

Katarzyna Kubiak¹, Ewa Dzika¹, Joanna Równiak², Małgorzata Dziedziech², Janusz Dzisko³, Magdalena Dzikowiec¹

SEROLOGICZNE POTWIERDZENIE WYSTĘPOWANIA ZAKAŻENIA WIRUSEM KLESZCZOWEGO ZAPALENIA MÓZGU WŚRÓD PACJENTÓW Z NEUROINFEKCJAMI W WOJEWÓDZTWIE WARMIŃSKO-MAZURSKIM W LATACH 2006-2010

SEROLOGICAL CONFIRMATION OF THE PREVALENCE OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS AMONG PATIENTS WITH NEUROLOGICAL INFECTIONS IN THE WARMIA-MASURIA PROVINCE IN 2006-2010

¹ Katedra Biologii Medycznej, Uniwersytet Warmińsko Mazurskiego w Olsztynie

² Laboratorium Badań Epidemiologiczno-Klinicznych,

Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Olsztynie

³ Warmińsko-Mazurski Państwowy Wojewódzki Inspektor Sanitarny,
Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Olsztynie

STRESZCZENIE

Celem pracy była analiza występowania kleszczowego zapalenia mózgu (kzm) w województwie warmińsko-mazurskim na podstawie badań serologicznych 878 pacjentów z objawami neuroinfekcji, diagnozowanych w latach 2006-2010 w Laboratorium Badań Epidemiologiczno-Klinicznych Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Olsztynie. W próbach surowicy krwi oraz płynu mózgowo-rdzeniowego oznaczano poziom swoistych IgM i IgG przeciwko wirusowi kzm testem ELISA. Odsetek osób z potwierdzonym serologicznie zachorowaniem na kzm wynosił 15,5%. Potwierdza to kontakt z wirusem kzm i jego rolę jako przyczynę podejrzewanych neuroinfekcji u pacjentów z województwa warmińsko-mazurskiego. Mężczyźni jak i osoby powyżej 46 roku życia to grupy o wysokim ryzyku zachorowania na kzm. Wśród badanych pacjentów odsetek seropozytywnych mężczyzn wynosił 18,1%, zaś kobiet 12,9%. Najwięcej wyników dodatnich stwierdzono w grupie pacjentów między 46 a 50 rokiem życia (20,7%) oraz u osób w wieku 56-60 lat (19,5%). Szczyt wykrywania przeciwciał przeciw wirusowi kzm przypada na lipiec, sierpień oraz październik to jest w kilka tygodni po szczytach aktywności kleszczy *Ixodes ricinus* w województwie warmińsko-mazurskim.

Słowa kluczowe: kleszczowe zapalenie mózgu (kzm), testy serologiczne (ELISA), województwo warmińsko-mazurskie

ABSTRACT

The aim of the study was to analyze of tick-borne encephalitis (TBE) in the Warmia-Masuria province on the basis of serological testing of 878 patients with symptoms of neurological infections, diagnosed in 2006-2010 in the Voivodeship Sanitary-Epidemiological Station in Olsztyn. Specific IgM and IgG antibodies against the TBE virus were detected in serum and cerebrospinal fluid samples by ELISA method. Percentage of persons with serologically confirmed TBE was 15.5%. This confirms contact with TBE virus and its role as the suspected cause of neurological infections in patients in the Warmia-Masuria province. Men and people over 46 years of age were more commonly seropositive. Among examined patients the percentage of seropositive men was 18.1% and the proportion of seropositive women was – 12.9%. Most positive results were found in patients between 46 and 50 years of age (20.7%) and in those aged 56-60 years (19.5%). Seasonal patterns were detected, with highest proportion of seropositive results in July, August and October.

Key words: tick-borne encephalitis (TBE), serologic tests (ELISA); Warmia-Masuria province

WSTĘP

Kleszczowe zapalenie mózgu (kzm) jest neuroinfekcją, której czynnikiem etiologicznym jest wirus z rodziny *Flaviviridae* (1, 2). W krajach europejskich, w tym w Polsce, kzm wywoływany jest przez europejski podtyp wirusa (TBEV-Eu). Do zakażenia nim dochodzi w wyniku żerowania na człowieku zainfekowanego kleszcza pospolitego *Ixodes ricinus* (2, 3) lub spożycia niepasteryzowanego mleka albo surowych produktów mlecznych, pochodzących od bydła będącego w okresie wiremii (4, 5).

Z danych NIZP-PZH (6) wynika, że w Polsce w latach 1998-2010 rejestrowano roczne średnio 222 przypadki kzm z największą liczbą 339 zachorowań w 2003 roku. Dane te oraz wieloletnie badania i obserwacje innych autorów wskazują na województwa podlaskie i warmińsko-mazurskie jako tereny endemiczne kzm. Wśród ludności województwa warmińsko-mazurskiego rocznie na kzm chorują średnio 73 osoby (średnia zapadalność 5,11 na 100 tys. mieszkańców) (6-9).

W pracy przeprowadzono analizę występowania kzm na terenie województwa warmińsko-mazurskiego na podstawie wyników badań serologicznych pacjentów z objawami neuroinfekcji diagnozowanych w latach 2006-2010 w Laboratorium Badań Epidemiologiczno-Klinicznych (LBEK) Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Olsztynie. Obecności swoistych przeciwciał przeciw wirusowi kzm analizowano z uwzględnieniem sezonowości oraz miejsca zamieszkania, wieku i płci pacjentów.

MATERIAŁ I METODY

Badania serologiczne przeprowadzono na próbach surowicy i płynu mózgowo-rdzeniowego od 878 pacjentów, w tym 448 kobiet (51%) i 430 (49%) mężczyzn, w wieku od 1 do 88 lat (średnia wieku 38 lat). U 550 (62,6%) osób zbadano wyłącznie surowicę, u 36 (4,1%) - płyn mózgowo-rdzeniowy i u 292 (33,3%) surowicę oraz płyn mózgowo-rdzeniowy. We wszystkich badanych próbach oznaczano poziom swoistych IgM i IgG przeciwko wirusowi kzm przy zastosowaniu komercyjnego testu FSME ELISA IgM/IgG (Genzym Virotech GmbH, Niemcy), oznaczając wynik powyżej 11VE (jednostki Virotech) jako wynik dodatni. Test i interpretację wyników przeprowadzono według zaleceń producenta. Za potwierdzone serologicznie kzm u danego pacjenta uznano dodatni wynik dla IgM i IgG w surowicy krwi lub obecność jednej z klas oznaczanych przeciwciał w płynie mózgowo-rdzeniowym (8, 10).

Do analizy statystycznej zastosowano test χ^2 przyjmując, że przy poziomie prawdopodobieństwa (p) mniejszym niż 0,05 występują istotne różnice między

porównywanymi grupami. Test przeprowadzono w programie komputerowym STATISTICA 7.1 (StatSoft. Inc, Tulsa, Oklahoma, USA).

WYNIKI

Wśród 878 pacjentów diagnozowanych w kierunku neuroinfekcji w latach 2006-2010 w LBEK WSSE w Olsztynie u 136 (15,5%) z nich potwierdzono serologicznie zachorowanie na kzm. W surowicy krwi swoiste przeciwciała IgM oraz IgG przeciw wirusowi kzm wykryto u 132 (15,1%) pacjentów. U jednego z pacjentów obie klasy przeciwciał stwierdzono zarówno w surowicy krwi, jak i płynie mózgowo-rdzeniowym, a u dwóch tylko w płynie mózgowo-rdzeniowym. U jednej z diagnozowanych osób w płynie mózgowo-rdzeniowym wykryto jedynie przeciwciała IgG. Wyłącznie IgM lub IgG przeciw wirusowi kzm stwierdzono odpowiednio u 40 (4,6%) i 44 (5,0%) pacjentów.

Przeważająca liczba pacjentów (n=858) diagnozowanych w LBEK WSSE w Olsztynie pochodziła z województwa warmińsko-mazurskiego. Odsetki badanych osób oraz wyników dodatnich z poszczególnych powiatów były różne (tab. I). W zależności od powiatu wyniki dodatnie mieściły się w granicach od

Tabela I. Potwierdzone serologicznie kzm u pacjentów z województwa warmińsko-mazurskiego badanych w LBEK WSSE w Olsztynie w latach 2006-2010
Table I. Serologically confirmed TBE in patients in district of the Warmia-Masuria province tested in LBEK WSSE in Olsztyn in 2006-2010.

Powiat	Liczba i odsetek (%) wyników pozytywnych	Ogółem liczba badanych pacjentów
bartoszycki	3 (18,8)	16
braniewski	0 (0)	1
działdowski	0 (0)	12
elbląski	0 (0)	5
etcki	10 (55,6)	18
giżycki	5 (27,8)	18
gołdapski	2 (22,2)	9
iławski	2 (10,0)	20
kętrzyński	12 (29,3)	41
lidzbarski	7 (16,7)	42
mrągowski	3 (14,3)	21
nidzicki	1 (10,0)	10
nowomiejski	0 (0)	7
olecki	10 (16,7)	60
olsztyński	43 (9,2)	468
ostródzki	2 (9,5)	21
piski	24 (43,6)	55
szczycieński	12 (40,0)	30
węgorzewski	1 (25,0)	4
inne	0 (0)	20
OGÓŁEM	136 (15,5)	878

0% do 55,6%. Znacząco więcej wyników dodatnich stwierdzono u mężczyzn niż u kobiet (tab. II).

Tabela II. Potwierdzone serologicznie kzm u pacjentów badanych w LBEK WSSE w Olsztynie z podziałem według płci

Table II. Serologically confirmed TBE in patients tested in LBEK WSSE in Olsztyn, according to sex

Płeć*	Liczba i odsetek (%) wyników pozytywnych	Ogółem liczba badanych pacjentów
Kobiety	58 (12,9)	448
Mężczyźni	78 (18,1)	430
OGÓŁEM	136 (15,5)	878

*test χ^2 , $p < 0,05$

* χ^2 test, $p < 0,05$

Odsetek seropozytywnych mężczyzn wynosił 18,1%, zaś kobiet 12,9% ($p < 0,05$). Nie wykazano natomiast istotnych statystycznie różnic między poszczególnymi grupami wieku badanych osób. Najwięcej wyników pozytywnych stwierdzono w grupie pacjentów między 46 a 50 rokiem życia (20,7%) oraz u osób w wieku 56-60 lat (19,5%) (ryc. 1.). Najniższy odsetek osób z pozytywnymi wynikami wykryto w grupie od 26 do 30 lat (9,5%) oraz u pacjentów w wieku poniżej 10 roku życia i w przedziale między 21-25 lat (po 10% badanych w danej grupie).

Odsetek osób, u których stwierdzono przeciwciała przeciwko wirusowi kzm różnił się znacznie ($p < 0,05$) między latami badań (tab. III). Najwięcej wyników pozytywnych odnotowano u pacjentów diagnozowanych w 2009 roku (23,6%), najmniej w 2008 roku (8,1%). Stwierdzono również istotną zależność między liczbą

Tabela III. Potwierdzone serologicznie kzm u pacjentów badanych w LBEK WSSE w Olsztynie w poszczególnych latach badań

Table III. Serologically confirmed TBE in patients tested in LBEK WSSE in Olsztyn according to year of the study

Rok*	Liczba i odsetek (%) wyników pozytywnych	Ogółem liczba badanych pacjentów
2006	22 (14,3)	154
2007	19 (10,4)	183
2008	12 (8,1)	149
2009	41 (23,6)	173
2010	42 (19,2)	219
OGÓŁEM	136 (15,5)	878

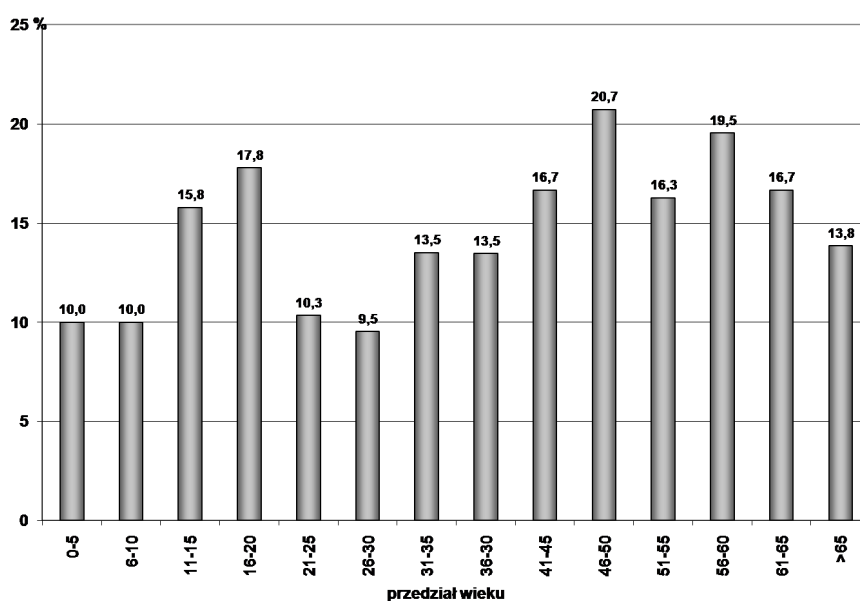
*test χ^2 , $p < 0,05$

* χ^2 test, $p < 0,05$

osób seropozytywnych a miesiącem badania (ryc. 2). Najczęściej kzm potwierdzano serologicznie u pacjentów badanych w lipcu i sierpniu (po 21,5%) oraz w październiku (26,7%)

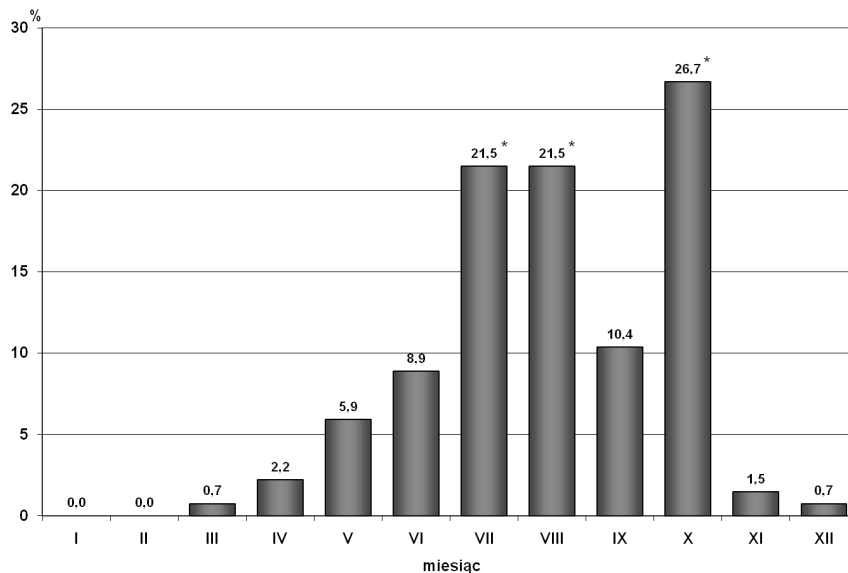
DYSKUSJA

W diagnostyce kzm, oprócz wywiadu epidemiologicznego i objawów klinicznych, rutynowo stosowane są badania serologiczne surowicy krwi oraz płynu mózgowo-rdzeniowego. Obecność i dynamika swoistych IgM i IgG anty-TBEV, wykrywane głównie metodą ELISA, są potwierdzeniem kzm i wskazują na stan zaawansowania choroby (10, 11). Już w latach 60-tych ubiegłego wieku na podstawie badań serologicznych



Ryc. 1. Odsetek pacjentów z potwierdzonym serologicznie kzm badanych w LBEK WSSE w Olsztynie w latach 2006-2010, według grup wieku

Fig. 1. Percentage of patients with serologically confirmed TBE tested in LBEK WSSE in Olsztyn in 2006-2010, according to age group



*test χ^2 , $p < 0,05$

* χ^2 test, $p < 0,05$

Ryc. 2. Odsetek pacjentów z potwierdzonym serologicznie kzm badanych w LBEK WSSE w Olsztynie w latach 2006-2010, według miesiąca kalendarzowego

Fig. 2. Seasonal distribution of persons with serologically confirmed TBE tested in 2006-2010, according to month

testem zahamowania hemaglutynacji stwierdzono przeciwciała przeciw antygenom wirusa kzm u 0,5% do 6,5% zdrowej ludności w Polsce oraz u 7% do 27% osób zawodowo narażonej na kontakt z kleszczami (7). Seroprevalencję wirusa kzm w Polsce, zarówno u osób zamieszkujących na obszarach endemicznych i nieendemicznych, potwierdziły również badania przeprowadzone przez *Stefanoffa* i in. w latach 1995-2005 na losowo wybranej próbie surowic (8). Ponadto autorzy ci wskazali na znaczną rolę zwierząt domowych, głównie kóz, w krążeniu wirusa. Potwierdzają to badania próbek mleka kóz, a także owiec i krów z terenów Polski wschodniej, w których stwierdzono obecność DNA wirusa kzm lub przeciwciała przeciw jego antygenom (5). Wirusa kzm oznaczano również bezpośrednio w jego wektorze - kleszczach *Ixodes ricinus* co jest pewnym wskaźnikiem obecności tego patogenu w naszym kraju (12, 13).

Znaczny odsetek osób serologicznie dodatnich wśród pacjentów diagnozowanych w kierunku kzm w LBEK WSSE w Olsztynie potwierdza kontakt z wirusem kzm i jego rolę jako jedną z przyczyn podejrzewanych neuroinfekcji na terenie województwa warmińsko-mazurskiego. Przewaga mężczyzn w grupie osób, u których wykryto przeciwciała anti-TBEV, może sugerować ich częstszą ekspozycję na ukąszenia przez kleszcze. Większa liczba zachorowań wśród mężczyzn na terenie północno-wschodniej Polski była także odnotowywana w latach 80-tych (14), 90-tych (15) oraz na początku XXI wieku (16) i znajduje odzwierciedlenie w wynikach badań przeprowadzonych na innych terenach Polski (8,

17) oraz w Europie (18, 19). Wiadomo również, że kzm występuje częściej u osób starszych niż u dzieci (17, 18, 20). Podobną zależność można znaleźć w niniejszej pracy oraz pracach innych autorów (15). W analizowanych badaniach wykrywalność przeciwciał anti-TBEV była najwyższa w grupie pacjentów powyżej 50 roku życia.

Sezonowość otrzymywanych wyników serologicznie dodatnich z dwoma szczytami w lipcu i sierpniu oraz październiku w województwie warmińsko-mazurskim w latach 2006-2010 jest zgodna z badaniami przeprowadzonymi u pacjentów z terenów północno-wschodniej Polski (16, 21, 22). Jak sugerują autorzy, szczyty zachorowania na kzm na tych terenach występują około trzech tygodni później niż szczyty aktywności kleszczy *Ixodes ricinus*. Badania nad aktywnością kleszczy w okolicach Olsztyna przypadające na maj i sierpień, również potwierdzają taką zależność (23, 24).

PODSUMOWANIE

1. Wyniki badań serologicznych potwierdzają kontakt z wirusem kzm i jego rolę jako przyczynę podejrzewanych neuroinfekcji u pacjentów z województwa warmińsko-mazurskiego.
2. Największy odsetek wyników dodatnich pod względem występowania przeciwciał przeciw wirusowi kzm u mężczyzn oraz osób powyżej 46 roku życia sugeruje, iż są to grupy o znacznie wyższym ryzyku zachorowania na kzm.
3. Sezonowość wykrywania przeciwciał przeciw

wirusowi kzm ze szczytami w lipcu i sierpniu oraz październiku następuje kilka tygodni później niż szczyty aktywności kleszczy *Ixodes ricinus* w województwie warmińsko-mazurskim.

PIŚMIENNICTWO

1. Dumpis U, Crook D, Oksi J. Tick-borne encephalitis. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 882-90.
2. Mansfield KL, Johnson N, Phipps LP, i in. Tick-borne encephalitis virus - a review of an emerging zoonosis. *J Gen Virol* 2009; 90: 1781-94.
3. Süss J. Tick-borne encephalitis 2010: Epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia - an review. *Ticks and Tick-borne Dis* 2011; 2: 2-15.
4. Sixl W, Stünzer D, Withalm H, i in. Rare transmission mode of FSME (tick-borne encephalitis) by goat's milk. *Georg Med Suppl* 1989; 2, 11-14.
5. Cisak E, Wójcik-Fatla A, Zajac V, i in. Prevalence of tick-borne encephalitis virus (TBEV) in samples of raw milk taken from cows, goats and sheep in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med* 2010; 17: 283-86.
6. Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce. Zakład Epidemiologii NIZP-PZH, Departament Przeciwepidemiczny GIS, Warszawa 1999-2010.
7. Wróblewska- Mularczyk Z, Dobrzyński L, Olkowska D, i in. Przegląd serologiczny zdrowej ludności Polski w kierunku arbo wirusowego zapalenia mózgu w latach 1965-1968. *Przegl Epidemiol* 1968; 22: 293-307.
8. Stefanoff P, Eidson M, Morse DL, i in. Evaluation of tickborne encephalitis case classification in Poland. *Eur Surveill* 2005; 10: 23-25.
9. Stefanoff P, Siennicka J, Kaba J, i in. Identification of new endemic tick-borne encephalitis foci in Poland - a pilot seroprevalence study in selected regions. *Int J Med Microbiol* 2008; 298: 102-07.
10. Holzmann H. Diagnosis of tick-borne encephalitis. *Vaccine* 2003; 21: 882-90.
11. Juchnowicz D, Tomczak AA, Rudnik-Szałaj I, i in. Epidemiologia i zapobieganie zachorowaniu na kleszczowe zapalenie mózgu. *Ann UMCS Sect D* 2004; 59: 406-11.
12. Cisak E, Chmielewska-Badora J, Rajtar B, i in. Study on the occurrence of borrelia burgdorferi sensu lato and tick-borne encephalitis virus (TBEV) in tick collected in Lublin region (eastern Poland). *Ann Agric Environ Med* 2002; 9: 105-10.
13. Makówka A, Gut W, Stefanoff P. Obecność RNA wirusa kleszczowego zapalenia mózgu w kleszczach *Ixodes ricinus* jako narzędzie oceny zasięgu obszarów endemicznych i czułości nadzoru nad zachorowaniami na kzm. *Przegl Epidemiol* 2009; 63: 377-80.
14. Jeżyna Cz, Zajac W, Ciesielski T, i in. Epidemiologische Untersuchungen von Kranken mit Zecken-Enzephalitis aus Nord-Ostpolen. *Zbl Bakt Hyg I Abt Orig B* 1984; 178: 510-21.
15. Bobrowska E, Bobrowski M, Grzeszczuk A, i in. Odporność na kleszczowe zapalenie mózgu u osób zdrowych i zamieszkałych na terenach endemicznych. *Wiad Parazytol* 1995; 41: 63-70.
16. Grygorczuk S, Mierzyńska D, Zdrodowska A, i in. The course of the tick-borne encephalitis (TBE) in patients hospitalized at the Department of Infectious Diseases in Białystok in the year 2001. *Przegl Epidemiol* 2002; 56: 595-604.
17. Stefanoff P, Rosińska M, Zieliński A. Epidemiologia chorób przenoszonych przez kleszcze w Polsce. *Predl Epidemiol* 2006; 60: 151-59.
18. Logar M, Bogovič P, Cerar D, i in. Tick-borne encephalitis in Slovenia from 2000 to 2004: Comparison of the course in adult and elderly patients. *Wien Klin Wochenschr* 2006; 118: 702-07.
19. Walder G, Falkensammer B, Heinz FX, i in. Tick-borne encephalitis in the Tyrol (Austria): Changes in incidence and endemicity 2000-2006. *Int J Med Microbiol* 2008; 298: 88-93.
20. Logar M, Arnez M, Kolbl J, Avsic-Zupanc T, Strle F. Comparison of the epidemiological and clinical features of tick-borne encephalitis in children and adults. *Infection* 2000; 28: 74-77.
21. Pancewicz SA, Hermanowska-Szpakowicz T, Biedzińska T. Analiza epidemiologiczna kleszczowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu (kzm) w 1993 roku na terenie województwa białostockiego. *Przeg Epidemiol* 1994; 48: 467-73.
22. Grygorczuk S, Mierzyńska D, Zdrodowska A, i in. Tick borne encephalitis in north-eastern Poland in 1997-2001: a retrospective study. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 904-09.
23. Kubiak K, Dziekońska-Rynko J, Jabłonowski Z. Occurrence and seasonal activity of european ticks *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) in the forest areas of Olsztyn. *Wiad Parazytol* 2004; 50: 265-68.
24. Kubiak K, Dziekońska -Rynko J. Seasonal activity of the common European tick, *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) in the forested areas of the city of Olsztyn and its surroundings. *Wiad Parazytol* 2006; 52: 59-64.

Otrzymano: 03.08.2011 r.

Zaakceptowano do druku: 20.09.2011 r.

Adres do korespondencji:

Dr Katarzyna Kubiak

Katedra Biologii Medycznej

Wydział Nauk Medycznych

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Ul. Żołnierska 14c, 10-561 Olsztyn

Tel. 0 89 5246116

e-mail: katarzyna.kubiak@uwm.edu.pl