

Monika Emilia Król¹, Bartłomiej Borawski¹, Anna Nowicka-Ciehuszecka²,
Jadwiga Tarasiuk² and Joanna Zajkowska¹

OUTBREAK OF ALIMENTARY TICK BORNE ENCEPHALITIS IN PODLASKIE VOIVODESHIP, POLAND

OGNISKO ZACHOROWAŃ NA KLESZCZOWE ZAPALENIE MÓZGU NABYTE DROGĄ POKARMOWĄ NA TERENIE WOJEWÓDZTWA PODLASKIEGO

¹Department of Infectious Diseases and Neuroinfections, Medical University of Białystok

²Infectious Diseases Ward of General Hospital in Hajnowka

¹Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

²Oddział Obserwacyjno-Zakaźny Samodzielnego Publicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej w Hajnowce

ABSTRACT

INTRODUCTION. Tick-borne encephalitis (TBE) virus remains one of the main etiological agents of central nervous system infections in Europe. The disease occurs endemically in Central and Eastern Europe, Southern part of Russia and Scandinavia. Between 2000 and 2015 there were 3 662 registered TBE cases in Poland and approximately 45% of them were reported in Podlaskie voivodeship. TBE typically develops as a result of being bitten by infected tick, however, it can also be a consequence of ingestion of unpasteurized milk from viremic animal.

OBJECTIVES. The aim of the article was to underline to the importance of TBE virus transmission via alimentary route and clinical description of four patients who developed TBE as a result of raw goat milk consumption.

MATERIAL AND METHODS. A retrospective analysis of documentation of four patients hospitalized in Observational-Infectious Department of Independent Public Healthcare Centre in Hajnowka and Department of Infectious Diseases and Neuroinfections at the Medical University of Białystok from June 10th 2017 to July 11th 2017 due to alimentary TBE.

RESULTS. Patients were between 24 and 36 years of age. They have consumed goat milk from the same source. None of the patients have been vaccinated against TBE virus. In all patients typical biphasic disease course with the presence of prodromal and neurological phase was observed. TBE was confirmed by demonstration of anti-TBE antibodies in serum and/or cerebrospinal fluid of patients.

CONCLUSIONS. Diagnosis of TBE should be considered in every case of encephalitis in endemic areas. Due to the risk of TBE infection after consumption of unpasteurized milk from livestock, it is crucial to raise awareness of general population and farm owners about the possibility of TBE infection via alimentary route.

Key words: tick-borne encephalitis, TBE, milk-borne outbreak, alimentary

STRESZCZENIE

WSTĘP. Wirus kleszczowego zapalenia mózgu (KZM) pozostaje jednym z głównych czynników etiologicznych zakażeń ośrodkowego układu nerwowego w Europie. Choroba występuje endemicznie w Europie Środkowej i Wschodniej, w południowej części Rosji oraz Skandynawii. W latach 2000-2015 na terenie Polski odnotowano 3 662 zachorowań na KZM, z czego około 45% dotyczyło mieszkańców województwa podlaskiego. KZM rozwija się z reguły w następstwie ukłucia przez zakażonego kleszcza, ale może być także skutkiem spożycia niepoddanego obróbce termicznej mleka od zakażonego zwierzęcia będącego w fazie wiremii.

CEL PRACY. Zwrócenie uwagi na znaczenie transmisji pokarmowej jako drogi zakażenia wirusem KZM oraz charakterystyka kliniczna przypadków czterech pacjentów, którzy rozwinęli KZM w następstwie konsumpcji surowego mleka koziego.

MATERIAŁ I METODY. Przeprowadzono retrospektywną analizę dokumentacji czterech pacjentów hospitalizowanych na Oddziale Obserwacyjno-Zakaźnym Samodzielnego Publicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej w Hajnowce oraz w Klinice Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku od 10 czerwca 2017 r. do 11 lipca 2017 r. z powodu KZM nabytego drogą pokarmową.

WYNIKI. Pacjenci byli w wieku od 24 do 36 lat. Chorzy spożywali mleko kozie z tego samego źródła. Żaden z pacjentów nie był poddany szczepieniu przeciw wirusowi KZM. U wszystkich chorych obserwowano dwufazowy przebieg choroby z obecnością fazy zwiastunowej i fazy neuroinfekcji. KZM potwierdzono obecnością przeciwciał przeciw wirusowi KZM w surowicy krwi i/lub płynie mózgowo-rdzeniowym chorych.

WNIOSKI. Rozpoznanie KZM powinno być rozważone w przypadku każdego zapalenia mózgu na terenach endemicznych. Ze względu na ryzyko zakażenia KZM po spożyciu niepasteryzowanego mleka od zwierząt gospodarskich, konieczne jest zwiększenie świadomości populacji ogólnej i właścicieli gospodarstw na temat możliwości zakażenia wirusem drogę pokarmową.

Słowa kluczowe: *kleszczowe zapalenie mózgu, KZM, epidemia mleczna, droga pokarmowa*

INTRODUCTION

Tick-borne encephalitis (TBE) virus belonging to the *Flaviviridae* family remains one of the main etiological factors of central nervous system (CNS) infections in Europe (1-2). The disease is endemic in Central and Eastern Europe, in the southern part of Russia and Scandinavia (3). In the years 2000-2015, 3662 cases of TBE were reported in Poland, which resulted in the average incidence of 0.33-0.92 per 100,000 inhabitants. The areas of particularly high incidence are the Podlaskie Voivodship (about 45% of documented cases of TBE, the incidence of 6/100 000 people) and the Warmian-Masurian Voivodship (25% of documented cases; incidence of 1.5 / 100,000 people) (4). Although TBE virus (TBEV) infection in humans is most frequently a consequence of bite by an infected tick, the virus may also be transmitted through the consumption of unpasteurized milk from viremic livestock (5). The countries, in which transmission of the TBEV was reported via the alimentary route, include Austria, Czech Republic, Russia, Slovakia, Germany and Slovenia (6-10). Milk epidemics are associated most frequently with the consumption of unpasteurized milk and cheese of goat, cow or sheep (11). There are also reports documenting the outbreaks of the milk-borne TBE epidemics in Poland (12-14). Typically, the disease has a biphasic course. Symptoms of the first phase include fever, fatigue, muscle pain, headache, nausea, and vomiting. In about 30% of patients after a short asymptomatic period, the neurological phase may occur in the form of meningitis, encephalitis, myelitis or a combination of the aforementioned. The course of the disease is usually mild, however, in about 2% of patients TBE can be fatal (3). Despite the availability of an effective vaccine against the TBEV, the incidence rate in many countries seems to increase (15-17). The dominance of forested areas in the Podlaskie Voivodship provides suitable conditions for ticks (18). In addition, climate changes leading to more favorable meteorological conditions for the natural transmission of the TBEV contributes to an increasing number of infected ticks (3). The rise in TBE incidence may also be attributed to changes in people's behavior, including the increase in consumption of non-heat-treated dairy products (19). The aim of this report is to underline the importance of alimentary transmission as a route of infection with the TBEV and clinical description of four patients who developed TBE following the consumption of raw goat milk.

WSTĘP

Wirus kleszczowego zapalenia mózgu (KZM) należący do rodziny *Flaviviridae* pozostaje jednym z głównych czynników etiologicznych zakażeń ośrodkowego układu nerwowego (OUN) w Europie (1-2). Choroba występuje endemicznie w Europie Środkowej i Wschodniej, w południowej części Rosji oraz Skandynawii (3). W latach 2000-2015 na terenie Polski odnotowano 3 662 zachorowań na KZM, co dało średnią zapadalność 0,33-0,92 w przeliczeniu na 100 000 mieszkańców. Do obszarów o szczególnie wysokiej zachorowalności należy województwo podlaskie (około 45% udokumentowanych zachorowań na KZM; zapadalność ok. 6/100 000 osób) i województwo warmińsko-mazurskie (25%; 1,5/100 000 osób) (4). Chociaż zakażenie człowieka wirusem KZM najczęściej jest następstwem ukłucia przez zakażonego kleszcza, do transmisji wirusa może dojść również po spożyciu* mleka niepoddanego obróbce termicznej, pochodzącego od zakażonego zwierzęcia będącego w fazie wiremii (5). Do krajów, w których odnotowano transmisję wirusa KZM drogą pokarmową należą Austria, Czechy, Rosja, Słowacja, Niemcy i Słowenia (6-10). Najczęściej epidemie mleczne związane są z konsumpcją niepasteryzowanego mleka i serów pochodzenia koziego, krowiego lub owczego (11). Dostępne są także doniesienia dokumentujące ogniska epidemii mlecznej KZM na terenie Polski (12-14). Typowo choroba ma przebieg dwufazowy. Objawy fazy zwiastunowej obejmują gorączkę, zmęczenie, bóle mięśniowe, bóle głowy, nudności i wymioty. U około 30% chorych po krótkim okresie bezobjawowym następuje faza neuroinfekcji mogąca przebiegać pod postacią: zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenia mózgu, zapalenia rdzenia kręgowego bądź kombinacji kilku wyżej wymienionych. Przebieg choroby jest zazwyczaj łagodny, jednak w około 2% przypadków KZM może zakończyć się zgonem chorego (3). Mimo dostępności skutecznej szczepionki przeciwko wirusowi KZM, wskaźnik zapadalności w wielu krajach zdaje się wzrastać (15-17). Dominacja terenów zalesionych na terenie województwa podlaskiego sprzyja zasiedleniu kleszczy (18). Ponadto, zmiany klimatyczne przekładające się na korzystniejsze warunki meteorologiczne dla naturalnej transmisji wirusa przyczyniają się do zwiększonej liczby zakażonych kleszczy (3). Na wzrost zachorowań na KZM mogą mieć również wpływ zmiany w zachowaniu ludzi, m.in. wzrost spożywania produktów mlecznych niepoddanych obróbce termicznej (19).

Celem pracy jest zwrócenie uwagi na istotność transmisji pokarmowej jako drogi zakażenia wirusem KZM oraz charakterystyka kliniczna przypadków czterech pacjentów, którzy zachorowali na KZM w następstwie konsumpcji surowego mleka koziego.

MATERIALS AND METHODS

A retrospective analysis of 4 medical histories of patients aged between 24 and 36 years old who had been hospitalized in the Infectious Diseases Ward of General Hospital in Hajnówka and in the Department of Infectious Diseases and Neuroinfections at the Medical University of Białystok between 10th June and 14th July 2017 due to alimentary tick-borne encephalitis has been conducted. TBE was diagnosed based on clinicoepidemiological data and presence of IgM and IgG anti-TBEV antibodies both in serum and cerebrospinal fluid (CSF).

RESULTS

All of the patients were monks and they domiciled in a monastery in Podlaskie Voivodeship. All four patients were on a vegetarian diet, in which the source of protein was consumption of raw goat milk. None of the patients had been vaccinated against TBE. Cases were characterized by a mild, biphasic course. Results of laboratory tests are presented in Table.

MATERIAŁ I METODY

Przeprowadzono retrospektywną analizę dokumentacji czterech pacjentów, w wieku od 24 do 36 lat, hospitalizowanych na Oddziale Obserwacyjno-Zakaźnym Samodzielnego Publicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej w Hajnówce oraz w Klinice Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (UMB) od 10 czerwca 2017 do 14 lipca 2017 z powodu KZM nabytego drogą pokarmową. KZM rozpoznano na podstawie danych kliniczno-epidemiologicznych i obecności przeciwciał przeciw wirusowi KZM w klasie IgM i IgG w surowicy krwi i/lub płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) chorych.

WYNIKI

Wszyscy czterej pacjenci byli mnichami, zamieszkującymi monastyr (tradycyjna nazwa klasztoru w Kościołach wschodnich) w województwie podlaskim. Prowadzili wspólne gospodarstwo rolne na własny użytek. Pacjenci pozostawali na diecie bezmięsnej, w której źródło białka stanowiła konsumpcja niepasteryzowanego mleka koziego i jego przetworów. Żaden z chorych nie był uprzednio zaszczepiony przeciw wirusowi KZM. Zestawienie wyników laboratoryjnych pacjentów przedstawiono w tabeli I.

Table 1. Results of laboratory tests in reported patients

Tabela 1. Wyniki badań laboratoryjnych opisywanych pacjentów

	Patient no. 1	Patient no. 2	Patient no. 3	Patient no. 4
Serological tests				
Tick-borne encephalitis				
Serum IgM (VE/ml*)	52.44 ↑	56.21 ↑	38.23 ↑	Not examined
Serum IgG (VE/ml)	33.17 ↑	11.39 ↑	0.91	Not examined
CSF IgM (wME**)	13.15 ↑	12.32 ↑	12.80 ↑	13.25 ↑
CSF IgG (wME)	5.85 ↑	7.21 ↑	2.3 ↑	10.71 ↑
Lyme disease (BBU/mL)***				
Serum IgM	8.7	Not examined	7.8	Not examined
Serum IgG	10.2	Not examined	22.6 ↑	Not examined
CSF IgM	0.4	0.3	0.5	0.5
CSF IgG	0.5	0.6	0.8	0.2
CSF examination				
Color and transparency	aqueous. clear	aqueous. clear	aqueous. clear	aqueous. clear
Cytosis [cells/μl]	33 ↑	129 ↑	67 ↑	100 ↑
Glucose [mg/dl]	60	81 ↑	70	50
Protein [mg/dl]	39	49 ↑	28 ↓	57 ↑
% of lymphocytes	91	61	84	94
Chloride [mmol/l]	125	124	130	127
Nonne-Apelt test	(-)	(-)	(-)	(-)
Pandy test	(+)	(+)	(-)	(+)
Other				
Epstein-Barr IgM	negative	Not examined	negative	Not examined
Blood culture	negative	Not examined	Not examined	Not examined

CSF – cerebrospinal fluid

* Cut-off values (IgM and IgG serum): 11 VE/ml

** Cut-off values (IgM and IgG CSF) : 1.5 wME

*** Cut-off values (IgM and IgG): 11 BBU/mL (serum). 5 BBU/mL (CSF)

PATIENT 1

On June 11th, a 25-year-old man with an unremarkable medical history presented to the Infectious Diseases Ward of General Hospital with fever for the past 3 days, headache and ocular pain. He had a history of tick bites, consumption of unpasteurized milk and vertigo. On physical examination the patient was feverish. Neurological examination revealed no abnormalities. Laboratory investigations showed leukopenia (WBC – $2,6 \times 10^3/\mu\text{l}$) and thrombocytopenia (PLT – $111 \times 10^3/\mu\text{l}$). Chest X-ray revealed inflammatory lesions in lungs. Serum was negative for specific anti-TBEV antibodies. Additional diagnostic tests were conducted to exclude other infectious diseases, nonetheless, serum samples were negative for toxoplasmosis, hepatitis B, Epstein-Barr virus, hepatitis C and Lyme disease. CSF examination was performed, but no inflammatory signs were found and serological tests for TBEV infection were negative. During hospitalization, the patient had a fever up to $38,6\text{ }^\circ\text{C}$, headache, and nausea. Treatment with doxycycline, ceftriaxone, paracetamol, ketoprofen, and intravenous hydration were administered. The definite diagnosis during hospital stay had not been established. On June 14th, the patient was transferred to the Department of Infectious Diseases and Neuroinfections at the Medical University of Białystok, where no specific anti-TBEV antibodies were found in serum and CSF. The patient had mildly elevated liver enzymes. During hospitalization, the patient suffered from headaches and sore throat. After achieving clinical improvement patient was discharged home in good general condition on June 21st. On June 24th, the patient was readmitted to the Infectious Diseases Ward of General Hospital complaining of relapse of fever, headaches, and vertigo. Physical examination revealed fever and tachycardia. On June 26th spinal tap was performed and CSF analysis revealed lymphocytic pleocytosis. Serological analysis of SCF confirmed TBE. The patient was treated with mannitol, dexamethasone, metamizole, paracetamol, and intravenous hydration. The patient developed paresthesias. After neurological consultation treatment with gabapentin was started. After completion of treatment, on 7 July the patient was discharged home in good clinical condition with a recommendation of follow up visit in Infectious Diseases Outpatient Clinic and referral to Neurology Outpatient Clinic.

PATIENT 2

A 24-year-old man with a history of Gilbert Syndrome and essential tremor was admitted to the

PACJENT 1

25-letni mężczyzna, został przyjęty do Oddziału Obserwacyjno-Zakaźnego Szpitala Ogólnego 10 czerwca 2017 roku z powodu utrzymującej się od trzech dni gorączki, bólów głowy i gałek ocznych. W wywiadzie pokłucia przez kleszcze, picie niepasteryzowanego mleka koziego, zawroty głowy. W badaniu przedmiotowym stwierdzono gorączkę. W badaniu neurologicznym nie stwierdzono odchyień. W badaniach laboratoryjnych z odchyień od normy obserwowano leukopenię (WBC – $2,6 \times 10^3/\mu\text{l}$) i trombocytopenię (PLT- $111 \times 10^3/\mu\text{l}$). W RTG klatki piersiowej uwidoczniło zmiany zapalne w płucach. W badaniach serologicznych surowicy krwi nie wykazano swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi KZM. Wyniki badań serologicznych w kierunku zakażenia toksoplazmą, wirusem HBV, wirusem EBV, wirusem HCV, wirusem HIV i *B. burgdorferi* były ujemne. W badaniu PMR nie wykazano cech zapalnych ani obecności swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi KZM. W czasie hospitalizacji pacjent gorączkował do $38,6^\circ\text{C}$, występowały bóle głowy i nudności. W leczeniu stosowano doksycyklinę, ceftriakson, paracetamol, ketoprofen i nawodnienie dożylnie. Nie ustalono przyczyny dolegliwości. 14 czerwca, pacjenta przekazano do Kliniki Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji UMB, gdzie wyniki wykonanych badań w kierunku KZM były negatywne. Wykazano nieznacznie podwyższoną aktywność enzymów wątrobowych. Podczas hospitalizacji pacjent zgłaszał bóle głowy i ból gardła. Po uzyskaniu poprawy klinicznej pacjenta wypisano do domu 21 czerwca. W dniu 24 czerwca, pacjent został ponownie przyjęty do Oddziału w Obserwacyjno-Zakaźnego w Hajnówce z powodu gorączki, bólów i zawrotów głowy. W badaniu przedmiotowym z odchyień obserwowano gorączkę i tachykardię. 26 czerwca, wykonano punkcję lędźwiową uzyskując płyn mózgowo-rdzeniowy, w którym stwierdzono pleocytozę z przewagą limfocytów. Badanie serologiczne PMR potwierdziło zakażenie wirusem KZM. W leczeniu stosowano mannitol, deksametazon, metamizol, paracetamol i nawodnienie dożylnie. Po zastosowanym leczeniu temperatura unormowała się i ustąpiły bóle głowy. W kolejnych dniach wystąpiły zaburzenia czucia (parestezje). Po konsultacji neurologicznej włączono do leczenia gabapentynę. Po zakończeniu leczenia, 7 lipca pacjenta wypisano do domu w stanie ogólnym dobrym z zaleceniem kontroli w Poradni Chorób Zakaźnych i Poradni Neurologicznej.

PACJENT 2

24-letni mężczyzna z wywiadem zespołu Gilberta i drżenia samoistnego, został przyjęty do Oddziału Ob-

Infectious Diseases Ward of General Hospital on June 24th following 4 days of fever and headache. The patient complained of bilateral orbital pain, shivers, and sore throat. The symptoms reoccurred after few days of clinical remission. The patient denied any recent tick bites. Physical examination revealed fever, jaundice, and tachycardia. His neurological examination was unremarkable. Routine laboratory evaluation showed increased bilirubin concentration (5,06 mg/dl) and leukocytosis (11,9x10³/μl). Lumbar puncture was performed and CSF analysis revealed inflammatory features. Presence of both IgM and IgG anti-TBEV antibodies was demonstrated in serum and CSF. Clinical improvement was achieved after symptomatic treatment with analgesics, ceftriaxone (until exclusion of Lyme disease), mannitol, dexamethasone, and intravenous hydration. On July 7th patient was discharged home in good clinical condition with the recommendation of follow up visit in Infectious Diseases Outpatient Clinic.

PATIENT 3

A 36-year-old, previously healthy male presented to the Infectious Diseases Ward of General Hospital on June 24th, with a few days history of fever, headache, and vertigo. The patient had similar symptoms one week ago and a after few days of clinical remission they recurred. Physical examination revealed fever and tachycardia. Meningeal signs were negative. The patient did not report any tick bites. On June 14th, in serum analysis performed on an outpatient basis, anti-TBEV antibodies were not detected. Assays for antibodies against *Borrelia burgdorferi* and EBV virus were negative. On June 20th, repeated TBE serum serology was positive for IgM. Laboratory blood tests revealed leukopenia. Lumbar puncture was performed. CSF analysis revealed inflammatory features and presence of both IgM and IgG anti-TBEV antibodies. On June 29th patient developed severe headaches and tramadol infusion was administered. After treatment with intravenous hydration, antiemetic drugs (metoclopramide), analgesics, ceftriaxone (until Lyme disease exclusion), mannitol, dexamethasone, carbamazepine, and betahistine clinical improvement was achieved. On July 11th patient was discharged home in good clinical condition with a recommendation of follow up visit in Infectious Diseases Outpatient Clinic.

PATIENT 4

A 29-year-old man with a history hepatitis B was admitted to the Infectious Diseases Ward of General Hospital on June 30th due to TBE confirmed by serology on an outpatient basis. On June 27th ambulatory serum

serwacyjno-Zakaźnego Szpitala Ogólnego w dniu 24 czerwca 2017r., z powodu utrzymującej się od czterech dni gorączki i bólów głowy. Pacjent uskarżał się na bóle gałek ocznych, dreszcze oraz ból gardła. Był to już drugi nawrót podobnych objawów po kilkudniowym okresie poprawy. Chory nie przypominał sobie, aby w ostatnim czasie doszło do pokłucia przez kleszcze. W badaniu fizykalnym przy przyjęciu stwierdzono gorączkę, żółcenie powłok skórnych oraz przyspieszoną czynność serca. Badanie neurologiczne nie wykazało istotnych odchyleń. W badaniach laboratoryjnych wykazano podwyższone stężenie bilirubiny (5,06 mg/dl) i leukocytozę (11,9 x 10³/μl). Wykonano nakłucie łędźwiowe, uzyskując PMR o parametrach zapalnych. W badaniach serologicznych wykazano obecność przeciwciał w klasie IgM i IgG przeciwko wirusowi KZM zarówno w surowicy, jak i w PMR. W leczeniu zastosowano leki przeciwbólowe, ceftriakson (do chwili wykluczenia boreliozy), mannitol, deksametazon i nawodnienie dożylnie uzyskując poprawę stanu klinicznego. 7 lipca, pacjenta wypisano do domu w stanie ogólnym dobrym z zaleceniem kontroli w poradni Chorób Zakaźnych.

PACJENT 3

36-letni mężczyzna, 24 czerwca 2017 roku, został przyjęty do Oddziału Obserwacyjno-Zakaźnego Szpitala Ogólnego, z powodu utrzymującej się od kilku dni gorączki, bólów i zawrotów głowy. Był to drugi nawrót powyższych dolegliwości po około tygodniowej poprawie. W badaniu przedmiotowym z odchyień stwierdzono gorączkę i przyspieszoną czynność serca. Pacjent nie miał objawów oponowych. Pacjent zaprzeczył, aby w ostatnim czasie doszło do pokłucia przez kleszcze. 14 czerwca, w wykonanych ambulatoryjnie badaniach serologicznych nie wykazano swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi KZM. Wyniki badań serologicznych w kierunku zakażenia *B. burgdorferi* i EBV były ujemne. W powtórnie wykonanych badaniach, 20 czerwca u pacjenta stwierdzono serokonwersję przeciwciał klasy IgM przeciwko wirusowi KZM. W badaniach laboratoryjnych z odchyień od normy stwierdzono leukopenię. Wykonano nakłucie łędźwiowe uzyskując PMR o parametrach zapalnych, w którym wykazano obecność przeciwciał w klasie IgM i IgG przeciwko wirusowi KZM. 29 czerwca, w piątej dobie hospitalizacji wystąpiły bóle głowy o znacznym nasileniu. Zastosowano wlew tramadolu. W leczeniu stosowano nawodnienie, leki przeciwwymiotne (metoklopramid), leki przeciwbólowe, ceftriakson (do chwili wykluczenia boreliozy), mannitol, deksametazon, karbamazepinę i betahistynę uzyskując poprawę kliniczną. 11 lipca, pacjenta wypisano do domu w stanie ogólnym dobrym z zaleceniem kontroli w poradni Chorób Zakaźnych.

serology was performed and it was positive for both IgM and IgG anti-TBE specific antibodies. The assays for antibodies against *Borrelia burgdorferi* were negative. The patient reported tick bites that occurred near the end of May 2017. Patient's complaints included fever, headache and left otalgia which had been present for 6 days. Physical examination revealed low-grade fever. CSF analysis revealed inflammatory features and presence of both IgM and IgG anti-TBEV antibodies. Routine blood laboratory tests revealed normocytic anemia, slightly elevated CRP and decreased TSH and fT3 levels. The patient was treated with intravenous hydration, analgesics, ceftriaxone (until Lyme disease exclusion), mannitol, and dexamethasone. On July 11th, the patient was discharged home in good overall condition with a recommendation of follow up visit in Infectious Diseases Outpatient Clinic and referral to an endocrinologist.

DISCUSSION

In the report above, we describe the fourth outbreak of milk-borne TBE in Poland. Previously reported outbreaks of the milk-borne TBE epidemics occurred in the Olsztyn Voivodship in 1974 (current Warmian-Masurian Voivodeship), in the Kielce Voivodeship (current Świętokrzyskie Voivodeship) in 1995 and the Wrocław Voivodeship (current Lower Silesian Voivodeship) in 1996. The source of the infection was fresh, unpasteurized cow's milk (1974) and goat's milk (1995, 1996) (12-14). The diagnosis of TBE should be considered in case of any encephalitis in endemic areas. The lack of information about a tick bite in medical history and non-specificity symptoms in the interview may hinder the diagnosis (9,20). The occurrence of small epidemics in people who consume dairy products from the same source can suggest a diagnosis of milk-borne infection (13). It is important to obtain a thorough medical history with stress on the patient's dietary habits. In endemic areas, TBE is a significant clinical problem, which can lead to permanent complications (20). In the cases described above, the course of TBE was mild which was associated with young age, normal nutritional status and lack of other risk factors for severe course of the disease (3). The incubation period of the TBEV in alimentary infection is about 3-4 days and is shorter than in the case of a disease occurring after a tick bite (20). In all four described cases, the course of the disease was biphasic, which is characteristic of TBE infection caused by European subtype of the virus (20). All patients developed non-specific symptoms such as headache, muscle pain, fatigue or fever. Although the patients usually have positive meningeal signs in the neurological phase, none of the herein

PACJENT 4

29-letni mężczyzna z wywiadem wirusowego zapalenia wątroby typu B został przyjęty do Oddziału Obserwacyjno-Zakaźnego Szpitala Ogólnego 30 czerwca 2017 roku, z powodu rozpoznania zakażenia KZM potwierdzonego wykonanymi ambulatoryjnie badaniami serologicznymi. 27 czerwca, w surowicy krwi stwierdzono swoiste przeciwciała przeciwko KZM w klasie IgM i IgG. Wyniki badań serologicznych w kierunku zakażenia *B. burgdorferi* były ujemne. Chory zgłosił pokłucie przez kleszcze pod koniec maja 2017. Pacjent uskarżał się na trwającą od około sześciu dni gorączkę, ból głowy oraz ból w okolicy ucha lewego. Przy przyjęciu badaniem przedmiotowym z odchył od normy stwierdzono stan podgorączkowy. Wykonano nakłucie lędźwiowe uzyskując PMR o parametrach zapalnych, w którym wykazano obecność przeciwciał w klasie IgM i IgG przeciwko wirusowi KZM. Podczas hospitalizacji w badaniach laboratoryjnych wykazano niedokrwistość normocytarną, nieznacznie podwyższone CRP oraz obniżone wartości hormonu tyreotropowego (TSH) i wolnej trijodotyroniny (fT3). W leczeniu zastosowano nawodnienie, leki przeciwbólowe, ceftriaxon (do chwili wykluczenia boreliozy), mannitol i dexametazon uzyskując poprawę stanu klinicznego. 11 lipca, pacjenta wypisano do domu w stanie ogólnym dobrym z zaleceniem kontroli w poradni Chorób Zakaźnych oraz kontroli w Poradni Endokrynologicznej.

DYSKUSJA

W powyższej pracy przedstawiono czwarte w Polsce opisane ognisko zakażeń wirusem KZM w formie gorączki mlecznej. Poprzednie ogniska epidemii mlecznej KZM wystąpiły w województwie olsztyńskim (obecnie warmińsko-mazurskie) w 1974 r., kieleckim (obecnie świętokrzyskie) w 1995r. oraz województwie wrocławskim (obecnie dolnośląskie) w 1996 r. Źródłem infekcji było świeże, niepasteryzowane mleko krowie (1974 r.) oraz mleko kozie (1995 r., 1996 r.) (12-14). Rozpoznanie KZM powinno być wzięte pod uwagę w przypadku każdego zapalenia mózgu na terenach endemicznych. Brak w wywiadzie informacji o pokłuciu przez kleszcze oraz niespecyficzne objawy mogą utrudniać rozpoznanie (9,20). Występowanie małych epidemii wśród osób spożywających produkty mleczne pochodzące z tego samego źródła może nasuwać diagnozę (13). Istotne jest dokładne zebranie wywiadu ze szczególnym uwzględnieniem nawyków żywieniowych pacjenta. Na obszarach endemicznych KZM jest istotnym problemem klinicznym i może prowadzić do trwałych powikłań (20). W opisanych wyżej przypadkach przebieg infekcji KZM był łagodny co było związane z młodym wiekiem, prawidłowym

described patients had meningeal signs (3). The results of additional laboratory tests in TBE are non-specific (3,20). In the first phase of the disease, 10-20% of patients have neutropenia, thrombocytopenia or elevated liver enzymes, while in the second phase there may be slight leukocytosis (6). Elevated CRP level is found in approximately 80% of patients. Typically, the CSF analysis shows pleocytosis with lymphocyte dominance and increased protein level. However, at the beginning of the neurological phase, there may be a predominance of neutrophils over lymphocytes in the CSF. (6). Three elements are important in determining the diagnosis: medical history, clinical symptoms and serological tests confirming the etiology (3). The clinical criterion is met by any patient with symptoms of CNS inflammation, such as meningitis, encephalitis or myelitis (21). The laboratory criterion requires one of the following: the presence of specific antibodies against the TBEV in the IgM and IgG class in the serum; presence of specific antibodies against the TBEV in the IgM class in CSF; seroconversion or a fourfold increase in specific antibodies against the TBEV in two serum assays; detection of TBEV nucleic acid in the sample. Laboratory tests should be interpreted in reference to the patient's medical history (vaccination status, possibility of infection with other viruses from the *Flaviviridae* family) (22). The epidemiological criterion requires the identification of the potential source of infection (unpasteurized dairy products) (21). With the growing trend of consuming unpasteurized dairy products, there is a possibility of an increase in the incidence of TBE cases acquired via the alimentary tract in endemic areas (23, 24). Advocates of raw dairy consumption postulate that heat-treated milk has a lower nutritional value. However, this belief is incorrect because most of the biological substances in milk are thermostable or only slightly modified by the pasteurization process (25). It should be remembered that the temperature of 65 degrees is not enough to inactivate the TBEV (11). Raw dairy products may also be a source of *Mycobacterium bovis*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Brucella*, *Listeria*, *Shigella*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Yersinia enterocolitica*, and *Coxiella burnetii* infection (9). In an experimental model of TBE infection of goats, cattle and sheep, it was shown that an animal that is viremic can excrete the virus in the milk (11). The viruses in milk remained detectable for 8-19 days by PCR (polymerase chain reaction) (24). The infectious dose of the TBEV in humans via the oral route remains unknown. Cattle, goats, and sheep infected with the TBEV do not develop symptoms of the disease. It has been proven that the TBEV treated with low pH (1.49-1.80), similar to the pH of the gastric acid, remains infectious for about two hours (24). Milk

stanem odżywienia oraz brakiem innych czynników ryzyka ciężkiego przebiegu zakażenia (3). Okres wylegania wirusa KZM przy zakażeniu drogą pokarmową wynosi 3-4 dni i jest krótszy niż w przypadku choroby występującej po pokłuciu przez kleszcza (20). We wszystkich czterech opisywanych przypadkach przebieg choroby był dwufazowy, charakterystyczny dla infekcji europejskim podtypem wirusa KZM (20). Wszyscy pacjenci mieli objawy niespecyficzne, takie jak bóle mięśni i głowy, zmęczenie, gorączka. Chociaż u chorych z reguły stwierdza się dodatnie objawy oponowe w fazie neurologicznej, w opisanych wyżej przypadkach objawy oponowe były nieobecne (3). Wyniki badań dodatkowych dotyczących KZM są niespecyficzne (3,20). W pierwszej fazie choroby u 10-20% chorych stwierdza się neutropenię, trombocytopenię lub podwyższoną aktywność aminotransferaz wątrobowych, zaś w drugiej fazie występuje nieznaczna leukocytoza (6). Podwyższone stężenie CRP stwierdza się u około 80% chorych. Typowo badanie PMR wykazuje pleocytozę z dominacją limfocytów i wzrost stężenia białka. Jednak na początku fazy neuroinfekcji może występować przewaga neutrofilii nad limfocytami w PMR (6). W ustaleniu rozpoznania istotne są trzy elementy: wywiad, objawy kliniczne oraz wyniki badań serologicznych potwierdzających etiologię (3). Kryterium kliniczne spełnia każdy pacjent z objawami zapalenia OUN, to jest zapaleniem opon mózgoworzeniowych, zapaleniem mózgu bądź rdzenia kręgowego (21). Kryterium laboratoryjne wymaga spełnienia jednego z następujących: obecność specyficznych przeciwciał przeciwko wirusowi KZM w klasie IgM i IgG w surowicy; obecność specyficznych przeciwciał przeciwko wirusowi KZM w klasie IgM w PMR; serokonwersja bądź czterokrotny wzrost specyficznych przeciwciał przeciwko wirusowi KZM w dwóch oznaczeniach surowicy; wykrycie kwasu nukleinowego wirusa KZM w próbce. Badania laboratoryjne powinny być interpretowane zgodnie ze statusem pacjenta (historia szczepień, prawdopodobieństwo zakażenia innym wirusem z rodziny *Flaviviridae*) (22). Kryterium epidemiologiczne wymaga ustalenia źródła potencjalnego zakażenia (niepasteryzowane produkty mleczne) (21). Wzrost spożycia niepasteryzowanych produktów mlecznych może przyczyniać się do wzrostu liczby przypadków zakażeń wirusem KZM drogą pokarmową na terenach endemicznych (23,24). Zwolennicy konsumpcji surowego nabiału postulują, iż mleko poddane obróbce termicznej ma niższą wartość odżywczą. Przekonanie to jest jednak błędne, gdyż większość substancji biologicznych zawartych w mleku jest termostabilna bądź jedynie w niewielkim stopniu modyfikowana przez proces pasteryzacji (25). Należy pamiętać, iż temperatura 65 stopni nie wystarczy, aby inaktywować wirusa KZM (11). Surowe pro-

products leave the stomach much earlier, reaching the duodenum even within a few minutes. The virus probably penetrates the M cells of Peyer's patches, then reaches the lymphatic tissue, from where it goes into the bloodstream (24). Therefore, proper processing of dairy products should be emphasized in the endemic areas. It is also necessary to increase the awareness of the general population and farm owners about the risk factors and methods of preventing TBE by conducting informational and educational campaigns. The most effective method of prevention of TBE is vaccination. The effectiveness of vaccines in regularly vaccinated people reaches 99% (3). Milk-borne epidemics can also be prevented by vaccinating animals. It has been proved that in vaccinated animals after experimental infection with TBEV, there were no viruses detected in milk by RT-PCR (reverse transcription PCR) (24). It should be remembered that all cases of TBE are subject to obligatory reporting in Poland (21). Mandatory reporting of positive serological results for TBE by the laboratories to the appropriate authorities in the patient's place of residence aims to establish the source of the epidemic as soon as possible in order to limit the size of the outbreak. Treatment for TBE is only symptomatic (6). It includes the use of analgesics, anti-inflammatory drugs and intracranial pressure reducing agents (20). The serum and CSF IgM and IgG TBE-specific antibodies were detected in all described patients. In herein reported cases, we cannot exclude tick bite as a potential source of infection, because the lack of information about it in the anamnesis does not necessarily exclude this route of infection as a patient may not notice the tick bite (10). However, assuming that the average risk of the disease in a person unvaccinated against TBE, after contact with a tick with an unknown status of infection is about 0.38%, the probability of four concurrent symptomatic infections is infinitesimal (26). Therefore, considering that the patients consumed unpasteurized milk from the same source, alimentary infection is most likely. The limitation of the conducted analysis is the lack of confirmation of the presence of the virus in goat's milk by PCR because of the retrospective character of the study.

CONCLUSIONS

1. It should be noted that TBE can be transmitted through the alimentary route by ingestion of raw milk from infected livestock (especially goats) bred in endemic areas.
2. TBEV infection in animals is asymptomatic, which hinders the identification of infected individuals and the determination of the potential source of infection.

dukty mleczne mogą być również źródłem zakażenia *Mycobacterium bovis*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Brucella*, *Listeria*, *Shigella*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Coxiella burnetii* (9). W modelu doświadczalnym zakażenia wirusem KZM kóz, bydła i owiec, wykazano, że zwierzę będące w okresie wiremii może wydzielać wirusa do mleka (11). Wirus w mleku pozostawał wykrywalny przez 8-19 dni metodą PCR (polymerase chain reaction) (24). Dawka zakaźna wirusa KZM dla ludzi poprzez drogę pokarmową pozostaje nieznana. Zgodnie z aktualnie dostępną wiedzą, bydło, kozy i owce zakażone wirusem KZM nie mają objawów choroby. Udowodniono, że wirus KZM poddany działaniu niskiego pH (1.49-1.80), zbliżonego do pH soku żołądkowego, do około dwóch godzin pozostaje wciąż zakaźny (25). Pokarmy mleczne opuszczają żołądek znacznie wcześniej, docierając do dwunastnicy już nawet w ciągu kilku minut. Tam prawdopodobnie wirus wnika do komórek M kępek Peyera, przedostając się do tkanki limfatycznej, skąd następnie trafia do krwiobiegu (24). W związku z powyższym na terenach endemicznych powinien zostać położony nacisk na właściwą obróbkę produktów mlecznych. Konieczne jest także zwiększenie świadomości populacji ogólnej i właścicieli gospodarstw na temat czynników ryzyka i metod profilaktyki zakażenia wirusem KZM poprzez prowadzenie kampanii informacyjno-edukacyjnych. Najskuteczniejszą metodą zapobiegania zakażeniu są szczepienia przeciw KZM. Skuteczność szczepionek u ludzi regularnie szczepionych sięga 99% (3). Ogniśkom ludzkich epidemii mlecznych można zapobiegać również poprzez szczepienie zwierząt. Udowodniono, iż u zaszczepionych zwierząt po doświadczalnym zakażeniu wirusem KZM, nie wykryto obecności wirusa w mleku metodą RT-PCR (reverse transcription PCR) (24). Należy pamiętać, że zachorowania na KZM podlegają obowiązkowi zgłaszania w Polsce (21). Obowiązkowa zgłaszalność poprzez laboratoria dodatnich wyników serologicznych do odpowiednich organów w miejscu zamieszkania pacjenta, ma na celu jak najszybsze ustalenie źródła epidemii i ograniczenie wielkości ogniska. Leczenie KZM jest wyłącznie objawowe (6). Polega m.in. na stosowaniu leków przeciwbólowych, przeciwzapalnych i zmniejszających ciśnienie wewnątrzczaszkowe (20). U wszystkich opisanych pacjentów wykryto w surowicy oraz PMR przeciwciała IgM i IgG swoiste dla wirusa KZM. W opisanych przypadkach nie możemy wykluczyć pokłucia przez kleszcze jako potencjalnego źródła infekcji, gdyż brak w wywiadzie informacji o pokłuciu nie musi wykluczać tej drogi zakażenia, co wynika z faktu iż pacjenci mogli nie zauważyć pokłucia przez kleszcze (10). Jednak przyjmując iż średnie ryzyko wystąpienia fazy objawowej u osoby niezaszczepionej przeciw KZM,

3. People living in endemic areas should consume milk products after appropriate heat treatment.
4. Diagnosis of TBE should be considered in case of any encephalitis occurring in endemic areas.
5. It is necessary to propagate knowledge through educational campaigns that increase the public awareness of the general population and farm owners about the possibility of infection with the TBEV through the alimentary route.

REFERENCES

1. Kallio-Kokko H, Uzategui N, Vapalahti O, et al. Viral zoonoses in Europe. *FEMS Microbiol Rev* 2005;29(5):1051-77.
2. Stefanoff P, Zieliński A. Meningitis and encephalitis in Poland in 2000. *Przegl Epidemiol* 2002;56(2):265-73.
3. Zajkowska J, Czupryna P. Kleszczowe zapalenie mózgu – epidemiologia, patogeneza, obraz kliniczny, diagnostyka, profilaktyka i leczenie. *Forum Zakażeń* 2013;4(1):43–51.
4. Reports on cases of infectious diseases and poisonings in Poland - 2000-2015. Available http://www.wold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index_p.html
5. Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet* 2008;371(9627):1861-71.
6. Kaiser R. Tick-borne encephalitis. *Infect Dis Clin North Am* 2008;22(3):561-75.
7. Hudopisk N, Korva M, Janet E, et al. Tick-borne encephalitis associated with consumption of raw goat milk, Slovenia, 2012. *Emerg Infect Dis* 2013;19(5):806-8.
8. Holzmann H, Aberle SW, Stiasny K, et al. Tick-borne encephalitis from eating goat cheese in a mountain region of Austria. *Emerg Infect Dis* 2009;15(10):1671-3.
9. Balogh Z, Ferenczi E, Szeles K, et al. Tick-borne encephalitis outbreak in Hungary due to consumption of raw goat milk. *J Virol Methods* 2010;163(2):481-5.
10. Brockmann SO, Oehme R, Buckenmaier T et al. A cluster of two human cases of tick-borne encephalitis (TBE) transmitted by unpasteurised goat milk and cheese in Germany, May 2016. *Euro Surveill* 2018;23(15).
11. Offerdahl DK, Clancy NG, Bloom ME. Stability of a Tick-Borne Flavivirus in Milk. *Front Bioeng Biotechnol* 2016;4:40.
12. Jeżyna C, Węglińska T, Nawrocka E, et al. Epidemia mleczna kleszczowego zapalenia mózgu w województwie olsztyńskim. *Przegl Epidemiol* 1976;30:479-89.
13. Matuszczyk I, Tarnowska H, Żabicka J, et al. The outbreak of an milky epidemic of encephalitis caused by tick-borne encephalitis virus in Kielce Province. *Przegl Epidemiol* 1997;51:381-8.
14. Szenborn L, Kuchar E, Wołkowska-Mączka M, et al. Seizure as a predominant symptom of tick-borne encephalitis in 14-years-old boy – case report. *Forum Zakażeń* 2014;5(3):191–197.
15. Kunze U, and ISW-TBE. Conference report of the 9th meeting of the International Scientific Working Group

po kontakcie z kleszczem o nieznanym statusie zakażenia wirusem KZM wynosi około 0,38%, prawdopodobieństwo wystąpienia czterech jednoczesnych zakażeń objawowych tą drogą jest znikome (26). Dlatego zważywszy na to, że mężczyźni spożywali niepasteuryzowane mleko z tego samego źródła najprawdopodobniej doszło do zakażenia drogą pokarmową. Ograniczeniem przeprowadzonej analizy jest brak potwierdzenia obecności wirusa w mleku kozim badaniem PCR, co wynika z retrospektywnego przygotowania opracowania.

WNIOSKI

1. Należy pamiętać o możliwości zakażenia wirusem KZM na drodze pokarmowej przez spożycie surowego mleka zakażonych zwierząt (w szczególności kóz) hodowanych w rejonach endemicznych.
2. U zwierząt gospodarskich zakażenie wirusem KZM przebiega bezobjawowo, co utrudnia zidentyfikowanie zakażonych osobników i potencjalnego źródła infekcji.
3. Osoby zamieszkałe na terenach endemicznych powinny spożywać produkty mleczne po odpowiedniej obróbce termicznej.
4. Rozpoznanie zakażenia wirusem KZM powinno być rozważone w przypadku każdego zapalenia mózgu na terenach endemicznych.
5. Konieczne jest propagowanie wiedzy pod postacią kampanii ryzyka edukacyjnych zwiększających świadomość społeczną populacji ogólnej i właścicieli gospodarstw na temat możliwości zakażenia wirusem KZM drogą pokarmową.

-
- of Tick Borne Encephalitis (ISW TBE). Tick borne encephalitis: from epidemiology to current vaccination recommendations. *Vaccine* 2007;25, 8350–8351.
16. Velay A, Solis M, Kack-Kack W, et al. A new hot spot for tick-borne encephalitis (TBE): A marked increase of TBE cases in France in 2016. *Ticks Tick Borne Dis* 2018;9(1), 120–125.
 17. Daniel M, Danielová V, Fialová A, et al. Increased Relative Risk of Tick-Borne Encephalitis in Warmer Weather. *Front Cell Infect Microbiol* 2018;8:90.
 18. Kondrusik M, Biedzińska T, Pancewicz S, et al. Tick-borne encephalitis (TBE) cases in Białostocki and Podlaski regions in years 1993-2002. *Przegl Epidemiol*. 2004;58(2):273-80.
 19. Jayarao BM, Donaldson SC, Straley BA, et al. A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in pennsylvania. *J Dairy Sci* 2006;89(7):2451-8.
 20. Bogovic P, Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases* 2015;3(5):430-41.

21. Commission implementing decision (EU) 2018/945 of 22 June 2018 on the communicable diseases and related special health issues to be covered by epidemiological surveillance as well as relevant case definitions. Official Journal of the European Union. L 170, 6.7.2018, p. 45-46.
22. Mansfield KL, Horton DL, Johnson N, et al. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. *J Gen Virol.* 2011;92(Pt 12):2821-9.
23. Oliver SP, Boor KJ, Murphy SC, et al. Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne Pathog Dis* 2009;6(7):793-806.
24. Balogh Z, Egyed L, Ferenczi E, et al. Experimental Infection of Goats with Tick-Borne Encephalitis Virus and the Possibilities to Prevent Virus Transmission by Raw Goat Milk. *Intervirology.* 2012;55(3):194-200.
25. Lejeune JT, Rajala-Schultz PJ. Food safety: unpasteurized milk: a continued public health threat. *Clin Infect Dis.* 2009;48(1):93-100.
26. Flisiak R. Odkleszczowe zapalenie mózgu. W: Cianciara J, Juszczyk J, red. *Choroby zakaźne i pasożytnicze. Tom II.* Wyd 2. Lublin: Czelej; 2012: 628-631

Received: 26.12.2018

Accepted for publication: 19.02.2019

Otrzymano: 26.12.2018 r.

Zaakceptowano do publikacji: 19.02.2019 r.

Address for correspondence

Adres do korespondencji

Prof. dr hab. Joanna Zajkowska

Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji

ul. Żurawia 14 blok E, 15-540 Białystok

e-mail: zajkowsk@umb.edu.pl

tel.: (85) 740 95 14