

Małgorzata Sadkowska-Todys¹, Włodzimierz Gut², Anna Baumann¹, Joanna Siennicka², Bogumiła Litwińska², Andrzej Zieliński¹

OCENA PROBLEMU WYSTĘPOWANIA ZAKAŻEŃ LUDZI
HANTAWIRUSAMI NA TERENIE POLSKI, ZE SZCZEGÓLNYM
UWZGLĘDNIENIEM WIRUSA *PUUMALA**

¹Zakład Epidemiologii PZH w Warszawie

Kierownik: Andrzej Zieliński

²Zakład Wirusologii PZH w Warszawie

Kierownik: Bogumiła Litwińska

Prezentowane wyniki badań przedstawiają problem zakażeń hantawirusowych w Polsce. W celu wykazania występowania tych wirusów w kraju przebadano na obecność specyficznych przeciwciał dwie grupy osób – zdrowych i chorych. W grupie osób chorych nie stwierdzono zakażeń wywołanych hantawirusami. W jednej z podgrup osób zdrowych, jaką stanowili zoolodzy, wykazano natomiast, że z 76 osób badanych 15 miało kontakt z hantawirusami. Zoolodzy prowadzący badania na małych gryzoniach w terenie są najbardziej czułym wskaźnikiem występowania hantawirusów w środowisku naturalnym.

Słowa kluczowe: hantawirusy, zoolodzy, grupy ryzyka, Polska
Key words: hantaviruses, mammalogists, risk group, Poland

WSTĘP

Zakażenia hantawirusowe, wywołujące gorączki krwotoczne z zespołem nerkowym są narastającym problemem epidemiologicznym zarówno na świecie, jak i w Europie. Obecnie można wyróżnić trzy podstawowe grupy wirusów należących do rodzaju *Hantavirus*. Pierwsza związana z rodziną myszowatych (*Murinae*), w jej skład wchodzi wirusy: *Hantaan*, *Seaul*, *Dobrava* i *Saaremaa*. Druga związana z rodziną normikowatych (*Arvicolinae*), do której z patogennych dla człowieka należą wirusy *Puumala*, ponadto *Tula* (izolowane także na terenie Polski od gryzoni) oraz sześć innych niepowiązanych dotychczas z zakażeniami u ludzi. Trzecia grupa, związana jest z gryzoniami występującymi na kontynencie

* Przedstawione badania finansowano z funduszy projektu badawczego KBN nr 3PO5D 041 025

amerykańskim i obejmuje wirusy wywołujące choroby o przebiegu klinicznym różnym od wirusów Starego Świata – gorączki krwotoczne z zespołem płucnym (1, 6).

Dotychczas stwierdzono, że z wirusów krążących na terenie Europy patogenne dla człowieka są wirusy – *Puumala*, *Dobrava* i *Saaremaa*. Wszystkie trzy mogą być przyczyną wystąpienia gorączki krwotocznej z zespołem nerkowym (HFRS), przy czym zachorowania wywołane wirusem *Puumala* mają zwykle łagodny przebieg, ze śmiertelnością około 0,1%, natomiast wywoływane wirusem *Dobrava*, związane są z cięższą postacią HFRS (śmiertelność do 12%), i występują przede wszystkim na Bałkanach (3, 7). Zachorowania wywołane wirusem *Saaremaa* mają podobny obraz kliniczny, lecz o lżejszym przebiegu niż te spowodowane wirusem *Dobrava* i występują głównie na terenach wschodniej i północno-wschodniej Europy.

Ścisły związek pomiędzy hantawirusem a określonym gatunkiem gryzonia jest przyczyną zróżnicowania ryzyka zakażeń poszczególnymi hantawirusami. Dotyczy to różnych grup zawodowych np. leśników, rolników, żołnierzy oraz osób zawodowo związanych z odłowem i badaniem gryzoni. Ponadto grupą narażoną, najtrudniejszą do badań, są osoby uprawiające turystykę i inne formy rekreacji np. osoby biwakujące w środowisku, w którym występują zwierzęta będące gospodarzami hantawirusów lub osoby zbierające na tych terenach runo leśne (1, 3, 4).

Pomimo, że w krajach znajdujących się w bliskim sąsiedztwie z Polską stwierdzono u ludzi zakażenia wywołane przez: wirusy *Puumala* i *Saaremaa* - w Niemczech, wirus Tula – w Czechach, wirusy *Puumala* i *Saaremaa* - na Słowacji, wirus *Puumala* – na Łotwie oraz *Puumala* i *Saaremaa* - w Estonii, w Polsce informacja o stopniu zagrożenia zakażeniem wywołanym przez te wirusy jest bardzo ograniczona (5, 4). Dotychczas przeprowadzono tylko jedno badanie mające na celu poszukiwanie zakażeń hantawirusami u ludzi (8). Z uwagi na fakt, że na terenie Polski występują wszystkie gatunki drobnych ssaków, będących gospodarzami europejskich hantawirusów, celem prezentowanej pracy jest ocena stopnia rozpowszechnienia zakażeń hantawirusami u ludzi należących do różnych grup ryzyka.

MATERIAŁ I METODY

Badania obecności przeciwciał dla hantawirusów przeprowadzono w dwóch głównych grupach osób, które podzielono na dwie podgrupy:

Grupa I - osoby z objawami ze strony układu moczowego:

1. pierwszą podgrupę stanowiło 9 osób. Były to osoby, u których w latach 2004-2006 podjęto podejrzenie o zakażenie hantawirusem serotypu *Puumala*. U osób tych wystąpiły kliniczne objawy *nephropatia epidemica* – u wszystkich chorych stwierdzono białkomocz i krwinkomocz, gorączka $> 37^{\circ}\text{C}$ wystąpiła u 6 osób, u żadnej z osób nie stwierdzono wysypki krwotocznej. Ponadto u 3 chorych wykonano badanie w kierunku leptospirozy, - które dało wynik ujemny
2. w skład drugiej podgrupy wchodziło 21 osób hospitalizowanych z powodu ostrej dysfunkcji nerek** wyselekcjonowanych na podstawie następujących cech: ostry początek

** Materiały uzyskane dzięki uprzejmości Profesor Magdaleny Durlik oraz Dr Jolanty Gozdowskiej.

choroby sugerujący infekcję nerek i wykluczenie zakażenia bakteryjnego. W trakcie choroby białkomocz stwierdzano u 16 osób, krwiomocz u 15, u 6 gorączkę powyżej 37°C. Z tego u 14 osób zachorowanie wystąpiło w ciągu ostatnich 12 miesięcy przed badaniem.

Grupa II - osoby zdrowe należące do jednej z grup powyższego ryzyka:

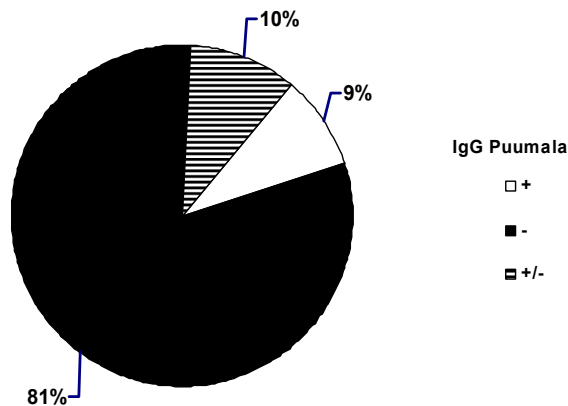
3. pierwszą podgrupę stanowiło 86 osób, teoretycznie narażonych na zakażenie hantawirusami. Byli to pracownicy leśni zatrudnieni na Górnym Śląsku przy zabiegach pielęgnacyjnych obszarów leśnych
4. druga podgrupa złożona z 76 zoologów (w tym dwóch badanych dwukrotnie) pracujących z dzikimi gryzoniami na terenie kraju, stanowiła grupę potencjalnie najbardziej narażoną na zakażenie hantawirusami krążącymi w środowisku.

Badania surowic pobranych od wyżej wymienionych osób prowadzono metodą immunoenzymatyczną ELISA na obecność swoistych dla wirusa *Puumala* testem *Hantavirus Puumala* IgG/IgM-ELISA, firmy PROGEN Biotechnik GMBH. Dla grupy I wykonano oznaczenia przeciwciał zarówno w klasie IgM jak i IgG, natomiast w grupie II jedynie w klasie IgG. Uzyskane wyniki dla badanych surowic interpretowano zgodnie ze wskazaniami podanymi przez producenta tj. dla IgM przyjęto, że wartości indeksu (OD próbki badanej/OD kontroli *cut off*) poniżej 1 odpowiadają wynikowi ujemnemu, powyżej 2 dodatniemu a pomiędzy tymi wartościami wyniki uznaje się za wątpliwe, natomiast dla IgG przy wartości indeksu wyniki badania ≤ 1 uznawano za ujemne, $> 1,5$ za dodatnie, a wartości zawarte pomiędzy 1 a 1,5 uznawano za wynik wątpliwy. Ponadto, na podstawie wcześniej przeprowadzonej walidacji zastosowanego testu, (wyniki w klasie IgG) w grupie II, osoby zdrowe zinterpretowano zgodnie z założeniami przyjętymi dla tego testu zastosowanego w celach badania seroprewalencji. W tym przypadku kryteria wyniku dodatniego spełniały surowice, w których wartości indeksu były wyższe od średniej z wartości uzyskanej w populacji osób serologicznie ujemnych plus 6 odchyłeń standardowych, tj. za wynik dodatni uznano wartości indeksu powyżej 1,38, a ujemne poniżej 0,94 (9).

WYNIKI

W grupie I, czyli u osób z objawami ze strony układu moczowego, u żadnego chorego nie stwierdzono przeciwciał przeciwko serotypowi *Puumala* (ani w klasie IgM, ani w klasie IgG). Nie stwierdzono także różnic pomiędzy średnimi wynikami w poziomie przeciwciał otrzymanymi dla obu badanych podgrup chorych.

W przypadku osób z grupy II, czyli osób zdrowych z dwóch różnych grup ryzyka, nie stwierdzono przeciwciał hantawirusowych wśród całej 86 osobowej grupy pracowników leśnych. Świadczy to o braku kontaktu badanych z hantawirusami przynajmniej w ostatnich kilku latach. Natomiast przeciwciała, wskazujące na zakażenie hantawirusami, stwierdzono u 19% badanych zoologów (ryc. 1). Przyjmując kryteria producenta testu, z 78 próbek surowic pobranych od tych osób, wynik świadczący o zakażeniu wirusem *Puumala* otrzymano u 7 z nich (9%). Ponadto wynik mogący wskazywać na zakażenie w przeszłości, bardzo świeże zakażenie lub zakażenie innym niż *Puumala* serotypem hantawirusa, stwierdzono u 8 badanych (10%). Jeżeli przyjąć kryteria interpretacji wyników opracowane do badań



Ryc. 1. Rozpowszechnienie przeciwciał IgG swoistych dla wirusa *Puumala* wśród badanej grupy 76 zoologów

Fig. 1. Seroprevalence of IgG *Puumala* in group of mammologists (n=76)

epidemiologicznych, określających rozpowszechnienie zakażenia hantawirusami w populacji osób zdrowych, to 2 osoby spośród tych 8 z dużym prawdopodobieństwem także były zakażone wirusem *Puumala*. Wyniki pozostałych osób świadczą natomiast o braku zakażenia hantawirusem. W przypadku dwóch osób badanych dwukrotnie, u jednej z nich po drugim badaniu zaobserwowano serokonwersję wyniku z ujemnego na wynik wątpliwy. W okresie pomiędzy jednym i drugim badaniem (5 miesięcy) osoba ta prowadziła badania w terenie odławiając gryzonie.

DYSKUSJA

Wyniki uzyskane w tych badaniach świadczą o występowaniu hantawirusów na terenie kraju, ale także o raczej niskim stopniu ich rozpowszechnienia. Najbardziej czułym indykátorem występowania w przyrodzie wirusów należących do rodzaju *Hantavirus* wydają się być zoolodzy prowadzący badania na małych ssakach w ich środowisku naturalnym. W Polsce, podobnie zresztą jak i w innych krajach ta grupa zawodowa jest bardzo nieliczna. W latach 2005-2006 możliwe było dotarcie do 76 osób zawodowo związanych z pracami na małych ssakach i w danym czasie przebywających na terenie kraju. Łącznie u 19% tych osób stwierdzono przeciwciała przeciwko hantawirusom, w tym u około 12% dla wirusa *Puumala*. Przegląd serologiczny w grupie fińskich naukowców zajmujących się badaniami małych ssaków wykazał, że około 40% z nich posiada przeciwciała przeciwko wirusowi *Puumala* (10). Wskazuje to na prawie czterokrotnie wyższe narażenie zoologów pracujących w Finlandii w stosunku do pracujących w Polsce. Ponadto na zawyżenie wyniku w populacji zoologów polskich może mieć wpływ fakt, że aż 29% z nich pracowało z gryzoniami także poza granicami kraju, w tym krajach takich jak Finlandia, Norwegia, Słowacja i Belgia. Ocenia się, że w całej populacji fińskiej około 5% osób posiada przeciwciała przeciwko hantawirusom (10). Gdyby przyjąć, że w naszym kraju zależność pomiędzy narażeniem tej

grupy zawodowej i całej populacji powiązane są w podobny sposób, można by szacować, że maksymalny odsetek osób serododatnich w Polsce nie będzie przekraczał 1,5%.

Wśród Szwedów występowanie przeciwciał stwierdzono u 6,8% populacji, wśród rolników było ono wyższe i wynosiło 12,9%. Badania epidemiologiczne na terenach endemicznego występowania zakażeń wirusem Dobrava wykazały obecność przeciwciał np. w Grecji średnio u 4% populacji przy zakresie od 0% do 14% na poszczególnych terenach. Jednocześnie w określonych grupach zawodowych odsetek osób serologicznie dodatnich w poszczególnych krajach był wyższy, np. na Słoweni częstość występowania przeciwciał w ogólnej populacji wynosił 1,7%, zaś wśród drwali sięga powyżej 14% (10, 11, 12). W przypadku drugiej, objętej przedstawionymi powyżej badaniami, podgrupie osób zdrowych, jaką stanowili pracownicy leśni, porównywalnej liczebnie do grupie zoologów, nie stwierdzono śladów zakażeń hantawirusami. Przyczyną tego może być brak ognisk na terenie, na którym pracowały te osoby, odmienny profil występujących w danym regionie hantawirusów (tzn. wirusów, których gospodarzami są np. gryzonie, bardziej związane z łąkami i pastwiskami niż z lasem) oraz/lub zdecydowanie niższe ryzyko zakażenia niż wśród zoologów, co mogło wpłynąć na niższą seroprevalencję wśród tych osób.

Rocznie stwierdza się w Finlandii około 1000 potwierdzonych laboratoryjnie przypadków objawowych zakażeń hantawirusami, od 100 do 300 w Szwecji i około 50 w Norwegii. Ponieważ oszacowano częstość występowania przeciwciał przeciwko wirusowi Puumala na 5% w populacji fińskiej uważa się, że rocznie w tym kraju występuje około 4000 zakażeń ludzi wywołanych tym wirusem. Z tego wynika, że około 75% zakażeń przebiega bezobjawowo, skąpo-objawowo lub atypowo. Podobne kalkulacje poczyniono w Szwecji i oszacowano, że tylko około 10-12,5% przypadków zakażeń jest potwierdzona klinicznie i serologicznie (10). Z terenu Polski, pomimo zaoferowania bezpłatnych badań ponad 200 ośrodkom nefrologicznym, w latach 2004-2006 uzyskano materiał tylko od 9 osób podejrzanych o zakażenie hantawirusem. W celu walidacji metod diagnostycznych wyniki badań próbek surowic otrzymanych od tych osób odniesiono do wyników testów wykonanych u 21 chorych hospitalizowanych z powodu niewydolności nerek. Wcześniejsze prace wykazały, że odsetek wyników dodatnich w grupie dializowanych jest na tyle niski, że grupa ta może stanowić grupę odniesienia dla diagnostyki podejrzeń zakażenia hantawirusami.

Zaprezentowane w niniejszej pracy badania wskazują, że zakażenia hantawirusami, choć występujące na terenie Polski, nie stanowią znaczącego i poważnego problemu dla zdrowia publicznego w kraju. Jednak zachodzące w ostatnich latach zmiany w środowisku naturalnym, ocieplenie klimatu oraz ogólna globalizacja powodują, że jest to zagadnienie, o którym nie należy zapominać i przynajmniej w ograniczonym fragmencie je monitorować np. obejmując rutynowymi badaniami w kierunku zakażeń hantawirusami zoologów pracujących z dzikimi gryzoniami na terenie całej Polski.

M Sadkowska-Todys, W Gut, A Baumann, J Siennicka, B Litwińska, A Zieliński

OCCURRENCE OF HUMAN HANTAVIRUS INFECTIONS IN POLAND

SUMMARY

A spread of hantavirus infections causing hemorrhagic fever with renal syndrome is one of the rising epidemiological problems in the world. There is evidence that this type of viruses exists

in almost all European countries. It is known that in Poland all the species of wild rodents hosting European hantaviruses are present. However, the data on hantavirus are very limited and information on incidence and prevalence of hantavirus infections among humans and animals in our country is lacking. Up to now, only one study in Poland has dealt with hantavirus infections in humans. Therefore the aim of the presented study was to show whether those infections are present in Poland and how prevalent they are.

Two risk groups of hantavirus infection were investigated: group I - people with renal disorders (hospitalized patients with proteinuria and people suspected to hantavirus infection; n=30 people) and group II - healthy people employed at the universities, scientific institutions who due to their profession have contact with small rodents as well as students who captured those rodents when practicing or preparing their master theses (n=76) and forest workers (n=86).

No one from the group of patients with renal disorders was positive for hantavirus *Puumala* IgG. Moreover, none of the forest workers had evidence of hantavirus infection. The hantavirus IgG were found only in the group of mammalogists - 19% persons were positive. Mammalogists are an occupational subpopulation who remain in direct contact with host and/or with host excretions (virus is present in urine, feces, saliva of infected animals) and seem to be the most sensitive indicator of hantaviruses presence in environment. These results prove occurrence of hantavirus infections in Poland, however it seems that they are not very prevalent.

PIŚMIENNICTWO

1. Clement J, Mc Kenna P. i in. 1998. Hantaviruses, W Zoonoses. Red. S R Palmer, Lord Soulsby and D I H Simpson Oxford University Press. 332
2. Kahn AS i in. 1996. Hantavirus pulmonary syndrome: the first 100 US cases. *J Inf Dis.* 1996; 173: 1297-1303.
3. Lee H W. Epidemiology and Epizootology: Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome. Red. H W Lee, C Calisher, C Schmaljohn. Seoul: WHO; 1998:40-48.
4. Niklasson B., Lundkvist A. HFRS in Europe. Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome. Red. H. W. Lee C. Calisher, C Schmaljohn. Seoul: WHO;1998: 58-59.
5. Plyusnin A, Marzunov S.P. Virus evolution and genetic diversity of hantavirus and their rodent hosts. *Hantavirus.* Red. Schmaljohn i Nichol S T Springer: 2001:47-75
6. Song J W, Baek L J, Song K J, i in. Characterization of Tula Virus from Common Voles (*Microtus Arvalis*) in Poland: Evidence for Geographic-Specific Phylogenetic Clustering. *Virus Genes* 2004;29: 239-247.
7. Linderholm M, Elgh F. Clinical characteristics of hantavirus infection on the Eurasian continent. *Hantavirus.* Red. Schmaljohn i Nichol S.T. Springer;2001:134-151.
8. Panasiak W, Wleklík M, Oraczewska A, Łuczak M. Serological studies of haemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Poland. Preliminary report. *Acta Microbiol Pol* 1989; 38(1): 63-7.
9. Gut W, Siennicka J, Sadkowska-Todys M, Baumann A, Litwińska B. Występowanie przeciwciał klasy IgG swoistych dla hantawirusów w populacji pracowników leśnych i zoologów. *Przeegl Epidemiol* 2007; 61(3): 483-488
10. Vapalahti O, Mustonen J, Lundkvist Å, Henttonen H, Plyusnin A, Vaheri A. Hantavirus infections in Europe. *Lancet Infect Dis* 2003;3:653-61.
11. Antonjadis A, LeDuc J, and Danjel-Alexjou S. Clinical and epidemiological aspects of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Greece. *Eur J Epidemiol* 1987;3:295-301.

12. Diglisic G, S Y. Xiao, A Gligic, M Obradovic, R Stojanovic, D Velimirovic, V Lukac, C A Rossi, and J W LeDuc. Isolation of a Puumala-like virus from *Mus musculus* captured in Yugoslavia and its association with severe hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis* 1994; 69:204-207.

Otrzymano: 11.07.2007 r.

Adres Autorów:

Dr Małgorzata Sadkowska-Todys
Zakład Epidemiologii PZH
ul.Chocimska 24,00-791 Warszawa