

Maciej Kondrusik, Emőke Ferenczi, Joanna Zajkowska, Sławomir Pancewicz,
Sambor Grygorczuk, Renata Świerżbińska, Teresa Hermanowska-Szpakowicz*

OBECNOŚĆ PRZECIWCIAŁ REAGUJĄCYCH Z ANTYGENEM WIRUSA ZACHODNIEGO NILU (WNV) WŚRÓD MIESZKAŃCÓW WOJEWÓDZTW PODLASKIEGO I ŚWIĘTOKRZYSKIEGO

Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji, Akademia Medyczna w Białymstoku,
Kierownik Kliniki: Sławomir Pancewicz

*, „Johan Béla” National Center for Epidemiology, Department of Virology,
Budapeszt, Węgry.

Kierownik: Emőke Ferenczi

*Zakażenie ludzi wirusem Zachodniego Nilu na terenie Polski nie
było dotychczas rozpoznane, jednak istnienie takiego zagrożenia jest
brane pod uwagę przez polskich epidemiologów. Badaniom na obecność
przeciwciał reagujących z antygenem wirusa Zachodniego Nilu (WNV)
z wykorzystaniem metody ELISA, a następnie metody IFA poddano 75
osób nie wykazując obecności IgM oraz 93 osoby potwierdzając obecność
IgG u 5 osób.*

*Słowa kluczowe: wirus Zachodniego Nilu (WNV), wirus kleszczowego zapalenia mózgu
(KZM), flawiwirus*

Key words: West Nile virus (WNV), Tick-borne encephalitis virus (TBE), flavivirus

WSTĘP

Wirus Zachodniego Nilu (WNV) jest jednoniciovym wirusem RNA z rodzaju *Flavivirus*, rodziny *Flaviviridae*. Wirusy WNV wykazują duże podobieństwo antygenowe z innymi przedstawicielami flawiwirusów, m.in. wirusami dengi i żółtej gorączki oraz występującym endemicznie w Polsce wirusem kleszczowego zapalenia mózgu (KZM) (1, 2). Może to być przyczyną krzyżowych reakcji immunologicznych i krzyżowej odporności w populacjach ludzi i zwierząt narażonych na kontakt z flawiwirusami (1). Pod względem ekologicznym WNV zaliczany jest do grupy arbowirusów (wirusów przenoszonych przez stawonogi), wśród których wyróżnia się szerokim spektrum przenosicieli i zdolnością do zakażenia kolejnych gospodarzy także bez udziału wektora (1, 3, 4, 5).

CHARAKTERYSTYKA EPIDEMIOLOGICZNA

Pierwotny rezerwuar WNV stanowią ptaki tropikalne i wędrownie; te ostatnie mogą rokrocznie przenosić wirusa z obszarów tropikalnych na tereny o klimacie umiarkowanym, co w sprzyjających warunkach może prowadzić do powstawania nowych ognisk enzootycznych (1, 6). Wektorami WNV są krwio pijne muchówki, głównie komary (*Culicidae*), a także meszki (*Simuliidae*), śleپaki (*Tabanidae*) i inne. WNV został też wyizolowany z kleszczy, ale ich rola w przenoszeniu zakażenia nie została potwierdzona (5). W przenoszeniu zakażeń na ludzi szczególną rolę odgrywają komary z rodzajów *Anopheles* spp., *Culiseta* spp., a zwłaszcza *Culex* spp., często występujące masowo w bezpośredniej bliskości siedzib ludzkich (1, 6). Cykl życiowy wirusa wymaga namnażania przez 12 dni w śliniakach komara, w temperaturze co najmniej 22°C, co ogranicza jego rozprzestrzenianie się w chłodnym klimacie. Na obszarach tropikalnych i subtropikalnych transmisja zachodzi przez cały rok, natomiast w klimacie umiarkowanym jest możliwa latem, w czasie upałów, zwłaszcza na terenach o klimacie stosunkowo ciepłym i kontynentalnym (w Polsce – głównie południowy wschód kraju) (1, 5). Ogniska enzootyczne tworzą się też łatwiej na obszarach podmokłych, co wiąże się z masowym występowaniem komarów (6). Utrzymywanie się zawlezonego zakażenia WNV w populacjach miejscowych dziko żyjących ptaków jest w warunkach naszego klimatu możliwe, a tak powstałe ogniska są praktycznie niemożliwe do eradykacji i mogą stwarzać zagrożenie dla ludzi i wrażliwych gatunków zwierząt (1). W sprzyjających warunkach (obecność odpowiednich wektorów i dostatecznie ciepły klimat) WNV przenoszony przez wędrujące ptaki może się dalej szybko rozprzestrzeniać, jak to obserwowano w latach 1999-2004 w Ameryce Północnej (5).

W warunkach klimatu umiarkowanego wirus namnaża się w cyklu podstawowym (ptak → komar → ptak) w ciągu lata, a pod koniec lata i wczesną jesienią, po osiągnięciu dużej częstości zakażeń wśród ptaków i przy obecności odpowiednich międzygatunkowych wektorów, może dojść do zachorowań wśród ludzi (2). Zachorowania koni obserwuje się zwykle równolegle z wybuchem epidemii wśród ludzi (1, 4). Epidemie powodowane przez WNV w krajach europejskich trwały najczęściej jeden sezon, a w kolejnych latach zachorowań nie obserwowano lub były one nieliczne (5). Wystąpienie epidemii świadczy jednak o trwałej obecności wirusa w ekosystemie.

Większość zakażeń WNV u ludzi ma przebieg bezobjawowy, prawdopodobnie dzięki skutecznej odpowiedzi humoralnej, powodującej szybką eliminację wirusa. Ocenia się, że jawna klinicznie infekcja występuje u 20% zakażonych osób, spośród których około połowa poszukuje pomocy lekarskiej. Do zajęcia ośrodkowego układu nerwowego dochodzi u 1 osoby na 150 zakażonych (2).

Potwierdzenie rozpoznania jest możliwe na podstawie stwierdzenia obecności we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym chorych przeciwciał przeciwko WNV, które pojawiają się we wczesnym okresie zakażenia, a następnie utrzymują się przez wiele miesięcy. Oprócz znaczenia diagnostycznego odgrywają też one prawdopodobnie decydującą rolę w eliminacji wirusa. Istnieją krzyżowe reakcje między WNV a spokrewnionymi flawiwirusami (w Polsce – wirus KZM), ale miano przeciwciał dających reakcje krzyżowe jest zazwyczaj niskie, co umożliwia prawidłowe rozpoznanie (4, 5). Metody serologiczne umożliwiają też wykrywanie czynnego i przebytego zakażenia. Bezpośrednie wykrywanie RNA wirusa we krwi

przy użyciu techniki RT-PCR jest metodą mało czułą, gdyż okres wirerii jest w zakażeniu WNV krótki i kończy się najczęściej przed wystąpieniem pierwszych objawów (4).

Obecność przeciwciał przeciwko WNV w Polsce wykazano w badaniach przeprowadzonych w latach 1995-6 u 2,8% badanych wróbli domowych (*Passer domesticus*) i 12,1% wróbli mazurków (*Passer montanus*) w Łomiankach na skraju Puszczy Kampinoskiej (7). Obecność zakażenia u miejscowych ptaków osiadłych wskazuje na transmisję wirusa w tym rejonie. Na terenach tych nie obserwowano wcześniej masowego padania ptaków, jak to miało miejsce m.in. w USA, co sugeruje występowanie wśród nich pewnej odporności (1). Nie ma doniesień wskazujących na zakażenia WNV u ludzi, należy jednak podkreślić, że swoista diagnostyka w tym kierunku nie była jak dotąd w Polsce stosowana, a obraz kliniczny zakażenia jest dość niecharakterystyczny i może być mylony z innymi wirusowymi zapaleniami opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu, zwłaszcza z KZM. W wypadku wystąpienia zachorowań u ludzi należy się ich jednak spodziewać także poza ogniskami endemicznymi KZM, ze względu na odmienny rezerwuuar i drogę szerzenia WNV. Najbardziej prawdopodobne są zachorowania na terenach o stosunkowo ciepłym klimacie, a więc poza głównymi obszarami endemicznymi KZM w północno-wschodniej Polsce. Natomiast sezonowość zachorowań ze szczytem w miesiącach letnich może być dość podobna jak w KZM i nie stwarzać podstaw do różnicowania tych dwóch infekcji.

MATERIAŁ I METODY

Badaniu w kierunku ewentualnej obecności w surowicy przeciwciał IgM reagujących z antygenem WNV poddano 75 chorych (48 kobiet i 27 mężczyzn)- grupa I, którzy zgłosili się pomiędzy czerwcem i sierpniem 2005 roku z powodu pojawienia się nagłych stanów gorączkowych. Nikt z badanych nie negował możliwości pokłucia przez komary w ostatnim czasie.

Badania na obecność w surowicy przeciwciał IgG reagujących z antygenami WNV przeprowadzono wśród 93 pracowników leśnych podzielonych na dwie grupy - 52 osoby- grupa IIa z województwa świętokrzyskiego oraz 41 osób-grupa IIb z województwa podlaskiego. Osoby te z racji swojej pracy w terenie podawały częste, stwierdzone od wielu lat pokłucia przez komary jak i inne owady, w tym kleszcze. Żadna z osób z grupy II a i II b nie podawała przebiecia kleszczowego zapalenia mózgu, ani występowania, uprzednio, w okresie letnim nagłych stanów gorączkowych. Większość leśników (84 osoby - 90,32%) podawała przebiecie szczepień przeciwko KZM. Żadna z badanych w tych grupach osób nie podawała wyjazdów zagranicznych do Afryki, Ameryki Północnej czy Azji.

Ocenę występowania w surowicy przeciwciał reagujących z antygenami WNV przeprowadzono metodą ELISA, komercyjnie dostępnym zestawem DRG Flavivirus (West Nile) IgM i IgG ELISA EIA firmy DRG Diagnostics (USA). Równocześnie wykonano badania oceniające obecność przeciwciał reagujących z antygenami wirusa kleszczowego zapalenia mózgu (KZM) oraz zapalenia wątroby typu C (HCV) celem oceny występowania zakażeń innymi wirusami grupy *Flavi* i obecności ewentualnych reakcji krzyżowych.

We wszystkich surowicach z uzyskanymi pozytywnymi wynikami metodą ELISA wykonano oznaczenia metodą immunofluorescencji (IFA) pośredniej w Krajowym Referencyjnym Laboratorium dla wirusowych chorób odzwierzęcych- „Johan Béla” National

Center for Epidemiology, Budapeszt, Węgry. We własnych zestawach diagnostycznych wykorzystywanych w tym laboratorium opierano się na antygenach szczepów wirusa WNV wyizolowanych na Węgrzech. Ponadto we wszystkich wykonano również oznaczenia metodą IFA obecności przeciwciał IgG przeciwko wirusowi KZM z wykorzystaniem własnych zestawów opracowanych na bazie szczepów wirusa izolowanego na Węgrzech.

WYNIKI

W badanej grupie I wykazano obecność przeciwciał IgM wykazujących reakcję z antygenami u jednej chorej (1,33 %), hospitalizowanej z powodu gorączki, u której równocześnie wykonane badanie na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi KZM (IgM i IgG) i HCV-IgG dało wynik ujemny. W badanej grupie rozpoznano 5 (6,66%) przypadków KZM, 11 (14,66%) przypadków limfocytarnych zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych o nieustalonej etiologii oraz 23 (30,66%) stany gorączkowe z innych przyczyn.

Ponadto wykazano obecność przeciwciał IgM reagujących z antygenami WNV u pacjentki z wywiadem przebytego zakażenia tym wirusem w 2003 roku w czasie pobytu w USA.

Badanie surowic metodą immunofluorescencji pośredniej na Węgrzech nie potwierdziło obecności przeciwciał IgM oraz IgG u naszej pacjentki. U drugiej z pacjentek stwierdzono graniczne (+-) miano przeciwciał IgM i obecność przeciwciał IgG.

Przy wykorzystaniu metody ELISA w grupie IIa – z województwa kieleckiego wykazano obecność przeciwciał IgG reagujących z antygenami WNV u 15 osób (28,85 %), a w grupie II b – z województwa podlaskiego u 14 osób (34,14%).

Tabela I. Wyniki badań surowic z woj. świętokrzyskiego na obecność przeciwciał anti-HCV, anti-KZM, anti-WNV - grupa IIa

Table I. The serologic tests results of sera from Świętokrzyskie Region detecting anti-HCV, anti-KZM, anti-WNV - group IIa

Nr	Anti-HCV	Anti-WNV IgG ELISA Polska		Anti-WNV IFA ELISA Węgry	Anti-KZM IgG ELISA Polska	Anti-KZM IgG IFA Węgry
		Wynik	indeks			
1	(-)	(+)	1,5	(-)	(-)	(-)
2	(-)	(+)	1,9	(+-)	(+)	(+-)
3	(-)	(+)	1,4	(+-)	(+)	(+)
4	(-)	(+)	1,2	(+-)	(+)	(+-)
5	(-)	(+)	1,3	(+-)	(+)	(+-)
6	(-)	(+)	1,5	(+-)	(-)	(-)
7	(-)	(+)	1,9	(+-)	(+)	(+-)
8	(-)	(+)	1,3	(-)	(+)	(+-)
9	(-)	(+)	4,8	(-)	(+)	(-)
10	(-)	(+)	1,4	(+-)	(+)	(+-)
11	(-)	(+)	1,4	(+-)	(+)	(-)
12	(-)	(+)	1,5	(+-)	(+)	(+-)
13	(-)	(+)	1,3	(-)	(+)	(+-)
14	(-)	(+)	1,6	(-)	(+)	(+-)
15	(-)	(+)	1,6	(+)	(+)	(+-)

Wyniki z laboratorium referencyjnego z Budapesztu pozytywnych surowic z dwóch badanych grup zestawiono w tabelach 1 i 2.

W grupie IIa metodą IFA potwierdzono obecność przeciwciał IgG reagujących z antygenami WNV jedynie w 1(6,66%) surowicy, w 9 (60%) przypadkach wynik był wątpliwy, a w 5 (33,3%) negatywny. Równocześnie oceniając obecność przeciwciał IgG reagujących z antygenami wirusa KZM metodą IFA w 10 (66,6%) przypadkach uzyskano wyniki wątpliwe, a w 2 (13,3%) przypadkach (nr 9, 11) nie wykazano ich obecności pomimo, że metodą ELISA wszystkie surowice wykazywały reakcję. Natomiast w 2 (13,3%) surowicach (nr.1, 6), w których nie stwierdzano obecności IgG anty-KZM metodą ELISA, również w IFA ich nie wykazano (tabela I).

W grupie IIb metodą IFA potwierdzono obecność przeciwciał IgG anty-WNV w 4 (28,57%) przypadkach (nr 3, 4, 5, 14). W 4 (28,57%) przypadkach (nr 6, 8, 11, 12) nie wykazano ich obecności, a wątpliwe wyniki uzyskano w 6 przypadkach (42,86%).

Analiza metodą IFA obecności przeciwciał IgG reagujących z antygenami wirusa KZM potwierdziła ich obecność jedynie w 3 (21,4%) przypadkach (nr 3, 12, 13), w pozostałych surowicach, dodatnich w metodzie ELISA, uzyskano wyniki wątpliwe. Co zaskakuje - w 2 przypadkach (nr 5, 14), gdzie metodą ELISA nie stwierdzano IgG reagujących z antygenami wirusowa KZM, metodą IFA uzyskano wynik dodatni (nr 14) i wątpliwy (nr 5) (tabela II).

Tabela II. Wyniki badań surowic z woj.podlaskiego na obecność przeciwciał anty-HCV, anty-KZM, anty-WNV - grupa IIb

Table II. The serologic tests results of sera from Podlaskie Region detecting anti- HCV, anti-KZM, anti-WNV - group IIb

Nr	Anty-HCV	Anty-WNV IgG ELISA Polska		Anty-WNV IFA ELISA Węgry	Anty-KZM IgG ELISA Polska	Anty-KZM IgG IFA Węgry
		Wynik	indeks			
1	(-)	(+)	1,3	(+)	(+)	(+)
2	(-)	(+)	2,0	(+)	(+)	(+)
3	(-)	(+)	2,6	(+)	(+)	(+)
4	(-)	(+)	2,8	(+)	(+)	(+)
5	(-)	(+)	2,5	(+)	(-)	(+)
6	(-)	(+)	1,4	(-)	(+)	(+)
7	(-)	(+)	1,8	(+)	(+)	(+)
8	(-)	(+)	1,2	(-)	(+)	(+)
9	(-)	(+)	1,8	(+)	(+)	(+)
10	(-)	(+)	2,7	(+)	(+)	(-)
11	(-)	(+)	1,3	(-)	(+)	(+)
12	(-)	(+)	1,6	(-)	(+)	(+)
13	(-)	(+)	2,2	(+)	(+)	(+)
14	(-)	(+)	2,3	(+)	(-)	(+)

DYSKUSJA

W ostatnich latach wirus WNV izolowano od komarów i zakażonych zwierząt (w tym koni), a także obserwowano pojedyncze zachorowania u ludzi, w wielu krajach europej-

skich, m.in. we Włoszech i Francji, a także na terenach graniczących z Polską: w Czechach, Słowacji, Obwodzie Zakarpackim (Ukraina) i na Białorusi (1). We Francji, po stwierdzeniu zakażenia u koni, podjęto badania nad rozpowszechnieniem WNV, które doprowadziły do zidentyfikowania w roku 2003 sześciu przypadków zachorowań wśród ludzi (8). W Czechach po powodzi w roku 1997 opisano 5 przypadków zachorowań z objawami klinicznymi odpowiadającymi WNF i obecnością przeciwciał przeciwko WNV w surowicy; w tym samym okresie WNV został tam wyizolowany z komarów *Culex pipiens* (6). Na Białorusi wyizolowano szczepy WNV z ptaków i komarów *Aedes* spp. i wykazano obecność przeciwciał przeciwko WNV u dzikich ptaków, drobnych ssaków, bydła i koni.

W ostatnim okresie na podstawie badań serologicznych zidentyfikowano tam WNV jako przyczynę gorączki i zapalenia mózgu u 16 pacjentów; badania serologiczne osób zdrowych wykazały obecność przeciwciał przeciwko WNV u 1,7% populacji, a w regionie Brześćcia – nawet u 15,4% (9).

W roku 2003 zespół ekspertów wskazał na ryzyko zawleczenia WNV do Polski i w efekcie powstania trwałego ogniska endemicznego. W związku z tym zalecono m.in. zakupienie testów diagnostycznych i włączenie ich do rutynowej diagnostyki w wypadku zapaleń mózgu i rdzenia oraz innych podejrzanych zachorowań o nieznannej etiologii u ludzi oraz niewyjaśnionych padnięć zwierząt (zwłaszcza ptaków i koni), a także rozpoczęcie regularnych badań i monitorowania występujących w Polsce komarów, łącznie z oceną obecności u nich arbowirusów (1).

Obecność przeciwciał klasy IgG w grupie II stwierdzono zarówno w surowicach badanych z województwa podlaskiego jak i kieleckiego. Zaskakująco więcej wyników pozytywnych twierdzono w surowicach badanych z woj. podlaskiego, pomimo spodziewanego wyższego prawdopodobieństwa obecności wirusa WNV na południu Polski, gdzie warunki klimatyczne są bardziej sprzyjające rozwojowi wirusa i jego rozprzestrzenianiu się w środowisku. Uzyskane wyniki potwierdzają możliwość, dotychczas przypuszczaną, że migrujące do naszego kraju ptaki, rezerwuar wirusa WNV, który w miesiącach letnich nawet w naszym klimacie może być przez miejscowe komary rozprzestrzeniany w środowisku obejmującym również populacje ludzi.

Czeskie badania 497 surowic na obecność przeciwciał IgG przeciwko wirusowi WNV ludzi z terenów, na których doszło do powodzi w okresie letnim w 2002 roku wykazały od 5% dodatnich wyników wśród badanych na terenach, na których zalanie trwało krótko i nie stwierdzono dużej ilości komarów, do ponad 28% na terenach najmocniej zalanych, na których obserwowano znaczny wzrost liczby komarów. Równocześnie zauważono zależność pomiędzy obecnością przeciwciał a wiekiem badanych. Im starsze grupy wiekowe tym większa częstość stwierdzania badanych przeciwciał. W grupie powyżej 50 lat 26,2% wykazywało ich obecność. (10)

Wykazując obecność przeciwciał przeciwko wirusowi WNV należy brać pod uwagę krzyżowe reakcje z przeciwciałami przeciwko innym wirusom *Flavi*- w naszych warunkach głównie wirusem KZM. Obecność takiego zjawiska wykazano szczególnie wśród badań przeprowadzonych w klasie przeciwciał IgG. Oceniono, że wśród chorych szczepionych przeciwko innym wirusom *Flavi*, fałszywie pozytywna reakcja w testach na obecność przeciwciał IgG WNV może wynosić do 35%. (11, 12)

Analiza wyników badań ELISA i IFA surowic z terenu Polski potwierdza obecność reakcji z antygenami WNV u 5 (17,24%) osób spośród 29 wykazujących dodatnie wyniki

w metodzie ELISA. Wśród tych 5 surowic dwie (nr 5,14, tabela II) wykazywały obecności przeciwciał IgG przeciwko wirusowi KZM metodą ELISA. Natomiast w metodzie IFA oceniającej reakcje z antygenami wirusa KZM uzyskano wynik wątpliwy (nr 5) i pozytywny (nr 14). W pozostałych 3 surowicach stwierdzano IgG anty-KZM, ale w metodzie IFA potwierdzono to w jednym przypadku (nr 3 tabela II), w pozostałych dwóch uzyskano wyniki wątpliwe (nr 15-tabela 1, nr 4-tabela 2).

WNIOSKI

1. Wirus Zachodniego Nilu może być brany pod uwagę jako czynnik etiologiczny w diagnostyce stanów gorączkowych i zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych polskich chorych.
2. Potwierdzenie rozpoznania zakażenia WNV nie powinno opierać się jedynie na wykazaniu obecności przeciwciał metodami serologicznymi, ale również na analizie możliwości zakażenia innymi spokrewnionymi flawiwirusami.

M Kondrusik, E Ferenczi, J Zajkowska, S Pancewicz, S Grygorczuk, R Świerżbińska,
T Hermanowska-Szpakowicz*

THE EVALUATION OF SERUM PRESENCE OF ANTIBODIES REACTING WITH WEST NILE FEVER VIRUS (WNV) ANTIGENS AMONG INHABITANTS FROM PODLASKIE AND ŚWIĘTOKRZYSKIE REGION

SUMMARY

Up to now there was no information about WNV infection of humans in Poland. Although specific diagnostic procedure has not been used and uncharacteristic clinical picture of infection might be mislead with other viral infections. 75 patient with acute febrile episodes were diagnosed for serum IgM antibodies reacting with WNV antigens. 93 sera of forestry workers (52 from świętokrzyskie region and 41 from podlaskie region) were tested for IgG antibodies reacting with WNV. All sera were tested using ELISA method, and all positive results were examined by immunofluorescent assay (IFA) based on virus stains isolated in Hungary. The analysis of both methods confirmed presence of IgG antibodies reacting with WNV antigens among 5 (17,24%) of 29 sera showing positive results in ELISA method. It can be presumed that Poland is the country where West Nile virus might be present and transmitted by mosquitos. WNV infection might be considered in diagnosis of fevers and meningitis.

PIŚMIENNICTWO

1. Knap JP. Czy gorączka Zachodniego Nilu (WNV) dotarła do Polski? Stanowisko zespołu ekspertów powołanych przez Głównego Inspektora Sanitarnego. *Przegl Epidemiol* 2003;57:399-404.
2. Petersen LR. West Nile virus: a primer for the clinician. *Ann Intern Med* 2002;137:173-179.
3. Hermanowska-Szpakowicz T, Grygorczuk S, Kondrusik M, i in. Zakażenie wirusem Zachodniego Nilu. *Przegl Epidemiol* 2006;60:93-98.
4. Tyler KL. West Nile Virus infection In the United States. *Arch Neurol* 2004, 61: 1190-1194.
5. Granwehr BP. West Nile virus: where are we now? *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 547-556.

6. Hubalek Z. West Nile virus investigations in South Moravia, Czechland. *Viral Immunol* 2000;13:427-433.
7. Juricova Z. Antibodies to alphavirus, flavivirus, and bunyavirus arboviruses in house sparrows (*Passer domesticus*) and tree sparrows (*P. montanus*) in Poland. *Avian Dis* 1998;42:182-185.
8. Durand JP. [West Nile virus: in France again, in humans and in horses] *Rev Prat* 2004; 54:703-710.
9. Samoilova TI. Virologic and serologic investigations of West Nile virus circulation in Belarus. *Centr Eur J Public Health* 2003; 11: 55-62.
10. Hubalek Z, Zeman P, Halouzka J, i in. Antibodies against mosquito-born viruses In human population of an area of Central Bohemia affected by flood of 2002, *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2004; 53(3):112-20.
11. Malan AK, Stipanovitch PJ, Martins TB, i in. Detection of IgG and IgM to West Nile Virus: Development of an Immunofluorescence Assay. *Am J Clin Path* 2003;119(4):508-515.
12. Hogrefe WR, Moore R, Lape-Nixon M, i in. Performance of Immunoglobulin (IgG) and IgM Enzyme-Linked Immunosorbent Assays Using a West Nile Virus Recombinant Antigen for detection of West Nile Virus – and Other Flavivirus –Specific Antibodies, *J Clin Microbiol* 2004;42(10):4641-8.

Otrzymano: 26.10.2006 r.

Adres autorów:

Dr n med Maciej Kondrusik
Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji
Akademii Medycznej
ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok
e-mail: neuroin@amb.edu.pl