowych (*Phoenicopterus roseus*) nad Jeziorem Nakuru Kenii.

Ryc. 11. Bocian biały (*Ciconia ciconia*) – potencjalny główny rezerwuuar i żywiciel wirusa Zachodniego Nilu w Polsce.

Ryc. 12. Docelowy kontynent podróży wśród 88 pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej.

Ryc. 13. Długość podróży 88 pacjentów grupy badanej, powracających z wyjazdów międzynarodowych.

Ryc. 14. Cel podróży 88 pacjentów z grupy badanej, analizowanych w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu.

Ryc. 15. Sposób podróżowania preferowany przez 88 pacjentów grupy badanej, powracających z krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej.

Ryc. 16. Środowisko geograficzno – przyrodnicze, w którym przebywali pacjenci z grupy badanej obserwowani w kierunku zakażenia wirusem Zachodniego Nilu.

- Ryc. 17.** Miejsce pobytu podczas podróży zagranicznej 88 pacjentów grupy badanej.
- Ryc. 18.** Warunki socjoekonomiczne pobytu w jakich przebywali podczas podróży zagranicznych pacjenci zakwalifikowani do grupy badanej.
- Ryc. 19.** Rodzaj najczęściej uprawianej aktywności sportowej wśród 88 pacjentów grupy badanej podczas pobytu na wyjeździe zagranicznym.
- Ryc. 20.** Rodzaj posiadanego hobby w grupie 88 pacjentów grupy badanej, które podczas podróży zagranicznej może stanowić istotny czynnik ryzyka transmisji wirusa Zachodniego Nilu.
- Ryc. 21.** Rodzaj kontaktu ze zwierzętami obserwowany w grupie badanej 88 osób podróżujących do krajów tropikalnych i śródziemnomorskich, mogący stanowić zagrożenie transmisji wirusem Zachodniego Nilu.
- Ryc. 22.** Czynności rekreacyjne potencjalnie sprzyjające zakażeniu wirusem Zachodniego Nilu w grupie badanej 88 osób podróżujących do krajów międzyzwrotnikowych i śródziemnomorskich.
- Ryc. 23.** Środowisko przyrodnicze, w jakim znajdowały się ryzykowne miejsca noclegowe w grupie polskich podróżników z grupy badanej.
- Ryc. 24.** Częstotliwość ukłuc komarów podczas podróży zagranicznej obserwowana przez 88 pacjentów zakwalifikowanych do grupy badanej.
- Ryc. 25.** Rodzaj stosowanej profilaktyki mechanicznej przeciwko ukłuciom komarów, zgłaszanej przez 88 pacjentów grupy badanej podczas pobytu w krajach strefy gorącej.
- Ryc. 26.** Porównanie kierunków podróży odbywanych przez misjonarzy (n=42) i osoby wyjeżdżające w innych celach (n=46).
- Ryc. 27.** Porównanie czasu trwania podróży międzynarodowych odbywanych przez misjonarzy (n=42) i osoby podróżujące w innych celach (n=46).
- Ryc. 28.** Porównanie miejsca pobytu podczas podróży międzynarodowych w grupie misjonarzy (n=42) i osób podróżujących w innych celach (n=46).
- Ryc. 29.** Porównanie naturalnego środowiska przyrodniczego, w jakim przebywali podczas podróży zagranicznej misjonarze (n=42) i osoby podróżujące w innych celach (n=46).
- Ryc. 30.** Porównanie warunków socjoekonomicznych pobytu pacjentów z grupy misjonarzy (n=42) i osób podróżujących w innych celach (n=46).
- Ryc. 31.** Porównanie rodzaju aktywności sportowej uprawianej podczas pobytu na wyjeździe zagranicznym w grupie misjonarzy (n=42) i wśród turystów podróżujących w innych celach (n=46).

Ryc. 32. Porównanie rodzaju kontaktu ze zwierzętami podczas podróży zagranicznej w grupie misjonarzy (n=42) i osób podróżujących w innych celach (n=46).

Ryc. 33. Porównanie rodzaju czynności rekreacyjnych wykonywanych podczas podróży zagranicznej w grupie misjonarzy (n=42) i osób podróżujących w innych celach (n=46).

Ryc. 34. Środowisko przyrodnicze, w jakim znajdowało się miejsce noclegowe pacjentów z grupy misjonarzy (n=42) i osób podróżujących w innych celach (n=46).

Ryc. 35. Porównanie częstotliwości ukłuc komarów obserwowanych w grupie misjonarzy (n=42) i innych kategoriach osób podróżujących (n=46).

Ryc. 36. Wyniki występowania swoistych przeciwciał IgM i IgG przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu wśród 88 pacjentów grupy badanej.

Ryc. 37. Rozmieszczenie geograficzne docelowego miejsca pobytu 6 podróżujących pacjentów, u których wykryto obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi Zachodniego Nilu.

Ryc. 38. Środowisko geograficzno – przyrodnicze, w którym przebywało 6 podróżujących pacjentów ze stwierdzoną obecnością swoistych przeciwciał w kierunku wirusa Zachodniego Nilu.

Ryc. 39. Warunki socjoekonomiczne w jakich przebywało 6 podróżujących pacjentów z potwierdzonym zakażeniem wirusem Zachodniego Nilu.

Ryc. 40. Mechaniczne środki ochrony przeciwko ukłuciami komarów stosowane przez 6 podróżujących pacjentów z wykazaniem zakażeniem wirusem Zachodniego Nilu.

Ryc. 41. Położenie geograficzne wioski Bagandou w Republice Środkowej Afryki.

Ryc. 42. Położenie geograficzne miasta Morombe na Madagaskarze.

Ryc. 43. Położenie geograficzne miejscowości Biro w Beninie.

Ryc. 44. Położenie geograficzne miasta Perm w Rosji.

Ryc. 45. Położenie geograficzne miasta Melbourne w Australii.

Ryc. 46. Położenie geograficzne miejscowości Biro w Beninie.

Ryc. 47. Lokalizacja geograficzna miejsca zamieszkania pacjenta z podejrzeniem zakażenia wirusem Zachodniego Nilu nabytego na terenie Polski.

Ryc. 48. Rozkład geograficzny poszczególnych regionów Polski reprezentowanych przez 50 pacjentów grupy kontrolnej, którzy nie podróżowali poza granicami kraju.

Ryc. 49. Miejsce zamieszkania 50 pacjentów należących do grupy kontrolnej, niewyjeżdżających poza terytorium Polski.

Ryc. 50. Rodzaje zawodów wykonywanych przez 50 pacjentów grupy kontrolnej, predysponujących do autochtonicznego zakażenia wirusem Zachodniego Nilu.

Ryc. 51. Sposób spędzania czasu wolnego predysponujący do zwiększonej ekspozycji na ukłucia komarów wśród 50 pacjentów grupy kontrolnej.

Ryc. 52. Rodzaj środowiska przyrodniczego o dużej liczebności populacji komarów, w jakim przebywali pacjenci grupy kontrolnej narażeni na rodzime zakażenie Wirusem Zachodniego Nilu.

Ryc. 53. Uroczystości rodzinne i spotkania towarzyskie na świeżym powietrzu odbywane przez 50 pacjentów grupy kontrolnej, jako jeden z potencjalnych czynników ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu.

Ryc. 54. Zagrożenie wirusem Zachodniego Nilu wśród mieszkańców Ugandy nad Jeziorem Wiktorii.

Ryc. 55. Trudne trasy wędrówek ptaków migrujących.

Ryc. 56. Najważniejsze ostoje ptaków w Polsce.

11. OBJAŚNIENIA UŻYWANYCH SYMBOLI I SKRÓTÓW

- AHFV** - wirus gorączki krwotocznej Alkhurma (ang. *Alkhurma Haemorrhagic Fever*)
- CCHF** - wirus gorączki krwotocznej krymsko – kongijskiej (ang. *Crimean – Congo Haemorrhagic Fever*)
- CHIKV** - wirus Chikungunya (ang. *Chikungunya Virus*)
- COS-1** - komórki linii fibroblastów uzyskiwane z nerki afrykańskiej małpy zielonej
- DC-SIGN** - receptor lektynowy typu C
- DENV** - wirus dengi (ang. *Dengue Virus*)
- DENV1** - serotyp 1 wirusa dengi
- DENV4** - serotyp 4 wirusa dengi
- ELISA** - metoda immunoenzymatyczna (ang. *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*)
- IgG** - immunoglobulina klasy G
- IgM** - immunoglobulina klasy M
- JEV** - wirus japońskiego zapalenia mózgu (ang. *Japanese Encephalitis Virus*)
- MAYV** - wirus Mayaro (ang. *Mayaro Virus*)
- MVEV** - wirus zapalenia mózgu Doliny Murray (ang. *Murray Valley Encephalitis Virus*)
- N** - stężenie normalne roztworu chemicznego
- NCA** - kontrolny antygen komórkowy (ang. *Normal Cell Antigen*)
- n.p.m.** – wysokość nad poziomem morza
- OD** - gęstość optyczna (absorbancja) barwnego produktu reakcji immunoenzymatycznej
- PBS** - sól fizjologiczna buforowana fosforanami (ang. *Phosphate Buffered Saline*)
- RRV** - wirus Ross River (ang. *Ross River Virus*)
- RT-PCR** - łańcuchowa reakcja polimerazy z odwrotną transkryptazą (ang. *Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction*) w kierunku kwasu rybonukleinowego
- RVFV** - wirus gorączki Doliny Rift (ang. *Rift Valley Fever Virus*)
- SLEV** - wirus zapalenia mózgu St. Louis (ang. *Saint. Louis Encephalitis Virus*)
- TBEV** - wirus kleszczowego zapalenia mózgu (ang. *Tick-Borne Encephalitis Virus*)
- TORCH** - zakażenia infekcyjne i pasożytnicze niebezpieczne dla kobiet ciężarnych i ich potomstwa (ang. *Toxoplasmosis – Rubella – Cytomegalovirus –Herpes and others*)
- TOSV** - wirus toskański (ang. *Toscana Virus*)
- TMB** - tetrametylenobenzodyna
- WHO** - Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*)
- WNF** - gorączka Zachodniego Nilu (ang. *West Nile Fever*)

WNRA - rekombinowany antygen wirusa Zachodniego Nilu (ang. *West Nile Recombinant Antigen*)

WNV - wirus Zachodniego Nilu (ang. *West Nile Virus*)

YFV - wirus żółtej gorączki (ang. wirus żółtej gorączki (ang. *Yellow Fever Virus*))

ZIKV - wirus Zika (ang. *Zika Virus*)

12. ANEKS

Załącznik nr 1:

Ankieta epidemiologiczna dla osób powracających z krajów strefy międzyzwrotnikowej i śródziemnomorskiej.

ANKIETA EPIDEMIOLOGICZNA DLA PACJENTÓW PODRÓŻUJĄCYCH ZA GRANICĘ

Identyfikator pacjenta: Nr ankiety:

Płeć: K M

Data urodzenia:/...../..... Data zbierania ankiety:/...../..... Wiek: lat

Hospitalizowany w Klinice: Tak Nie albo

Konsultowany w Izbie Przyjęć Szpitala: Tak Nie

Jeżeli tak, to jaka była przyczyna hospitalizacji/udzielenia porady medycznej w Szpitalu?

.....

Objawy i dolegliwości kliniczne

gorączka stany podgorączkowe bóle głowy bóle mięśni
dreszcze osłabienie ogólne/zmęczenie wzmożona potliwość kaszel
ból gardła zapalenie spojówek nudności/wymioty brak apetytu
wysypka skórna bóle stawów limfadenopatia objawy neurologiczne

Inne

Rozpoznanie zapalenia mózgu/opon mózgowo-rdzeniowych w wywiadzie: Tak Nie

Kierunek podróży i czas pobytu

Kraj(e) docelowy(e) podróży: Kontynent:

Data wyjazdu:/...../..... Data powrotu do Polski:/...../..... Długość podróży:

Pierwszy wyjazd zagraniczny kolejny w przypadku wyjazdu do tropiku pora sucha deszczowa

Miejsce pobytu: obszary wiejskie miasta dzielnice biedoty (slumsy)

Środowisko geograficzno-przyrodnicze: dżungla tropikalna sawanna busz

pustynie/półpustynie wybrzeże/plaża ocean/morze góry rzeka

pastwiska/łąki tereny podmokłe/bagniste jezioro/staw wodospad/strumień górski

Cel podróży

rekreacyjno-wypoczynkowy służbowy/biznesowy dyplomatyczny

misyjny/humanitarny zawody sportowe/trening służba wojskowa

edukacyjny/szkoleniowy naukowo-badawczy medyczny

odwiedziny krewnych/znajomych pielgrzymka do miejsc kultu religijnego

Inny jaki?.....

Charakter wyjazdu

wycieczka z biurem podróży wyjazd indywidualny

wycieczka objazdowa pobyt stacjonarny (wczasy) wczasy i zwiedzanie

podróż samolotem podróż statkiem/promem/jachtem podróż samochodem
podróż pociągiem podróż autostopem wyprawa rowerowa
inny środek transportu Jaki?

Warunki socjoekonomiczne pobytu

ekskluzywny hotel z klimatyzacją hotel bez klimatyzacji dom wczasowy pensjonat
pokój gościnny gospodarstwo agroturystyczne/farma pole namiotowe kemping
obozowisko w dżungli tropikalny bungalow szałas hamak

Rodzaj aktywności rekreacyjnej i sportowej

tramping trekking eksploracja jaskiń myślistwo wędkowanie
turystyka górską nurkowanie/snorklowanie obóz przetrwania (survival)
żeglarstwo/kajakarstwo rafting/windsurfing wycieczka statkiem/jachtem/motorówką
odpoczynek na plaży safari w parku narodowym/rezerwacie przyrody rezerwy dzikich ptaków
wizyta na farmie/w gospodarstwie rolnym pobyt na stepie/łące/pastwisku
podglądanie dzikich zwierząt w środowisku naturalnym fotografowanie przyrody
wyprawa do dżungli wycieczki/spacery po zachodzie słońca odwiedzanie lokalnych społeczności
jazda konna jazda na wielbłądzie jazda na mule/ośle jazda na słoniu
odwiedzanie targowisk z żywymi zwierzętami wizyta w ogrodzie zoologicznym/pokazy zwierząt
nocleg w lesie/dżungli nocleg nad jeziorem/rzeką/wodospadem nocleg pod gołym niebem

Rodzaj czynności zawodowych

poszukiwanie złóż surowców naturalnych transport/komunikacja obserwacje przyrodnicze
praca na platformie wiertniczej wykopaliska archeologiczne badania etnograficzne
wyprawa podróżnicza/globtroterska praca misyjna/duszpasterska budowa studni
ćwiczenia wojskowe/bojowe praca w gospodarstwie wiejskim/na farmie
usługi hotelarsko-gastronomiczne obsługa ruchu turystycznego (pilot wycieczek, rezydent)
prace dziennikarskie/fotoreporterskie udział w wyścigach/rajdach sportowych
prace inżyniersko-budowlane w terenie praca w porze nocnej praca wielozmianowa

Stosowanie mechanicznych środków ochrony przed ukłuciami komarów

moskitiera do spania siatki w drzwiach i oknach zasłony przed owadami
środki odstraszające owady (repelenty) na skórę spirale owadobójcze
płyny i aerozole owadobójcze kadzidelka urządzenia emitujące ultradźwięki
właściwy ubiór po zachodzie słońca stosowanie klimatyzacji przy zamkniętych oknach
Jak często obserwował(a) Pan(i) ukłucia komarów podczas podróży zagranicznej?
brak sporadycznie dość często często bardzo często

Załącznik nr 2:

Ankieta epidemiologiczna dla osób niewyjeżdżających do tropiku.

ANKIETA EPIDEMIOLOGICZNA DLA PACJENTÓW NIWYJEŹDŻAJĄCYCH ZA GRANICĘ

Identyfikator pacjenta: Nr ankiety:

Płeć: K M

Data urodzenia:/...../..... Data zbierania ankiety:/...../..... Wiek: lat

Hospitalizowany w Klinice: Tak Nie

Jeżeli tak, to jaka była przyczyna hospitalizacji?

.....

Rozpoznanie zapalenia mózgu/opon mózgowo-rdzeniowych w wywiadzie: Tak Nie

Czynniki demograficzne i warunki mieszkaniowe

Miejsce zamieszkania (miejscowość/województwo/powiat):

...../...../.....

blok mieszkalny domek jednorodzinny wolnostojący dom szeregowy kamienica

wieś przedmieścia dużych miast miasteczko < 30 tys. mieszkańców

miasto 30-100 tys. mieszkańców duże miasto 100-500 tys. aglomeracja miejska >500 tys.

Czy posiada Pan(i) balkon lub taras? Tak Nie

Jak często obserwuje Pan(i) ukłucia komarów w pobliżu miejsca zamieszkania?

brak sporadycznie dość często często bardzo często

Narażenie zawodowe

Zawód wykonywany:

rolnik leśnik hodowca zwierząt weterynarz omitolog

ogrodnik geodeta agrotechnik architekt/budowniczy żołnierz

inżynier sportowiec transport/obróbka drewna wychowawca szkolny

organizator usług turystycznych pracownik ogrodu zoologicznego/botanicznego hipoterapeuta

Inny (jaki?)

Miejsce wykonywania zawodu: (miejscowość/województwo/powiat):

...../...../.....

Czy prowadzi Pan(i) hodowlę zwierząt domowych? Tak Nie

Jeżeli tak, to jakie to są zwierzęta? konie bydło trzoda chlewna

kozy owce króliki strusie indyki kaczki gęsi

kury gołębie Inne (jakie?)

Jak często obserwuje Pan(i) ukłucia komarów w środowisku pracy?

brak sporadycznie dość często często bardzo często

Czynniki związane ze sposobem spędzania czasu wolnego

Zamiłowania/hobby:

- myślistwo/łowiectwo wędkarstwo jeździectwo piesze wędrówki
turystyka góraska wspinaczka skałkowa zbieranie grzybów zbieranie jagód
uprawa kwiatów uprawa warzyw zbieranie chrustu zielarstwo
fotografowanie przyrody hodowla ptaków egzotycznych lub krajowych jakich?.....

Aktywność fizyczna i styl życia:

Czy uprawia Pan(i) sport / czynności rekreacyjne na otwartej przestrzeni: Tak Nie

Jeżeli tak, to jaki jest to rodzaj aktywności sportowej/rekreacyjnej?

- jogging w parku/lesie jogging w mieście nordic walking gra w golfa
jazda na rowerze jazda na rolkach/deskorołce gra w piłkę
tenis ziemny/badminton jazda na quadzie/motocross żeglarstwo/kajakarstwo
pływanie/kąpiel w otwartych zbiornikach wodnych spacer z psem

inny:.....

Czy posiada Pan(i) pole uprawne ogródek przydomowy sad owocowy działkę rekreacyjną?

Czy dokarmia Pan(i) dzikie ptaki na wiosnę? Tak Nie

Czy dokarmia Pan(i) ptaki nieodlatujące na zimę do ciepłych krajów? Tak Nie

Czy uczestniczy Pan(i) w wycieczkach do lasu, parku lub rezerwatu przyrody: Tak Nie

Czy podróżuje Pan(i) nad łąkę / pastwisko / torfowisko? Tak Nie

Czy wyjeżdża Pan(i) nad jezioro / rzekę? Tak Nie

Czy korzysta Pan(i) z usług gospodarstw agroturystycznych? Tak Nie

Czy nocuje Pan(i) na polach namiotowych / kempingowych?

Czy odwiedza Pan(i) ogród zoologiczny lub botaniczny? Tak Nie

Czy spędza Pan(i) czas na placu zabaw dla dzieci, zieleńcach lub skwerach miejskich ? Tak Nie

Czy bierze Pan(i) udział w przejażdżkach konnych (bryczka, furmanka) ? Tak Nie

Czy uczestniczy Pan(i) w spotkaniach rodzinnych/firmowych/koleżeńskich na łonie natury? Tak Nie

Jeżeli tak, to jaki jest ich charakter?

poczęstunek na tarasie restauracji spotkanie w ogrodzie/na działce piknik na trawie

spotkanie z przyjaciółmi na balkonie rozmowa na ławce grilowanie

Jak często obserwuje Pan(i) ukłucia komarów podczas swojej aktywności rekreacyjnej ?

brak sporadycznie dość często często bardzo często

Załącznik nr 3:

Zgoda Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu na przeprowadzenie badań naukowych objętych tematem rozprawy doktorskiej.



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 450/15

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentyisty (Dz. U. 2011, Nr 277, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 489); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. 2008 Nr 45, poz. 271 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające ubezpieczenie odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 15 listopada 2010 r. w sprawie wzorów wniosków przedkładanych w związku z badaniem klinicznym, wysokości opłat za złożenie wniosków oraz sprawozdania końcowego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. 2010r. nr 222 poz. 1453, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. 2010r. nr 107 poz. 679, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego (Dz. U. 2010r. nr 194 poz. 1290); Ustawy z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (Dz. U. 2011 nr 82 poz. 431); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 0 poz. 491); w oparciu o Deklarację Hełmińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznym z Udziałem Ludzi.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 06 maja 2015 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu:

Dr hab. Małgorzata Paul

Miejsce prowadzenia badań:

Katedra i Klinika Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych UM w Poznaniu

Główny badacz: mgr Matylda Kludkowska

Członkowie zespołu

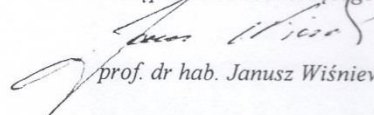
badawczego: dr hab. Małgorzata Paul

Temat badań:

„Określenie ryzyka zakażenia wirusem Zachodniego Nilu wśród osób podróżujących do krajów strefy tropikalnej i śródziemnomorskiej”.

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

Zastępca Przewodniczącego Komisji


prof. dr hab. Janusz Wiśniewski

Podpisy członków Komisji Bioetycznej - Dotyczy Uchwały nr 450/15 z dnia 06.05.2015r.

prof. dr hab. PAWEŁ CHEĆIŃSKI

prof. dr hab. JANUSZ WIŚNIEWSKI

prof. dr hab. ZYGMUNT ADAMSKI

dr KRYSZYNA BABIAK

prof. dr hab. MACIEJ KRAWCZYŃSKI

mgr JOLANTA ŁOJKO-KOŁODZIEJCZAK

mgr KRYSZYNA MALINGER

prof. dr hab. ANDRZEJ MARSZAŁEK

prof. dr hab. MACIEJ OWECKI

prof. dr hab. WOJCIECH SŁUŻEWSKI

prof. dr hab. ROBERT SPACZYŃSKI

dr med. PIOTR TOMCZAK

prof. dr hab. JOANNA TWAROWSKA-HAUSER

ks. prof. dr hab. JERZY TROSKA

prof. dr hab. HENRYK WYSOCKI

The image shows a list of names on the left and corresponding handwritten signatures on the right. The signatures are written on a set of three horizontal lines (top, middle, bottom) for each name. The signatures are: Paweł Chećiński, Janusz Wiśniewski, Zygmunt Adamski, Krystyna Babiak, Maciej Krawczyński, Jolanta Łojko-Kołodziejczak, Krystyna Malinger, Andrzej Marszałek, Maciej Owecki, Wojciech Służewski, Robert Spaczyński, Piotr Tomczak, Joanna Twarowska-Hauser, Jerzy Troška, and Henryk Wysocki.