

Praca oryginalna

JÓZEF PIOTR KNAP^{1,2}, ANNA NOWAKOWSKA³, JACEK DUTKIEWICZ⁴,
VIOLETTA ZAJĄC⁴, ANGELINA WÓJCIK-FATLA⁴, JOLANTA
CHMIELEWSKA-BADORA⁴, ZDZISŁAW STRUPIENIUK⁵

OBECNOŚĆ PRZECIWCIAŁ ANTY-HANTAWIRUSOWYCH U LEŚNIKÓW
ROZTOCZAŃSKIEGO PARKU NARODOWEGO I NADLEŚNICTWA
PUŁAWY (MAKROREGION LUBELSKI)
DONIESIENIE WSTĘPNE¹

*DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST HANTAVIRUSES IN FORESTRY
WORKERS OF THE ROZTOCZE NATIONAL PARK AND PUŁAWY FOREST
INSPECTORATE (LUBLIN MACROREGION)
PRELIMINARY REPORT*

*ОБНАРУЖЕНИЕ АНТИ-ХАНТАВИРУСОВЫХ АНТИТЕЛ У ЛЕСОВОДОВ
НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА НА РАСТОЧЬЕ И ЛЕСНИЧЕСТВА ПУЛАВЫ
(ЛЮБЛИНСКИЙ МАКРОРЕГИОН)
ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЙ ОТЧЕТ*

*ВІЯВЛЕННЯ АНТИ-ХАНТАВІРУСОВИХ АНТИТЕЛ У ЛІСІВНИКІВ
НАЦІОНАЛЬНОГО ПАРКУ НА РОЗТОЧЧІ І ЛІСНИЦТВА ПУЛАВИ
(ЛЮБЛІНСЬКИЙ МАКРОРЕГІОН)
ПОПЕРЕДНІЙ ЗВІТ*

¹Z Zakładu Higieny i Parazytologii Środowiska
Instytutu Medycyny Wsi im. W. Chodźki w Lublinie
Kierownik: Prof. nadzw. dr hab. med. J. P. K n a p

²Z Głównego Inspektoratu Sanitarnego w Warszawie
Główny Inspektor Sanitarny: dr n. med. A. W o j t y ł a

³Z Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Rzeszowie
Dyrektor: lek. med. J. J ę d r a l

⁴Z Zakładu Biologicznych Szkodliwości Zawodowych
Instytutu Medycyny Wsi w Lublinie
p.o. Kierownika: doc. dr hab. D. K r u s z e w s k a

⁵Z Roztoczańskiego Parku Narodowego
Dyrektor: mgr inż. Z. S t r u p i e n i u k

Po raz pierwszy na terenie województwa lubelskiego, u 4 pracowników leśnictwa, wykryto występowanie swoistych monospecyficznych przeciwciał IgG anty-hantawirusom, świadczących o występowaniu zakażeń ludzi tymi wirusami i krążeniu zarazka w przyrodzie. Wirusy te należą najpewniej do serotypów Puumala i Dobrava.

¹ Praca zrealizowana w ramach Grantu N N 404 204636

SŁOWA KLUCZOWE: Zakażenie Hantawirusowe, Gorączka Krwotoczna z Zespołem Nerkowym (HFRS), leśnicy, województwo lubelskie.

KEY WORDS: *hantavirus infection, haemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), foresters, Lublin Macroregion (Poland).*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *хантавирусная инфекция, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС), лесники, Люблинское воеводство.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: *хантавірусна інфекція, геморрагічна лихоманка з нирковим синдромом (ГЛНС), лісники, Люблінське воєводство.*

Gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym (HFRS), wirusowa zoonoza wywoływana przez kilka serotypów wirusów z rodzaju Hantavirus (wirusy RNA, rodzina Bunyaviridae), a przenoszona przez szereg gatunków drobnych gryzoni, występuje na całym świecie, w tym we wszystkich krajach Europy [2, 9, 10]. W Polsce pierwszy przypadek HFRS, potwierdzony serologicznie, został wykryty przez nasz zespół dopiero w 2004 roku w woj. podkarpackim [11], co zaakceptowała Światowa Organizacja Zdrowia (WHO), uznając występowanie HFRS na terenie naszego kraju [2]. W poprzednich latach, zarówno rozległe badania seroepidemiologiczne, jak i wycinkowe badania serologiczne ostatnich lat nie wykryły chorych na HFRS, natomiast wykazały obecność w nieznacznym odsetku anamnestycznych przeciwciał anty-hantawirusowych w klasie IgG, świadczących o przebyciu – bezobjawowego lub objawowego – zakażenia hantawirusami badanych ludzi [8, 16, 24, 20]. Jedynej, jak dotąd, izolacji Hantawirusa w Polsce dokonał w 2004r. zespół międzynarodowy, izolując z nornika odłowionego w okolicach Łodzi, szczep wirusa serotypu Tuła [22]. W 2007 roku wybuchła w woj. podkarpackim epidemia HFRS (13 zachorowań).

Tę pierwszą rozpoznaną w kraju epidemię HFRS opublikowano wcześniej (11, 12, 15). Okazuje się, że rejon wschodniego Podkarpacia jest pierwszym wykrytym regionem endemii HFRS w kraju. Jeden z 13 przypadków wystąpił w makroregionie Północne Podkarpacie, w miejscowości Dąbrówka na zachodnim krańcu wielkiego kompleksu leśnego (Puszcza Solska, Lasy Janowskie, Roztocze), ciągnącego się południkowo na przestrzeni 150 km, aż do granicy z republiką Ukrainy. Przypadek ten, o bardzo ciężkim przebiegu (wymagał terapii nerkozastępczej), wywołany najpewniej serotypem Dobrava, skłonił nas do przeprowadzenia badań serologicznych i klinicznych pracowników leśnych Roztoczańskiego Parku Narodowego (RPN), położonego w południowo-wschodniej części omawianego kompleksu leśnego, w odległości ok. 60 km na wschód od miejsca wspomnianego przypadku HFRS.

MATERIAŁ I METODY

Badaniu poddano surowice pobrane w 2007 roku od 161 pracowników nadleśnictw w ramach obligatoryjnych i rutynowych badań leśników w kierunku boreliozy z Lyme jako choroby zawodowej. Badania wykonano w trzech rejonach: 1) obszar nadleśnictwa w Puławach (n = 53); 2) obszar nadleśnictwa w Białej Podlaskiej (n = 13) na północy województwa lubelskiego; 3) obszar okolic Zwierzyńca w południowo-wschodniej Lubelszczyźnie (n = 95), w tym

46 leśników Roztoczańskiego Parku Narodowego (RPN) i 49 z nadleśnictwa Zwierzyniec. Przeciwciała swoiste w kierunku HFRS wykryto jedynie na terenie Roztocza (3 przypadki) i w Nadleśnictwie Puławy (1 przypadek). U każdego z czworga osób, u których stwierdzono obecność przeciwciał antyhantawirusowych, przeprowadzono wywiad epidemiologiczny i kliniczny, oraz ogólne badanie internistyczne i biochemiczne. Omówieniu wykrytego zjawiska poświęcona jest ta praca.

Znaczna część Roztocza Środkowego (w tym cały RPN) pokryta jest lasami: rośnie tu bór jodłowy oraz buczyna karpacka. Występują też: jawor, olsza, świerk, modrzew, sosna, grab, lipa i inne - łącznie 31 gatunków drzew. Obfitość nasion tych drzew (zwłaszcza orzeszków bukowych) powoduje bogactwo występowania drobnych gryzoni (*Rodentia*) oraz owadożernych (*Insectivora*) – jak np. ryjówki (*Soricidae*) - będących rezerwuarem i wektorem szeregu patogenów człowieka, w tym i Hantawirusów.

Lasy nadleśnictwa Puławy (Góra Puławska, Żyrzyn), to lasy głównie liściaste i mieszane, w których występuje gęsty poszyt – zbita warstwa krzewów i młodych drzew, rosnących obok runa i drzewostanu. W lasach tych, stwierdzono wysoką aktywność kleszczy *Ixodes ricinus*, jedną z najwyższych w makroregionie lubelskim [26].

METODY BADAŃ SEROLOGICZNYCH

Kolekcję surowic utworzono w roku 2007 w związku z prowadzeniem badań nad występowaniem boreliozy u osób zawodowo narażonych na zakażenie w obszarach leśnych. Do grupy badanych należeli leśnicy oraz pracownicy związani z gospodarką leśną. Krew pobrano od pracowników: w marcu 2007r. (Nadleśnictwo Puławy), w listopadzie 2007 (Nadleśnictwo Biała Podlaska) i w grudniu 2007 – Nadleśnictwa Zwierzyniec oraz Roztoczańskiego Parku Narodowego. Próbkę, do czasu rozpoczęcia badań w kierunku zakażeń hantawirusowych, przechowywano w warunkach zamrożenia w temperaturze -20°C.

Każdą surowicę, prócz badań metodą ELISA w kierunku boreliozy z Lyme (BL) w klasach IgG i IgM, poddano badaniom w kierunku przeciwciał swoistych anty *Hantavirus*. Badania te wykonano używając trzech komercyjnych zestawów diagnostycznych do testów ELISA, immunofluorescencji pośredniej i immunoblot, które omawiamy poniżej.

ELISA

Zastosowany test immunoenzymatyczny (Hantaan IgG/IgM ELISA oraz Puumala IgG/IgM ELISA firmy PROGEN) wykorzystuje antygeny rekombinowane białka nukleokapsydu szczepu CG 76-118 (Hantaan) oraz szczepu CG 18-20 (Puumala).

Wyniki odczytywano wg kryteriów podanych przez producenta testu. Obecność przeciwciał IgG anty *Hantavirus* (wynik pozytywny) dla obu serotypów ustalono na poziomie wyższym niż 1,5; brak przeciwciał IgG anty

Hantavirus (wynik negatywny) dla obu serotypów ustalono na poziomie niższym niż 1,0; wynik w strefie szarej (wątpliwy) ustalono na poziomie pomiędzy 1,0 – 1,5 wartości odczytywanego współczynnika. Obecność przeciwciał IgM anty *Hantavirus* (wynik pozytywny) dla obu serotypów ustalono na poziomie wyższym niż 2,0; brak przeciwciał IgM anty *Hantavirus* (wynik negatywny) dla obu serotypów ustalono na poziomie niższym niż 1,0; wynik w strefie szarej ustalono na poziomie pomiędzy 1,0 – 2,0 wartości odczytywanego współczynnika.

Wyniki formułowano w kategorii jakościowej: przeciwciała klasy IgG / IgM anty *Hantavirus* obecne/nieobecne, oraz w kategorii ilościowej określając stosunek OD (*Optic Density*) próbki do OD zastosowanej surowicy referencyjnej.

TEST IMMUNOFLUORESCENCJI POŚREDNIEJ

Zastosowany test immunofluorescencji pośredniej (*Hantavirus Mosaic IgG/IgM IIFT* firmy EUROIMMUN) wykorzystuje linie komórkowe Vero zainfekowane odpowiednio szczepami Hantaan, Puumala, Seoul, Saaremaa, Dobrava, Sin Nombre.

Wyniki odczytywano wg kryteriów podanych przez producenta testu. Obecność przeciwciał IgG lub IgM anty *Hantavirus* (wynik pozytywny) dla poszczególnych serotypów odpowiadał wystąpieniu fluorescencji, przy czym intensywność fluorescencji oznaczano według skali: „+” fluorescencja o niskiej intensywności; „++” fluorescencja o intensywności znaczącej; „+++” fluorescencja o wysokiej intensywności. Brak przeciwciał anty *Hantavirus* (wynik negatywny) dla poszczególnych serotypów stwierdzano na podstawie braku fluorescencji. Za swoistą reakcję fluorescencji uznawano charakterystyczne świecenie ziarnistości w cytoplazmie zainfekowanych komórek, układające się pojedynczo, grupami lub pasmowo wokół jąder komórkowych od strony cytoplazmy. Fluorescencję w innych elementach komórek np. w jądrze, jąderkach lub w całych komórkach traktowano jako reakcję nieswoistą, bez znaczenia diagnostycznego.

Wyniki formułowano w kategorii jakościowej: przeciwciała klasy IgG/IgM anty *Hantavirus* obecne/nieobecne.

IMMUNOBLLOT

Zastosowany immunoblotting (*Bunyavirus IgG/IgM* firmy MIKROGEN) wykorzystuje antygeny rekombinowane białka N nukleokapsydu odpowiednio szczepu Puumala, Hantaan, Dobrava, Seoul.

Wyniki odczytywano wg kryteriów podanych przez producenta testu. Obecność przeciwciał IgG lub IgM anty *Hantavirus* (wynik pozytywny) dla poszczególnych serotypów w technice *stripe - line assay* odpowiadał porównaniu intensywności paska cut off testu z paskami reakcji immunologicznej pomiędzy przeciwciałami a naniesionymi na membranę antygenami hantawirusowymi. Brak przeciwciał anty *Hantavirus* (wynik negatywny) dla poszczególnych serotypów stwierdzano na podstawie

braku obecności charakterystycznych pasków. Za swoistą reakcję w teście uznawano pojawienie się jednoczesne dwóch odczytów: jednego dla reakcji przeciwciał z komponentem antygenowym złożonym ze wszystkich ww. szczepów oraz drugiego, dla co najmniej jednego pojedynczego szczepu.

Wyniki formułowano w kategorii jakościowej: przeciwciała klasy IgG/IgM anty *Hantavirus* obecne/nieobecne.

WYNIKI

Wyniki badań przedstawiono w Tabelach I i II. Spośród 161 leśników przebadanych serologicznie, wyniki dodatnie w kierunku swoistych przeciwciał anty-hantawirusowych w klasie IgG, stwierdzono jedynie u 3 (1 kobieta, 2 mężczyzn) spośród 95 pracowników leśnych pracujących w RPN i Nadleśnictwie Zwierzyniec, a zamieszkałych w Zwierzyńcu oraz u 1 mężczyzny z 53 pracowników nadleśnictwa Puławy (Tabela II). Nie wykryto swoistych przeciwciał w klasie IgM. Cztery osoby seropozytywne spełniały wszystkie kryteria *Crowcrofta i wsp.* [5], określające ekologiczno-epidemiologiczne czynniki ryzyka zakażenia Hantawirusami w środowisku. Przeciwciała anty-*Borrelia burgdorferi* (łącznie w klasach IgG, IgM lub obydwu), wykryto u 58 ze 161 badanych osób - 36% (Tabela I.). U żadnej z 4 osób nie wystąpiła w przeszłości choroba wymagająca terapii nerkozastępczej.

Tabela I. Zestawienie dodatnich wyników serologicznych w kierunku Hantawirusów i boreliozy z Lyme u leśników.

Table I. Results of the serological examination of forestry workers for the presence of antibodies against hantaviruses and Lyme borreliosis agent

Таблиця I. Сопоставление положительных результатов серологических тестов в направлении хантавирусов и болезни Лайма у лесоводов

Таблиця I. Зіставлення позитивних результатів серологічних тестів у напрямку хантавірусів і хвороби Лайма у лісівників

Nadleśnictwo	Liczba zbadanych	Obecne przeciwciała anty-Hantawirusowe	Obecne przeciwciała anty- <i>B. burgdorferi</i>	Wyniki wątpliwe dla <i>B. burgdorferi</i>
Roztoczański Park Narodowy	46	3 (6,52%)	21 (45,6%)	1 (2,17%)
Zwierzyniec	49	(-)	18 (36,7%)	2 (4,08%)
Puławy	53	1 (1,9%)	13 (24,5%)	3 (5,66%)
Biała Podlaska	13	(-)	(-)	(-)
ŁĄCZNIE	161	4 (2,5%)	52 (32,3%)	6 (3,73%)

Tabela II. Dokumentacja wyników badań w kierunku zakażeń hantawirusowych
Table II. Characteristics of seropositive results showing the presence of anti-Hantavirus antibodies in forestry workers
Таблица II. Документация результатов исследований в направлении хантавирусных инфекций
Таблица II. Документация результатов исследований у напарнику хантавирусной инфекции

L.p.	Nr próbki	Informacja dotycząca oznaczenia przeciwciał anti- <i>Borrelia</i> – wynik	Data pobrania próbki	Inicjaty / rok urodz. lub wiek	Wyniki badań serologicznych anti <i>Hantavirus</i> w zastosowanych metodach				Interpretacja wyników serologicznych	
					przeładowej (ELISA)	(TIF)	weryfikującej	(Immunoblot)		
I. ROZTOCZAŃSKI PARK NARODOWY - 46 osób badanych										
u 3 osób zidentyfikowano obecność przeciwciał klasy IgG anti <i>Hantavirus</i> : u 2 osób z możliwą przynależnością do serogrupy Puumala, u 1 osoby z możliwą przynależnością do serogrupy Dobrava										
1.	1752	anty-IgM = 12,0 anty-IgG = (-)	06.12.2007	W. A. 1974 Mężczyzna	IgM HTN 0,3568 IgM PUU 1,3 IgG HTN 0,9241 IgG PUU 2,6	IgM: HTN (-) SEO (-) DOB (-) SAA (-) PUU (-) SN (-)	IgG: HTN + SEO + DOB ++ SAA + PUU +++ SN ++	IgM: HTN (-) SEO (-) DOB (-) - PUU (-) -	IgG: HTN ++ SEO (-) DOB ++ - PUU +++ -	przeciwciała klasy IgG anti <i>Hantavirus</i> obecne możliwa przynależność do serogrupy Puumala przeciwciała klasy IgM anti <i>Hantavirus</i> nieobecne
2.	1756	anty-IgM = 14,0 anty-IgG = (-)	07.12.2007	B. K. 1971 Mężczyzna	IgM HTN 0,2888 IgM PUU 0,5 IgG HTN 0,5456 IgG PUU 1,46	IgM: nie badano	IgG: HTN + SEO + DOB + SAA + PUU +++ SN ++	IgM: HTN (-) SEO (-) DOB (-) - PUU (-) -	IgG: HTN + SEO (-) DOB + - PUU +++ -	przeciwciała klasy IgG anti <i>Hantavirus</i> obecne możliwa przynależność do serogrupy Puumala przeciwciała klasy IgM anti <i>Hantavirus</i> nieobecne
3.	1779	anty-IgM = (-) anty-IgG = (-)	07.12.2007	Z. M. 1962 Kobieta	IgM HTN 0,3083 IgM PUU 0,6304 IgG HTN 2,29 IgG PUU 0,9407	IgM: nie badano	IgG: HTN ++ SEO ++ DOB ++	IgM: HTN (-) SEO (-) DOB (-)	IgG: HTN +++ SEO ++ DOB +++	przeciwciała klasy IgG anti <i>Hantavirus</i> obecne

													możliwa przynależność do serogrupy Dobrava	możliwa przynależność do serogrupy Dobrava
II. NADLEŚNICTWO ZWIERZYNIĘC - 49 osób badanych - nie zidentyfikowano przeciwciał anty <i>Hantavirus</i>														
III. NADLEŚNICTWO PUŁAWY - 53 osób badanych - u 1 osoby zidentyfikowano obecność przeciwciał klasy IgG anty <i>Hantavirus</i> ; z możliwą przynależnością do serogrupy Dobrava														
4.	409	Anty-IgM=(-) Anty-IgG=(-)	30.03.2007	B. J. 1950 Mężczyzna										
IV. NADLEŚNICTWO BIALA PODLASKA - 13 osób badanych - nie zidentyfikowano przeciwciał anty <i>Hantavirus</i>														
V. WYNIKI SUMARYCZNE – 161 osób badanych - u 4 osób zidentyfikowano przeciwciała klasy IgG anty <i>Hantavirus</i> ; u 2 z możliwą przynależnością do serogrupy Dobrava, u 2 do serogrupy Puumala														

- NADLEŚNICTWO ZWIERZYNIĘC - 49 osób badanych - nie zidentyfikowano przeciwciał anty *Hantavirus*
- NADLEŚNICTWO BIALA PODLASKA - 13 osób badanych - nie zidentyfikowano przeciwciał anty *Hantavirus*
- ROZTOCZAŃSKI PARK NARODOWY - 46 osób badanych - u 3 osób zidentyfikowano obecność przeciwciał klasy IgG anty *Hantavirus*; u 2 osób z możliwą przynależnością do serogrupy Puumala, u 1 osoby do serogrupy Dobrava
- NADLEŚNICTWO PUŁAWY - 53 osób badanych - u 1 osoby zidentyfikowano obecność przeciwciał klasy IgG anty *Hantavirus* - z możliwą przynależnością do serogrupy Dobrava

Objaśnienie użytych skrótów: TIF – test immunofluorescencji pośredniej, HTN - Hantaan, SEO - Seoul, DOB - Dobrava, SAA - Saaremaa, PUU - Puumala, SN - Sin Nombre.

DYSKUSJA

Pierwsze badania ludności Lubelszczyzny w kierunku zakażeń Hantawirusowych (i pierwsze w ogóle badania Hantawirusów w ekosystemie regionu), wykonano, wybierając jako metodę przegląd serologiczny – próbek surowic zgromadzonych przez Instytut Medycyny Wsi w Lublinie.

W przeglądzie serologicznym znalazły się próbki z trzech regionów Lubelszczyzny. Pierwszym, był obszar Nadleśnictwa Zwierzyniec oraz Roztoczańskiego Parku Narodowego, czyli region, który bezpośrednio wielkimi kompleksami leśnymi łączy się z północną częścią Podkarpacia – obszarem, gdzie rozpoznano w 2007 r. przypadek HFRS - zachorowania przebiegającego z ciężkim obrazem klinicznym. Kolejne rejony Lubelszczyzny, z których pochodziły surowice, były obszarami, gdzie występują podobne, duże kompleksy leśne. Podobieństwa socjo-przyrodnicze regionów stają się często podstawą analizy epidemiologicznej i wykazania udziału zakażeń w nowo rozpoznawanych terenach – tak było np. przy identyfikacji hantawirusów w zakażeniach ludności Podkarpacia, gdzie istniały podobieństwa tego regionu do blisko położonych obszarów endemicznych zachorowań na Słowacji [7]. Analizując charakterystyczne cechy rozprzestrzeniania się tej zoonozy na Podkarpaciu, oceniono, że Lubelszczyzna może posiadać podobny potencjał występowania ognisk przyrodniczych zakażeń hantawirusowych na swym obszarze. Badane próbki, cenne z powodu uwarunkowań epidemiologicznych, miały dodatkowo ten walor, że pobrano je w 2007 roku – w okresie zwiększonej zachorowalności na HFRS w Europie, a w Polsce w okresie pierwszej laboratoryjnie potwierdzonej epidemii na Podkarpaciu.

W latach 2008 - 2009 przebadano 161 surowic z Lubelszczyzny, poszukując u badanych obecności swoistych przeciwciał anty *Hantavirus*. Wyniki badań serologicznych uzyskiwano etapowo, wykorzystując trzy metody diagnostyczne o różnym stopniu identyfikacji reaktywności. W pierwszym etapie badań, jako badanie przesiewowe wykorzystano test ELISA do identyfikacji przeciwciał IgG dla serotypu Hantaan i równolegle dla serotypu Puumala. Wyniki pozytywne, powyżej poziomu 1,5 dla IgG (pierwsza kategoria wyników) uzyskano dla 4 próbek, z czego w dalszym toku badań potwierdzono 2. Zwraca uwagę fakt, że otrzymano dość liczną grupę wyników w strefie szarej tzn. w przedziale 1,0-1,5 dla IgG oraz blisko granicy kryterium odczytu dla wyniku negatywnego tzn. poniżej 1,0 dla IgG. Tę drugą kategorię wyników – w ilości 16 nie odrzucono z dalszych badań i poddano je analizie w dwóch testach weryfikujących: immunofluorescencji i immunoblottingu, dla 2 próbek potwierdzając wykrycie swoistych przeciwciał IgG anty *Hantavirus*. W sumie, z przebadanych 161 osób, wyniki dodatnie wskazujące na wykrycie swoistych przeciwciał klasy IgG uzyskano dla 4 osób. Trzy z nich były zatrudnione na terenie Roztoczańskiego Parku Narodowego, a jedna w Nadleśnictwie Puławy.

W przypadku diagnozowania zakażeń hantawirusowych u osób, które zgłaszają objawy chorobowe związane z gorączką krwotoczną z zespołem

nerkowym (HFRS, *Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome*), takie postępowanie diagnostyczne – rozszerzające zakres badań przez włączanie do weryfikacji wyników o wartościach poniżej przyjętego kryterium odczytu – nie ma uzasadnienia, ze względu na szybkie pojawianie się swoistych przeciwciał (IgM – od 3 dnia wystąpienia ostrych objawów chorobowych, IgG – od 7 dnia) i diagnostycznie znamienne przyrost poziomu przeciwciał IgM jak i IgG wraz z kolejnymi dniami choroby.

Natomiast wykonywanie badań w grupie osób bez informacji o występowaniu charakterystycznych objawów HFRS (próbki pochodziły z kolekcji surowic zebranych do badań w kierunku boreliozy), spowodowało rozszerzenie grupy osób poddawanej weryfikacji tak, by uniknąć sytuacji pomijania analizowania surowic od osób, które mogły być w fazie zakażenia tuż przed wytworzeniem odpowiednio wysokiego poziomu przeciwciał IgG (tu włączano badanie przeciwciał w klasie IgM) lub, u których po zakażeniu w przeszłości poziom swoistych przeciwciał mógł spaść do wartości niższych od kryteriów odczytu dla próbek dodatnich (przeciwciała IgM utrzymują się zwykle 3-6 miesięcy, ale też na niższym poziomie do 2-3 lat, przeciwciała IgG utrzymują się kilka lat, i dłużej). Rozszerzenie dla kolejnych 2 osób badania o identyfikację przeciwciał w klasie IgM nie przyniosło powiększenia puli osób dodatnich, ponieważ nie zdiagnozowano przeciwciał w klasie IgM w testach immunofluorescencji pośredniej i immunoblottingu; pomimo iż w teście ELISA uzyskano 4 wyniki wskazujące na odczyty podniesione do granicy wyników pozytywnych, uznano te wyniki za diagnostycznie nieswoiste.

Zastosowanie immunoblottingu do weryfikacji wyników pozytywnych w teście ELISA okazało się najbardziej swoistą metodą potwierdzania identyfikacji przeciwciał anty *Hantavirus*. Równoległe zastosowanie metody immunofluorescencji pośredniej stworzyło możliwość sklasyfikowania próbek – dodatnich w teście ELISA a ujemnych w immunoblocie, jako nieswoiście dodatnich.

Zauważono także, że odczyty absorbancji w zastosowanym teście ELISA są zgodne z ogólną zasadą: obecność swoistych przeciwciał w danej klasie przeciwciał oznacza wzrost poziomu odczytu tak dla próbek badanych w teście Hantaan jak i w teście Puumala, ponieważ obie grupy hantawirusów mimo oddalenia w filogenetycznym pochodzeniu, w testach serologicznych uwidaczniają swoją bliskość antygenową. Każdorazowe wystąpienie innego układu wyników, niż wg zauważonej zasady, zostawało zweryfikowane przez bardziej swoiste testy immunofluorescencji a przede wszystkim immunoblotu, jako reakcje diagnostycznie nieswoiste.

Dodatkowo zastosowany test immunofluorescencji pośredniej dawał ciekawe możliwości interpretacji i wnioskowania o przynależności krążących wirusów do znanych serogrup/serotypów hantawirusów, poprzez analizę wyników dla poszczególnych 6 serotypów tj. Hantaan, Puumala, Seoul, Saaremaa, Dobrava, Sin Nombre.

Kończącą interpretację badań serologicznych oparto na założeniu, że mimo braku badań z rodzimego materiału genetycznego hantawirusów Lubelszczyzny

jak i z Podkarpacia (brak analizy genetycznej wirusa pochodzącego z materiału biologicznego od ich naturalnych przenosicieli (np. gryzoni) bądź z próbek od ludzi we wczesnej fazie zakażenia (RNA wirusa można zidentyfikować do 4 dnia od wystąpienia ostrych objawów chorobowych), można na podstawie przeprowadzonych badań serologicznych wskazać możliwy serotyp hantawirusa jako potencjalnie odpowiedzialnego za zakażenia ludności tych regionów – dla serogrupy: Hantaan/Dobrava/Seoul - wirusa Dobrava a dla serogrupy: Puumala - wirusa Puumala. W sumie u 4 osób, u których wykryto swoiste przeciwciała klasy IgG anty *Hantavirus* - możliwą przynależność do serogrupy Puumala stwierdzono u 2 osób z Roztoczańskiego Parku Narodowego, a przynależność do serogrupy z udziałem wirusa Dobrava stwierdzono u 1 osoby z Roztoczańskiego Parku Narodowego i 1 osoby z Nadleśnictwa Puławy. Potwierdza to nasze wyniki z terenu Rzeszowszczyzny o łącznym występowaniu 2 serotypów: Puumala i Dobrava (12, 15). Obecność tego ostatniego, odpowiedzialnego za ciężkie klinicznie przypadki HFERS ludzi (odnotowane także przez nas na Podkarpaciu), nakazało nam zwrócenie uwagi na możliwość występowania ciężkich postaci HFERS (niewydolność nerek wymagająca terapii nerkozastępczej, skaza krwotoczna, małopłytkowość, żółtaczką) także w makroregionie lubelskim (badania w toku).

Wykrycie swoistych, monospecyficznych przeciwciał anamnesticznych w klasie IgG u trojga leśników RPN pracujących w lasach okolic Zwierzyńca, - wskazuje na przebyte zakażenia (objawowe lub bezobjawowe) hantawirusami. Świadczy zarazem o krążeniu tych wirusów w biotopie lasów Roztoczańskiego Parku Narodowego. Wielkie, mieszane lasy Roztocza Środkowego tworzą wraz – z łączącymi się, od południa i zachodu – Lasami Janowskimi i Puszcą Solską, jeden z największych w Polsce (i Europie) zwartych kompleksów leśnych, o wyjątkowo bogatej florze i faunie. W tak urozmaiconym biotopie występuje krążenie wielu wirusów, bakterii, pasożytów, z których szereg wykazuje patogenność dla ludzi i zwierząt [1, 3, 4, 17, 18, 23, 26]. Większość z nich tworzy trwałe elementy ekosystemu, krążąc pomiędzy różnymi gatunkami zwierząt – a także w sprzyjających warunkach, pomiędzy ludźmi – i tworząc tzw. „ognisko przyrodnicze” (ang. *natural focus*, *natural nidality*). Według uproszczonej, lecz trafnej definicji, jest to „obszar występowania zakażenia w przyrodzie, gdzie zarazek krąży przez długie lata”. Na terenie Roztocza bogata jest również fauna drobnych ssaków: gryzoni z 3 rodzin (myszowate, nornicowate i popielicowate), oraz owadożernych (np. ryjówki) [14]. Wyniki badań nad nimi przedstawił już w roku 1948 profesor Witold Skuratowicz [21], zaś w latach 50-tych XX wieku w powiatach Krasnystaw i Tomaszów Lubelski, przebadana je pod kątem występowania zoonoz, ekspedycja z naszego Instytutu [17]. Badania *Micromammalia* Roztocza są nadal kontynuowane przez zoologów [27, 28]. Są one ważne dla naszego, interdyscyplinarnego zespołu, gdyż – oprócz wdrożonych badań epidemiologiczno-klinicznych, niezbędne jest również wirusologiczne badanie drobnych ssaków, jako niewątpliwego rezerwuaru – i zarazem wektora – wysoce patogennych dla człowieka Hantawirusów. Testy z przeciwciałami monospecyficznymi wskazują,

że najpewniej (rozstrzygający byłby test neutralizacji) leśnicy RPN mieli kontakt z hantawirusami, zarówno Puumala, jak i Dobrava. Bogactwo drobnych gryzoni na terenie RPN (i całego Roztocza), dobrze tłumaczy występowanie tych całkiem odmiennych serotypów, jako przenoszonych przez różne gatunki *Micromammalia*.

Wykrycie pierwszego w Polsce przypadku HFRS przez nasz zespół w roku 2004 (11), a następnie stwierdzenie w latach 2007-2008 ogniska epidemicznego HFRS na Wschodnim Podkarpaciu, nałożonego na niewątpliwy teren endemii (3 zachorowania do 1 września 2009 r.) wykazały, że HFRS jest chorobą realnie występującą – zapewne od setek lat – w Polsce, a jedynie nierozpoznaną z braku możliwości diagnostycznych. Co więcej, ciężkość przebiegu klinicznego choroby na wschodnim Podkarpaciu (zespół wątrobowo-nerkowy, żółtaczka, niewydolność nerek wymagająca powtarzanej terapii nerkozastępczej, skaza krwotoczna), przeczy pochopnym uogólnieniom typu: „zakażenie hantawirusami nie stanowi problemu epidemiologicznego w Polsce, nawet w populacji podwyższonego ryzyka. Rzadkie występowanie przeciwciał (..) wskazuje jednak na możliwość zakażeń o bezobjawowym przebiegu” [24]. Wyszuto je na podstawie badań w roku 2008 144 leśników z województwa opolskiego, spośród których swoiste przeciwciała monospecyficzne wykryto u 8: anty – HNTV u 4, anty-PUUV u 2 i anty-DOBV u 2 [24]. *Sadkowska-Todys i wsp.* nie wykryli przeciwciał anty *Hantavirus* u żadnego spośród 86 leśników Górnego Śląska, obecność przeciwciał IgG stwierdzono natomiast u 9 z 78 (11%) zoologów badających w terenie drobne gryzonie [20]. Także *Grygorczuk i wsp.* wykryli przeciwciała anty-Hantawirusom w klasie IgG u 6 z 69 (8,7%) leśników na Białostocczyźnie [8]. W 3 przypadkach były to przeciwciała anty-PUUV, w 2 anty-HNTV, zaś w jednym przypadku, leśnika kontrolującego cały teren Podlasia, przeciwciała monospecyficzne wystąpiły przeciw obu serotypom [8]. W świetle badań naszego zespołu na Rzeszowszczyźnie, w cytowanych pracach odsetek przeciwciał w klasie IgG jest znacznie niższy, ponadto w żadnej z nich nie wykryto ostrego przypadku choroby, potwierdzonego obecnością przeciwciał swoistych anty-IgM. W latach 2004-2010 (I-IV) wykryliśmy w kraju łącznie 27 przypadków ostrego objawowego HFRS, potwierdzonego serologicznie. Znaczna większość, bo 25 chorych, dotyczyła Pogórza Karpackiego, Beskidu Niskiego i Bieszczad.

Przeprowadzone pod koniec XX wieku badania IMW wykazały u pracowników RPN obecność przeciwciał przeciw *Borrelia burgdorferi* i kleszczowemu zapaleniu mózgu (KZM), dokumentując obecność zakażonych tymi drobnoustrojami kleszczy [1, 18]. Nasze niedawne badania wykazały bezpośrednio obecność szeregu patogenów człowieka i zwierząt w kleszczach odłowionych na terenie RPN (*B. burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti* i *Bartonella* spp.) [4]. Spośród 606 kleszczy *Ixodes ricinus*, odsetek zakażonych (wykrytych metodą PCR) wynosił odpowiednio: dla *B. burgdorferi* sensu lato – 11,6%, dla *A. phagocytophilum* – 6,1%, dla *B. microti* – 0,5% i dla *Bartonella* spp. – 2,2%. Ponadto u 6,5% kleszczy występowała koinfekcja *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum*. Obecność

w przedstawionym materiale wysokiego odsetka przeciwciał anty-*B. burgdorferi* u leśników związanych od lat pracą i zamieszkaniem z danym terenem, jest pośrednim dowodem na wysoką aktywność kleszczy, co zresztą bezpośrednio wykazały na tym terenie badania [26]. Łączne wyniki tych badań uprawniają do hipotezy Dutkiewicza o transmisji (wektorowaniu) zakażeń hantawirusowych także poprzez kleszcze, a nie jedynie – drogą wziewną – przez pył środowiska zakażonego wirusami Hanta pochodzącymi z odchodów gryzoni – nosiciele tych wirusów. Dlatego zespół Instytutu podjął we wrześniu 2009r. odłów kleszczy z terenu RPN dla poszukiwania w nich sekwencji RNA wirusów. Dodatkowym czynnikiem, sprzyjającym rozsiewowi wirusów drogą powietrzną, są wiatry, bardziej nasilone na terenie wyżynnego garbu Roztocza, wypiętrzonego w liczbach bezwzględnych na 100 - 150 metrów w stosunku do otaczających go mezoregionów.

Przedstawione wyniki badań to ciekawy materiał do wstępnej analizy na temat występowania zakażeń hantawirusowych na Lubelszczyźnie: rodzaju ich serogrup (determinujących w głównej mierze ciężkość przebiegu klinicznego HFRS u ludzi), filogenetycznego zróżnicowania molekularnego tych wirusów, rodzaju głównych przenosicieli wśród ssaków, możliwości współdziałania kleszczy w transmisji wirusów, a także wpływów warunków fizjograficznych na tworzenie ognisk przyrodniczych hiperendemii zakażenia hantawirusowego. Odpowiedzi na te pasjonujące pytania mogą przynieść dalsze badania – na szerszym materiale i z zastosowaniem technik genetyki molekularnej. Należy jednak docenić już dokonane wdrożenie do rutynowej diagnostyki badań serologicznych w kierunku hantawirusów u ludzi na terenie województwa lubelskiego, umożliwiających diagnostykę przypadków HFRS niewątpliwie występujących, lecz dotąd nierozpoznanych. Badania te dokonanie wstępnej oceny seroepidemiologicznej występowania tego zakażenia na Lubelszczyźnie.

Już po zakończeniu tej części pracy, swoiste przeciwciała anty hantawirusowe wykryto u leśników 4 kolejnych nadleśnictw Lubelszczyzny, w tym nadleśnictwa Józefów na Roztoczu Środkowym, bezpośrednio na południe od RPN.

WNIOSKI

1. Stwierdzenie – po raz pierwszy na terenie makroregionu lubelskiego - obecności swoistych przeciwciał anamnestycznych (klasa IgG) anty *Hantavirus* (serotypy Puumala i Dobrava) w surowicy trojga spośród 46 leśników Roztoczańskiego Parku Narodowego (6,52%) u jednego z 53 leśników z okolic Puław, oznacza krążenie wirusa w środowiskach tych regionów z wtórnym zakażeniem ludzi z grup narażenia zawodowego. U 58 badanych (36%) wykryto również przeciwciała anty *Borrelia burgdorferi* w klasach IgG i/lub IgM.

2. 4 osoby seropoztywne w klasie IgG, to pracownicy leśni, spełniający wszystkie kryteria narażenia zawodowego i środowiskowego.

3. Wdrożone zostały epidemiologiczne i kliniczne poszukiwania przypadków zachorowań na gorączkę krwotoczną z zespołem nerkowym (HFRS)

u ludzi na badanym obszarze.

4. Niezbędne są interdyscyplinarne badania (wirusologiczne z zastosowaniem metod genetyki molekularnej, serologiczne i teriologiczne) drobnych ssaków, zwłaszcza Roztocza, jako niewątpliwego – lecz całkowicie nam dotąd nieznanego – rezerwuaru, i zarazem wektora, wirusów Hanta - w omawianym ekosystemie. Rozpoczęto również badania kleszczy jako potencjalnego wektora hantawirusów.

5. Planowane są dalsze badania pracowników leśnych różnych obszarów Lubelszczyzny w kierunku przeciwciał anti-hantawirusowych.

J. P. Knap, A. Nowakowska, J. Dutkiewicz, V. Zając, A. Wójcik-Fatla, J. Chmielewska-Badora, Z. Strupieniuł

DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST HANTAVIRUSES IN FORESTRY WORKERS
OF THE ROZTOCZE NATIONAL PARK AND PULAWY FOREST INSPECTORATE
(LUBLIN MACROREGION)
PRELIMINARY REPORT

SUMMARY

Blood serum samples from 161 forestry workers employed at 3 forestry inspectorates and at Roztocze National Park (all in the Lublin Region) were examined by 3 serologic tests (ELISA, indirect immunofluorescence, immunoblotting) for the presence of IgG and IgM antibodies directed against hantaviruses. From among 2 seropositive reactions, only with the antibodies of IgG class, were found in 3 out of 46 examined forestry workers employed at the Roztocze National Park (6.5%) and in 1 out of 53 examined forestry workers employed at the Pulawy forestry inspectorate (1.9%). Out of 4 seropositive results 2 were classified with the presence of antibodies directed against Puumala serotype, while the remaining 2 were classified with the presence of antibodies directed against Dobrava serotype. The cases described in the present work of positive reactions of human sera with hantavirus antigens are the first to be reported from the territory of the Lublin Macroregion. In the examined group of 161 forestry workers, in 58 persons (36%) the presence of specific antibodies directed against *Borrelia burgdorferi* was also found.

Ю. П. Кнап, А. Новаковска, Я. Дуткевич, В. Зайонц, А. Вуйчик-Фатля, И. Хмелевска-Бадора, З. Струпенюк

ОБНАРУЖЕНИЕ АНТИ-ХАНТАВИРУСОВЫХ АНТИТЕЛ У ЛЕСОВОДОВ
НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА НА РАСТОЧЬЕ И ЛЕСНИЧЕСТВА ПУЛАВЫ
(ЛЮБЛИНСКИЙ МАКРОРЕГИОН)
ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЙ ОТЧЕТ

АННОТАЦИЯ

В сыворотке крови от 161 работника лесного хозяйства, работающих в трех лесных районах и национальном парке на Расточье (Люблинское воеводство) были обследованы в трех серологических реакциях (ИФА, непрямой иммунофлюоресценции, иммуноблот) на наличие антител в классах IgG и IgM, направленных против хантавирусов. Непосредственно в классе IgG положительные результаты были выявлены только у троих из 46 исследуемых работников национального парка на Расточье (6,5%) и у одного из 53 обследованных сотрудников лесничества Пулавы (1,9%). Из четырех серопозитивных результатов, два были классифицированы, как наличие антител направленных против серотипа Пуумала, а два других как наличие антител направленных против серотипа

Добрава. В данной работе, в первые на территории Люблинского воеводства, описаны случаи положительной реакции человеческой сыворотки с антигенами хантавирусов. В исследуемой группе 161 работника лесного хозяйства были обнаружены также специфические антитела Анти-*Borrelia burgdorferi* у 58 человек (36%).

Ю. П. Кнап, А. Новаковска, Я. Дуткевич, В. Зайонц, А. Вуйчик-Фатля, І. Хмельевска-Бадора, З. Струпенюк

ВІЯВЛЕННЯ АНТИ-ХАНТАВІРУСОВИХ АНТИТІЛ У ЛІСІВНИКІВ НАЦІОНАЛЬНОГО ПАРКУ НА РОЗТОЧЧІ І ЛІСНИЦТВА ПУЛАВИ (ЛЮБЛІНСЬКИЙ МАКРОРЕГІОН) ПОПЕРЕДНІЙ ЗВІТ

АНОТАЦІЯ

У сироватці крові від 161 працівника лісового господарства, що працюють у трьох лісових районах і національному парку на Розточчі (Люблінське воєводство) були обстежені три серологічні реакції (ІФА, непряма імунофлюоресценція, імуноблот) на наявність антитіл у класах IgG і IgM, спрямованих проти хантавірусів. Безпосередньо в класі IgG позитивні результати були виявлені тільки у трьох з 46 досліджуваних працівників національного парку на Розточчі (6,5%) і в одного з 53 обстежених співробітників лісництва Пулави (1,9%). З чотирьох серопозитивних результатів, два були класифіковані, як наявність антитіл спрямованих проти серотипу Пуумала, а два інших, як наявність антитіл спрямованих проти серотипу Добрава. У даній роботі, в перші на території Люблінського воєводства, описані випадки позитивної реакції людської сироватки з антигенами хантавірусів. У досліджуваній групі 161 працівника лісового господарства були виявлені також специфічні антитіла Анти-*Borrelia burgdorferi* у 58 чоловік (36%).

PIŚMIENNICTWO

1. Bielec D., Patorska-Mach E., Fijałka-Rymar A., Łyczak A., Ahmed Ali Kaid Thabet: Częstość występowania przeciwciał przeciw *Borrelia burgdorferi* w surowicy krwi pracowników Roztoczańskiego Parku Narodowego. *Medycyna Ogólna* 1997, 3 (3), 290-293.

2. Bi Z., Formenty P.B.H., Roth C.E.: Hantavirus infection: a review and global update. *J. Infect. Developing Countries* 2008, 2, (1), 3-23.

3. Cisak E., Chmielewska-Badora J., Zwoliński J., Wójcik-Fatla A., Polak J., Dutkiewicz J.: Risk of tick-borne bacterial diseases among workers of Roztocze National Park (eastern Poland). *Ann. Agric. Environ. Med.* 2005, 12, 127-132.

4. Cisak E., Chmielewska-Badora J., Zwoliński J., Wójcik-Fatla A.: Study on the occurrence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti* and *Bartonella* spp. in ticks from the Roztocze National Park (eastern Poland). *Clinical Microbiology and Infection (CMI)*. 2008, 14, Suppl. 7, Abstract number: P2146, S634-S635.

5. Crocroft N.S., Infuso A., Illef D., Le Guenno B., Desenclos J-C., Van Loock F., Clement J.: Risk factors for human hantavirus infection: Franco-Belgian collaborative study during 1995-6 epidemic. *Brit. Med. J.* 1999, 318, 1737-1738.

6. Dutkiewicz J., Cisak E.: Biologiczne czynniki zagrożenia zawodowego w leśnictwie. *Zdrowie Publ.* 2008, 118 (1), 85-90.

7. Gresikova M. (red.): Hemoragicka horucka s renalnym syndromom. Veda, Bratislava 1988, 1-128.

8. Grygorczuk S., Panewicz S., Zajkowska J., Kondrusik M., Świerzbńska R., Moniuszko A., Pawlak-Zalewska W.: Występowanie przeciwciał przeciwko Hantawirusom wśród pracowników leśnych terenu Polski północno-

- wschodniej. *Przegl. Epid.* 2008, 62 (3), 531-537.
9. Heyman P., Vaheri A., the ENVID members: Situation of Hantavirus infections and haemorrhagic fever with renal syndrome in European countries of December 2006. *Eurosurveillance* 2008, 13 (27-39), 426-432.
10. Knap J.P., Trybusz A.: (Artykuł Redakcyjny). Gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym – zakażenie Hantawirusem występujące w Polsce. *Pol. Merk. Lek.* 2006, 125, 411-417.
11. Knap J.P., Brzostek T., Rączka A., Burzyński W., Litarska U.: Przypadek gorączki krwotocznej z zespołem nerkowym (HFRS). *Pol. Merk. Lek.* 2006, 125, 474-476.
12. Knap J.P., Nowakowska A., Heyman P., Burzyński W., Rączka A., Dutkiewicz J., Lech J., Brzostek T., Kornasiewicz R., Bentkowski W., Litarska U., Witas M., Marecki M., Pitucha G.: Środowiskowe i epidemiologiczne uwarunkowania infekcji hantawirusowej (Gorączki krwotocznej z zespołem nerkowym – HFRS) w województwie podkarpackim – pierwszej w Polsce epidemii 2007-2008 roku – oraz zachorowań endemicznych. *Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego*. 2009, 7 (2), 124-138.
13. Kondracki J.: *Geografia Polski. Mezoregiony fizyczno-geograficzne*. PWN, Warszawa 1994.
14. Kowalski K., Ruprecht A.L.: *Family: Mice – Muridae*. W: Pucek Z. (edit.): *Keys to vertebrate of Poland*. PWN, Warszawa 1981, 206-230.
15. Nowakowska A., Heyman P., Knap J.P., Burzyński W., Witas M.: The first established focus of Hantavirus Infection in Poland, 2007. *Ann. Environ. Agric. Med.* 2009, 16, 79-85.
16. Panasiak W., Wleklik M., Oraczewska A., Łuczak M.: Serological studies of Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome (HFRS) in Poland. Preliminary report. *Acta Microbiologica Polonica* 1989, 38 (1), 63-67.
17. Parnas J., Zwoliński W., Łazuga K., Koślak A., Umiński J., Burdzy K.: O badaniach zoologicznych, mikrobiologicznych i parazytologicznych w czasie ekspedycji organizowanych dla opracowania ognisk naturalnych antropozoonoz. *Wiad. Parazyt.* 1960, 6, 125-140.
18. Patorska-Mach E., Bielec D., Kiciak S., Łuczak A., Fijałka-Rymar A.: Ocena częstości występowania przeciwciał przeciw kleszczowemu zapaleniu mózgu w surowicy pracowników Roztoczańskiego Parku Narodowego. *Medycyna Ogólna* 1998, 4 (1), 69-72.
19. Pucek Z., Jędrzejewski W., Jędrzejewska B., Pucek M.: Rodent population dynamics in primeval deciduous forest (Białowieża national Park) in relation to feather, seed crop and predation. *Acta Theriologica* 1993, 38, 199-232.
20. Sadowska-Todys M., Gut W., Baumann A., Siennicka J., Litwińska B., Zieliński A.: Ocena problemu występowania zakażeń ludzi hantawirusami na terenie Polski, ze szczególnym uwzględnieniem wirusa Puumala. *Przegl. Epid.* 2007, 61 (3), 497-503.
21. Skuratowicz W.: Badania nad fauną drobnych ssaków Zamojszczyzny. *Fragm. Faun. Mus. Zool. Pol.* 1948, 5 (15), 233-292.
22. Song J.W., Baek L.J., Song K.J., Skrok A., Markowski J., Bratosiewicz-Wasik J., Kordek R., Liberski P.P., Janagihara R.: Characterization of Tula virus from common voles (*Microtus arvalis*) in Poland: evidence for geographic-specific phylogenetic clustering. *Virus Genes*. 2004, 29, 239-247.
23. Stojek N.M.: Izolacja *Chromobacterium violaceum* z wody i kleszczy na terenie Lubelszczyzny. *Medycyna Ogólna* 2005, 11 (1), 31-36.
24. Szenborn L., Górecka J., Thalaska T.: Badania występowania przeciwciał przeciwko wirusom gorączek krwotocznych: Hanta, Dobrava, Puumala u pracowników leśnych. *Przegl. Epid.* 2006, 60, supl. 2, 8 (U02).
25. Wereszczyńska A.M., Nowakowski W.K., Nowakowski J.K., Jędrzejewska B.: Is food quality responsible for the cold-season decline in bank vole density? Laboratory experiment with herb and acorn diets. *Folia Zoologica* 2007, 56 (1), 23-32.

26. Wójcik-Fatla A., Szymańska J., Zając V.: Aktywność względna kleszczy *Ixodes ricinus* w lasach makroregionu lubelskiego. *Medycyna Ogólna* 2009,15 (3), 414-420.

27. Ziomek J.: Drobne ssaki (*Micromammalia*) Roztocza. Część I. *Micromammalia* wybranych biotopów Roztocza Środkowego. *Fragm. Faun.* 1998, 41, 93-123.

28. Ziomek J.: Drobne ssaki (*Micromammalia*) Roztocza. Część II. *Micromammalia* Roztocza Zachodniego i Środkowego na podstawie analizy zrzutek sów. *Fragm. Faun.* 1998, 41, 125-137.

Data otrzymania: 28.04.2010 r.

Adres Autorów: Zakład Higieny i Parazytologii Środowiska, Instytut Medycyny Wsi im. W. Chodźki w Lublinie, 20-090 Lublin, ul. Jaczewskiego 2.

INFORMACJA

ZAKŁADU HIGIENY I PARAZYTOLOGII ŚRODOWISKA

INSTYTUTU MEDYCyny WSI w LUBLINIE

Zakład Higieny i Parazytologii Środowiska uprzejmie informuje, że prowadzi:

- odpłatną diagnostykę laboratoryjną (dla indywidualnych pacjentów i zakładów opieki zdrowotnej) w kierunku:

BRUCELOZA:

1. odczyn aglutynacji
2. odczyn koaglutynacji
3. odczyn wiązania dopełniacza
4. odczyn aglutynacji z 2-merkaptotanołem
5. Elisa IgM, IgA, IgG

GORĄCZKA Q:

1. test immunofluorescencji pośredniej IFA (I i II faza)
2. Elisa IgG i IgM w II fazie
3. odczyn wiązania dopełniacza

HANTAVIRUS (HANTAAN I PUUMALA):

1. Elisa IgM i IgG

- odpłatne badania biologiczne (dla potrzeb oczyszczalni ścieków, MPWi-ów, zakładów produkcji zwierzęcej, zakładów drobiarskich oraz producentów i importerów nawozów):

GLEBY

ŚCIEKÓW

OSADÓW ŚCIEKOWYCH

NAWOZÓW ORGANICZNYCH

NAWOZÓW ORGANICZNO-MINERALNYCH

Badania biologiczne obejmują:

- wykrywanie bakterii Salmonella
- badania w kierunku ogólnej i fekalnej grupy Coli
- badania w kierunku bakterii beztlenowych – Clostridium spp.
- wykrywanie jaja pasożytów jelitowych (Ascaris spp., Trichuris spp., Toxocara spp.)

Jednocześnie oświadczamy, że zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18.06.2008 (Dz. U. nr 119 poz. 765), w sprawie wykonywania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu Zakład Higieny i Parazytologii Środowiska IMW w Lublinie jest upoważniony do wydawania opinii w zakresie oddziaływania nawozów organicznych i organiczno-mineralnych na zdrowie ludzi.