

Agata Makówka¹, Magdalena Rosińska², Włodzimierz Gut¹, Bogumiła Litwińska¹.

OZNACZANIE OBECNOŚCI PRZECIWCIAŁ PRZECIWKO WIRUSOWI ODREY U OSÓB, KTÓRE W LATACH 2006-2009 STANOWIŁY DOMINUJĄCĄ GRUPĘ CHORYCH NA ODREY W POLSCE

¹Zakład Wirusologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny

²Zakład Epidemiologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny

STRESZCZENIE

WSTĘP. Pomimo wysokiego odsetka osób zaszczepionych przeciwko odrze, w Polsce występują sporadyczne ogniska zachorowań na odrę. W latach 2006-2009 odnotowano nieznaczny wzrost liczby zachorowań, a najliczniejszą grupę chorych stanowiły osoby, urodzone w latach 1976-1989.

CEL. Ocena stanu uodpornienia przeciwko odrze osób w tej grupie wieku .

MATERIAŁ I METODY. Do badania wyselekcjonowano próbki surowicy z banku surowic populacji ogólnej 5 województw w Polsce, zebrane od pacjentów hospitalizowanych ze wskazań ostrych w latach 2010-2011. W każdej surowicy oznaczono poziom przeciwciał przeciwko odrze testem ELISA (Genzyme Virotech). Poziom przeciwciał porównywano stosując modele normalnej regresji liniowej dla logarytmu poziomu przeciwciał.

WYNIKI. Zbadano próbki surowicy 483 osób, w tym 111 kobiet i 372 mężczyzn. We wszystkich próbkach badanych poziom przeciwciał był powyżej 0,5 IU/ml. Poziom przeciwciał był istotnie statystycznie związany z odsetkiem osób zaszczepionych w danym roczniku w województwie.

WNIOSKI. Uzyskane wyniki wskazują na dobre uodpornienie populacji. Stwierdzone pomiędzy wylosowanymi województwami różnice wskazywały na związek z odsetkiem osób zaszczepionych w tych województwach oraz z obserwowanymi w ostatnim okresie różnicami pomiędzy tymi województwami w zapadalności na odrę.

Słowa kluczowe: *odra, poziom przeciwciał, populacja polska*

WSTĘP

Odra jest chorobą zakaźną, w przebiegu której obserwuje się m. in. wysoką temperaturę oraz plamisto-grudkową wysypkę. Odrze towarzyszą często powikłania takie jak zapalenie ucha środkowego, niezżyt żołądkowo-jelitowy, zapalenie płuc. Szczególnie ciężkie są powikłania neurologiczne, do których należy podostre stwardniejące zapalenie mózgu (SSPE - subacute sclerosing panencephalitis), występujące wiele lat po zakażeniu wirusem odrzy.

Przed wprowadzeniem w 1974 roku szczepień przeciw odrze w Polsce rejestrowano około 200 tys. zachorowań na odrę rocznie. Wprowadzenie w 1991 roku do kalendarza szczepień zalecenia stosowania drugiej dawki szczepionki zwiększyło odsetek osób uodpornionych, co pozwoliło ustabilizować sytuację epidemiologiczną odrzy. Efektem był szybki spadek zapadalności z 300-400 na 100 tys. w latach przed wprowadzeniem szczepień do

0,3 na 100 tys. w 2001 roku. Ponadto, okresy oddziałujące epidemie wyrównawcze zaczęły się wydłużać: z 2-3 lat przed wprowadzeniem szczepień do 5-7 lat po wprowadzeniu szczepień przeciwko odrze. Sytuacja epidemiologiczna w Polsce zaczęła się zbliżać do kryteriów wymaganych dla kraju bliskiego eliminacji odrzy. Pomimo tych sukcesów nadal zdarzają się pojedyncze ogniska odrzy, obejmujące coraz mniejsze liczby przypadków, o lokalnym zasięgu. Jednocześnie występują coraz dłuższe okresy między okresowym wzrostem zachorowań. W ostatnich latach „duże” epidemie miały miejsce w 1990 i 1998 roku (odpowiednio 56 471 i 2 419 przypadków zachorowań) (1). W 2002 roku zarejestrowano zaledwie 34 zachorowania na odrę. W ostatnich latach w Polsce odnotowano nieznaczny wzrost liczby zachorowań na odrę: w 2006 r. zarejestrowano 120 przypadków, w 2007 r. - 37, w 2008 r. - 97 przypadków, w 2009 r. - 115 przypadków (2, 3, 4, 5). Zachorowania te dotyczyły głównie (38 %) osób w wieku 20-30 lat.

Program eliminacji odry na świecie jest realizowany przez WHO od wielu lat. Jednym z kryteriów tego programu jest osiągnięcie wysokiego odsetka zaszczepionych osób w danej populacji w celu uzyskania odporności zbiorowiskowej. Wraz ze wzrostem liczby osób uodpornionych, zmniejsza się ryzyko zachorowania na daną chorobę. WHO zaleca, aby odsetek dzieci zaszczepionych jedną lub dwiema dawkami przeciwko odrze wynosił co najmniej 95% w każdym kraju oraz nie mniej niż 90% w danej jednostce terytorialnej (6). W sytuacji osiągniętej odporności zbiorowiskowej większość osób w populacji jest odporna na zachorowanie. W związku z tym możliwe jest przerwanie transmisji wirusa odry oraz wyeliminowanie choroby (7). Innym warunkiem osiągnięcia eliminacji odry jest ciągła ocena odsetka osób wrażliwych na zakażenie w określonej populacji, co umożliwi oszacowanie ryzyka wystąpienia choroby. W sytuacji zwiększonej wrażliwości na zakażenia wirusem odry w danych grupach zamieszkujących określony obszar kraju, ważne jest przeprowadzenie szczepień uzupełniających (8). Wykonanie przeglądu serologicznego umożliwia ocenę skuteczności kampanii szczepień, a także oszacowanie stopnia wrażliwości populacji (9).

Ocena wrażliwości populacji Polski na zachorowanie na odrę była uzupełnieniem badań molekularnych, dotyczących genotypowania i ustalenia stopnia pokrewieństwa pomiędzy dzikimi szczepami wirusa odry, krążących w Polsce w latach 2006-2009 (projekt badawczy: NN 404 11 39 39).

MATERIAŁ I METODY

Próbki surowic. Materiał do badań stanowiły 483 surowice pobrane od osób zdrowych, które w latach 2006-2009 były w wieku od 20 do 30 lat. Były to roczniki od 1976 do 1989. Próbki otrzymano z banku surowic, utworzonego w ramach projektu badawczego „Rozpowszechnienie występowania zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C z analizą użyteczności badań przesiewowych” (numer projektu: NN 404 19 16 36). W latach 2010–2011 zebrano próbki surowic od osób hospitalizowanych w oddziałach szpitalnych: traumatologiczno – ortopedycznych i chirurgii ogólnej w województwach lubelskim, mazowieckim, świętokrzyskim, warmińsko-mazurskim i wielkopolskim oraz oddziale laryngologicznym w województwie mazowieckim. Wyboru jednostek szpitalnych dokonano losowo z „Rejestru Zakładów Opieki Zdrowotnej”.

Udział w badaniach proponowano pacjentom spełniającym następujące kryteria:

a) Osoby pełnoletnie obu płci przyjęte do oddziałów ze wskazań nagłych (wypadki, urazy) oraz hospitalizowani z powodu zapalenia wyrostka robaczkowego,

przepukliny lub zapalenia pęcherzyka żółciowego.
b) Osoby z zachowaną świadomością w dniu badania.
c) Wyrażające pisemną zgodę na udział w badaniu.

Dobór odbył się metodą próbkowania gronowego (ang. *cluster sampling*), z wylosowaniem 21 oddziałów szpitalnych, na terenie 5 wymienionych województw.

Jako materiał referencyjny wykorzystano Drugą Międzynarodową Standardową Surowicę Przeciw Odrze, kod 66/202, uznaną przez National Institute for Biological Standards and Control w Wielkiej Brytanii, o mianie 10 jednostek międzynarodowych (IU) w 1 ml (10).

Oznaczane poziomu przeciwciał w klasie IgG. Poziom przeciwciał dla wirusa odry w klasie IgG w surowicy oznaczono metodą ELISA, wykonywaną zgodnie z instrukcją producenta testów Genzyme Virotech GmbH. Wyniki oznaczeń testu ELISA przedstawiono w jednostkach IU/ml, w oparciu o wynik oznaczeń Drugiej Międzynarodowej Standardowej Surowicy Przeciw Odrze.

Dane na temat zaszczepienia ogólnej populacji Polski. Informacje na temat liczby i odsetka osób z populacji ogólnej Polski, zaszczepionych przeciwko odrze w latach 1976-1985 w województwach wymienionych w tabeli przedstawione są w „Sprawozdaniu ze stanu zaszczepienia dzieci, młodzieży i osób dorosłych” (formularz MZ/E II-8), zebrane przez Ministerstwo Zdrowia. Informacje dotyczące osób urodzonych w latach 1985-1989 zostały opublikowane przez PZH w postaci biuletynów rocznych „Szczepienia ochronne w Polsce” (formularz MZ 54).

Analiza danych epidemiologicznych. Do opisu zmiennych numerycznych posłużono się średnią arytmetyczną, odchyleniem standardowym oraz medianą i przedziałem międzykwartylowym. Do badania związku analizę korelacji rang (Spearman). Porównanie zmiennych numerycznych w dwóch lub więcej grupach obejmowało porównanie średnich arytmetycznych (tylko dla zmiennych o rozkładzie normalnym) testem t-studenta lub testem ANOVA. W przypadku danych, dla których rozkład odbiegał od normalnego, porównano rozkłady za pomocą testu Mann-Whitney’a – Wilcoxon’a i testu Kolmogorova-Smirnova. Do badania wpływu zaszczepienia (na poziomie województwa, wg rocznika urodzenia) na średnie obserwowane poziomy przeciwciał, przeciwko odrze metodę normalnej regresji liniowej z wieloma zmiennymi objaśniającymi. Ze względu na charakter danych do analizy poziomu przeciwciał jako zmienną objaśnianą badano wartości transformowane do postaci logarytmu wyniku. Z uwagi na przyjęcie przez większość autorów wyniku 0,5 IU/ml, jako wartości progowej dla ochrony przed zachorowaniem na odrę, analizowano proporcje osób z niskim mianem ochronnych (0.5 IU/ml – 1IU/ml) oraz bardzo wysokim mianem, 10-krotnie przewyższającym poziomem ochronny (>5IU/ml).

WYNIKI

Charakterystyka wyników badania poziomu przeciwciał przeciwko wirusowi odry w analizowanej populacji. Zbadana populacja obejmowała 483 osoby, w tym 111 kobiet i 372 mężczyzn. Dla wszystkich uzyskano wyniki poziomu przeciwciał przeciwko wirusowi odry. Średnia wartość poziomu przeciwciał wyniosła: 1,77±0,90 IU/ml, mediana: 1,532 IU/ml, odstęp międzykwartylowy: 1,053, zakres: 5,067. Wyniki przedstawiono w tabeli I. Odchylenie standardowe wynoszące powyżej 50% wartości średniej wskazuje na skośny charakter rozkładu i jako nieistotne zostało pominięte w pozostałych elementach tabeli I.

Istotna statystycznie różnica występowała pomiędzy wynikami z województwa lubelskiego i województwa świętokrzyskiego. Wyższe wartości wystąpiły w najmłodszej grupie wieku (roczniki 1988 – 1989).

Określenie wpływu liczby zachorowań na odrę oraz stanu zaszczepienia populacji na poziom przeciwciał przeciwko wirusowi odry. W przyjętym modelu regresji liniowej zmienną objaśnianą był logarytm poziomu przeciwciał, a zmiennymi objaśniającymi: zmienna kategoryczna: województwo zamieszkania, oraz zmienne ciągłe: rok urodzenia, odsetek osób zaszczepionych 1 dawką w danym roczniku na terenie danego województwa, odsetek osób zaszczepionych dwoma dawkami w danym roczniku na terenie danego województwa oraz odsetek osób nie zaszczepionych (Tab. II).

Na podstawie przeprowadzonego badania stwierdzono, że wszystkie analizowane parametry miały wpływ na poziom przeciwciał w populacji. Największy wpływ miał odsetek osób niezaszczepionych, natomiast podobny do siebie wpływ miał odsetek osób zaszczepionych jedną oraz dwiema dawkami szczepionki. Ponadto stwierdzono, że im wcześniejszy jest rok urodzenia osób objętych analizą, tym odpowiedź humoralna jest słabsza. Stwierdzono również różnice w odsetkach osób uodpornionych na odrę w poszczególnych województwach. W województwie lubelskim zaobserwowano najwyższy poziom przeciwciał przeciwdrowych w klasie IgG.

Omawiany model objaśnia ponad 80% zmienności wyników w badaniu serologicznym ($R^2=80,3167\%$).

Ocena poziomu przeciwciał przeciwko wirusowi odry w poszczególnych grupach wiekowych i w wybranych województwach. W badanej grupie u 87 osób (18%) stwierdzono bardzo niski poziom przeciwciał ochronnych (0,5IU/ml – 1 IU/ml) a u 2 osób (1%) wysoki poziom (>5IU/ml). Rozkład według województwa i roku urodzenia pokazują ryciny 1i 2.

Najniższą liczbę osób z bardzo niskim poziomem przeciwciał w klasie IgG stwierdzono w wojewódz-

twie lubelskim, natomiast najwyższą w województwie świętokrzyskim. Ponadto, w województwie lubelskim odnotowano osoby wykazujące najwyższy stopień uodpornienia: od 5 do 6 IU/ml.

Podobną analizę przeprowadzono dzieląc badaną populację według roku urodzenia badanych osób.

Stwierdzono, że najwyższe odsetki osób o wysokim stopniu uodpornienia (co najmniej dwukrotnie przekraczającym poziom ochronny), występują we wczesnych rocznikach (1976 do 1983), jednocześnie w tej grupie wykazano stosunkowo dużo wyników o najniższym poziomie przeciwciał. Stwierdzono, że począwszy od rocznika 1984 najniższy poziom przeciwciał (0,5-1 IU/ml) występuje rzadziej niż u osób wcześniej urodzonych. W rocznikach późniejszych rozkład wyników jest bardziej zrównoważony (Fig. 2).

Poziom przeciwciał w poszczególnych rocznikach wykazuje istotne statystycznie różnice ($P_0 = 0,0041$) pomiędzy poszczególnymi województwami (Fig. 3). Najniższy poziom przeciwciał przeciw wirusowi odry zaobserwowano w województwie warmińsko-mazurskim w populacji osób urodzonych po 1982 roku.

DYSKUSJA

Prezentowana praca przedstawia wyniki przeglądu serologicznego w kierunku odry u osób zdrowych, które w latach 2006-2009 były w wieku od 20 do 30 lat, czyli urodzonych pomiędzy 1976 a 1989 rokiem. Badania dotyczyły pacjentów zamieszkałych w województwach: świętokrzyskim, wielkopolskim, warmińsko-mazurskim, mazowieckim i lubelskim. Wyniki przeglądu serologicznego wskazują, że wysoki odsetek osób w Polsce posiada poziom przeciwciał wystarczający do ochrony przed zachorowaniem na odrę

W Polsce badania poziomów przeciwciał dla wirusa odry wykonywano już kilkakrotnie w latach 90. i dotyczyły one roczników: 1984-1989 oraz 1997. Obserwowano znacznie niższy poziom uodpornienia populacji. Taka rozbieżność najprawdopodobniej wynikała z innej niż w obecnej pracy metody badawczej. W poprzednich latach autorzy stosowali metodę zahamowania hemaglutynacji krwinek małych przez antygen wirusa i za dodatnie uznawano surowice o mianie $\geq 1:8$ (11). O ile przeciwciała wykrywane testem OZHA wiążą się z obzarami wirusa istotnymi dla procesu rozpoznawania receptorów na komórkach, to metody ELISA wykrywają przeciwciała dla wszystkich antygenów wirusa, z dominującymi epitopami nukleoproteiny. Z tego powodu przeciwciała wykrywane w OZHA skorelowane są z neutralizacją wirusa, natomiast przeciwciała wykrywane testem ELISA nie wykazują takiego związku. Są tylko potwierdzeniem kontaktu z antygenami wirusa odry lub wirusów spokrewnionych. Przykładowo, su-

rowice dla których antygenem stymulującym był wirus nosówki, dają wyniki dodatnie z antygenami wirusa odrzy w teście ELISA a ujemne w OZHA. Największy stopień krzyżowych reakcji obserwuje się dla nukleokapsydu wszystkich morbiliwirusów (12).

W prezentowanej pracy, na podstawie wyników badań innych autorów, przyjęto za dodatnie próbki surowic zawierające przeciwciała przeciwko wirusowi odrzy o poziomie powyżej 0,5 IU/ml. Badanie wykonane przez Janaszek i wsp. wykazały, że miano przeciwciał poniżej tej wartości może być niewystarczające do ochrony przeciwko odrze (13). Stężenie przeciwciał równe 0,5 IU/ml określone metodą ELISA odpowiada mianu między 1:8 i 1:16 w teście zahamowania hemaglutynacji (14). Na podstawie przeliczeń wyników badań serologicznych z jednostek producenta testu ELISA na jednostki międzynarodowe (IU/ml) wynika, że w żadnej wśród badanych surowic nie stwierdzono miana przeciwciał swoistych dla wirusa odrzy poniżej wartości 0,5 IU/ml.

W badanej grupie nie było więc osób wrażliwych na zakażenie wirusem odrzy. Taka obserwacja odpowiada aktualnej sytuacji epidemiologicznej, w której obserwuje się stosunkowo nieliczne zachorowania na odrę (zapadalność od 0,44 na 100 tys. w 2007 r. do 2,02 na 100 tys. w 2009 r.).

Niska liczba zachorowań na odrę, jak i niewielki odsetek osób o niskim poziomie przeciwciał mierzonych w jednostkach międzynarodowych (brak mian poniżej 0,5 IU/ml) wskazują, że szczepienia są wysoce skuteczne, a odsetek nieuodpornionych osób stosunkowo niski (poniżej progu wykrywalności, przy liczebnościach badanych osób w opisywanym w tej pracy przeglądzie serologicznym). Mimo to wysoka zaraźliwość wirusa odrzy powoduje, że w przypadku istnienia nawet nielicznych grup osób wrażliwych na zakażenie, odrę może utrzymywać się w Polsce.

Poziom przeciwciał przeciw wirusowi odrzy w badanej grupie wykazywał związek zarówno z odsetkiem niezaszczepionych osób, jak i z poziomem uodpornienia w danym województwie oraz rokiem urodzenia. W starszych rocznikach obserwowano występowanie niższych mian przeciwciał ($P_0 = 0,0005$), podczas gdy wyższy odsetek zaszczepienia wiązał się z wyższym poziomem przeciwciał. Interesujący jest fakt, że odsetek osób niezaszczepionych przeciwko odrze również wpływał dodatnio na poziom przeciwciał w populacji ogólnej. Osoby te, po przebyciu odrzy, posiadają wyższy poziom odpowiedzi humoralnej, niż uzyskiwany w wyniku szczepienia (15).

Analiza odpowiedzi serologicznej w większości województw nie wykazała różnic istotnych statystycznie. Wyjątkiem było województwo lubelskie, w którym występowała najmniejsza liczba osób z niskim poziomem przeciwciał oraz największa liczba osób o najwyższym

poziomie przeciwciał przeciwko wirusowi odrzy. Spośród wszystkich województw, z terenu których zgromadzono surowice wykorzystane do wykonania przeglądu serologicznego, było to jedyne województwo, w którym wystąpiła większa liczba zachorowań na odrę, zwłaszcza w populacji romskiej (16). Może to wskazywać na to, jaką rolę naturalne zakażenia poprzez oddziaływanie na otaczającą populację odgrywają w utrzymaniu wysokiego poziomu przeciwciał (tzw. efekt booster).

W województwie warmińsko-mazurskim, w którym zaobserwowano najniższy poziom przeciwciał przeciw wirusowi odrzy, w latach 2006-2009 nie zaobserwowano zachorowań na odrę.

W przedstawionej pracy wykazano, że wzrostowi wieku badanych osób towarzyszy spadek miana przeciwciał przeciw odrowym. Jest to zgodne z obserwacjami innych autorów, według których poziom przeciwciał w ciągu 15 lat od zaszczepienia może spaść do niewykrywalnego poziomu (15). Zaobserwowano również, że u dzieci, u których po 1-5 latach od zaszczepienia przeciwciała nie są wykrywalne w teście zahamowania hemaglutynacji, nadal obserwuje się występowanie przeciwciał neutralizujących (17). Według niektórych autorów miano przeciwciał przeciwko wirusowi odrzy obniża się średnio o 6,5% rocznie, co sugeruje, że ich okres półtrwania wynosi ok. 12 lat (18). Przypuszcza się, że czas utrzymywania się w organizmie przeciwciał indukowanych szczepieniem zależy od czynników genetycznych i środowiskowych, a także od warunków demograficznych (19).

Zjawisko zanikania przeciwciał nie musi jednak oznaczać braku odporności na odrę, ze względu na funkcjonujące limfocyty B pamięci, produkujące przeciwciała po kolejnym kontakcie z antygenem wirusa (20, 21). Powtórne kontakty z krążącym w środowisku wirusem powodują pobudzenie układu immunologicznego do ponownej odpowiedzi humoralnej i mają miejsce w czasie bezobjawowego zakażenia patogenem lub patogenami spokrewnionymi (20). Należy podkreślić, że decydującą rolę w zachorowaniach na odrę odgrywa odporność komórkowa, a przeciwciała pełnią funkcję dowodu stymulacji antygenowej przez wirusa.

WNIOSKI

Wyniki przeglądu serologicznego wskazują, że wysoki odsetek osób urodzonych w latach 1976-1989 w Polsce posiada poziom przeciwciał wystarczający do ochrony przed zachorowaniem na odrę. Na wysoki poziom odporności mają wpływ zarówno system szczepień, jak i liczba zachorowań na odrę.

Wyniki badań w przedstawionej pracy zostały częściowo sfinansowane z projektu Komitetu Badań Naukowych nr: NN 404 11 39 39.

Podziękowania

Autorzy chcieliby wyrazić podziękowanie Panu profesorowi Kazimierzowi Madalińskiemu za udostępnienie próbek surowic, zgromadzonych w ramach realizacji projektu badawczego „Rozpowszechnienie występowania zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C z analizą użyteczności badań przesiewowych” (numer projektu: NN 404 19 16 36).

Otrzymano: 04.04.2014 r.

Zaakceptowano do publikacji: 15.05.2014 r.

Adres do korespondencji:

Dr Agata Makówka
Zakład Wirusologii NIZP-PZH
ul. Chocimska 24
00-791 Warszawa
email: amakowka@pzh.gov.pl

