

Etiopatogeneza kleszczowego zapalenia mózgu (KZM)

Etiopathogenesis of tick-borne encephalitis (TBE)

Aleksandra Drelich, Piotr Kruszyński, Tomasz J. Wąsik

STRESZCZENIE

Wirus kleszczowego zapalenia mózgu (*Tick-borne encephalitis virus* – TBEV) stanowi czynnik etiologiczny groźnego sezonowego schorzenia ośrodkowego układu nerwowego przenoszonego przez kleszcze, zwanego kleszczowym zapaleniem mózgu (KZM). W obrębie TBEV wyróżnia się trzy podtypy, a zasięg geograficzny każdego z nich jest ściśle związany z gatunkiem kleszcza (najczęściej *Ixodes ricinus* i *I. persulcatus*) stanowiącego ich główny wektor i rezerwuuar. W ostatnich latach dochodzi do poszerzania się zasięgu występowania kleszczy, a wraz z nimi TBEV, jak też powstawania nowych ognisk endemicznych wirusa. Cykl rozwojowy TBEV w środowisku uwarunkowany jest interakcją między wirusem, wektorem – kleszczem, i rezerwuarem – żywicielem kleszcza. Zagęszczenie populacji kleszczy oraz ich gospodarzy na danym terenie determinują krążenie wirusa na tym obszarze. Przebieg zakażenia poszczególnymi podtypami wirusa wykazuje znaczne różnice w obrazie klinicznym. Typowe zakażenie TBEV ma przebieg dwufazowy. Istnieje wiele czynników wpływających na przebieg infekcji związanych z organizmami kleszczy, ich żywicielami oraz podtypami wirusa. Główną rolę w kontroli replikacji wirusa odgrywają interferony typu I. Komórki dendrytyczne, ważni producenci interferonu, stanowią podstawowy cel dla TBEV we wczesnej fazie infekcji. Ponadto TBEV jest wirusem neurotropowym, prowadząc do rozwoju stanu zapalnego i niszczenia komórek nerwowych. Co więcej, zakażenie TBEV ma charakter immunopatologiczny. Przypuszcza się, że kluczową rolę w niszczeniu neuronów odgrywa działanie układu odpornościowego, zwłaszcza limfocytów T cytotoksycznych (Tc CD8⁺), zaś w mniejszym stopniu bezpośrednia liza komórek zakażonych TBEV. Odpowiedź immunologiczna skierowana na eliminację zakażenia TBEV przyczynia się więc paradoksalnie do zaostrzenia choroby. Jak dotąd, jedyną skuteczną metodą walki z wirusem jest stosowanie szczepień ochronnych.

SŁOWA KLUCZOWE

wirus kleszczowego zapalenia mózgu, kleszczowe zapalenie mózgu, KZM, kleszcze, *Ixodes*, zoonoza

Katedra i Zakład Mikrobiologii i Wirusologii
Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem
Medycyny Laboratoryjnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach

ADRES

DO KORESPONDENCJI:

Dr hab. n. med. Tomasz J. Wąsik, prof. nadzw. SUM
Katedra i Zakład Mikrobiologii i Wirusologii
Wydziału Farmaceutycznego
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach
ul. Jagiellońska 4
41-200 Sosnowiec
tel. +48 32 364 16 21
e-mail: twasik@sum.edu.pl

Ann. Acad. Med. Siles. 2012, 66, 6, 45–56
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach
ISSN 0208-5607

ABSTRACT

The tick-borne encephalitis virus (TBEV) is an etiological agent of tick-borne encephalitis (TBE), a serious seasonal disease of the central nervous system transmitted by ticks. Within TBEV, there are three subtypes, and their geographic scopes are closely related to the tick species (mostly *Ixodes ricinus* and *I. persulcatus*), the main vector and reservoir. The distribution range of ticks, and hence TBEV, has broadened in recent years and new endemic foci of the virus are emerging. The life cycle of TBEV in the environment is influenced by the interactions between the virus, vector and reservoir. The population density of ticks and their hosts in a given terrain determines the circulation of the virus in this area. The course of infections caused by certain TBEV subtypes shows substantial differences in the clinical picture. Typical TBEV infection has a biphasic course. There are several factors affecting the course of the infection. Type I interferons play a major role in controlling viral replication. Dendritic cells, the important producers of interferon, are the primary target for TBEV in the early phase of the infection. Furthermore, TBEV is a neurotrophic virus causing the development of inflammation and destruction of neurons and immunopathological effects. It is believed that the immune system, especially cytotoxic T cells, plays a key role in the destruction of neurons, and to a lesser extent, the direct lysis of cells infected with TBEV. The immune response directed at the elimination of TBEV infection paradoxically contributes to the exacerbation of the disease. So far, active vaccination is the only effective method of TBE prevention.

KEY WORDS

tick-borne encephalitis virus, TBEV, tick-borne encephalitis, TBE, ticks, *Ixodes*, zoonosis

ETIOLOGIA KLESZCZOWEGO ZAPALENIA MÓZGU

Pierwszy przypadek choroby definiowanej obecnie jako kleszczowe zapalenie mózgu (KZM; *tick-borne encephalitis* – TBE) został opisany na obszarach dalekowschodniej Rosji w 1932 r. [1]. Początkowo chorobę klasyfikowano jako japońskie zapalenie mózgu oraz uważano, iż jest przenoszona bezpośrednio przez kontakt z zakażonym człowiekiem, a jej rozprzestrzenianie wiązano z przemieszczaniem się pracowników leśnych [1]. Pierwsze doniesienia, że czynnikiem sprawczym kleszczowego zapalenia mózgu jest wirus (TBEV – *tick-borne encephalitis virus*), pochodzą z 1937 r., z obserwacji prowadzonych przez Silbera, który zauważył również, że kleszcze, zwłaszcza gatunek *Ixodes persulcatus*, były głównym wektorem zakażenia na terenach wschodniej Rosji [1]. Obserwacje te potwierdził doświadczalnie zespół Chumakova, a Silber nadał patogenowi nazwę wirus dalekowschodniego kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV-FE – *Far-Eastern tick-borne encephalitis virus*) [2]. We wczesnych latach 40. XX w. zostały opisane przypadki zakażenia TBEV-FE na terenie Syberii i europejskiej części ZSSR różniące się obrazem klinicznym, dlatego Chumakov, uwzględniając te różnice, zaproponował podział choroby na

encefalopatię dalekowschodnią i zachodnią [2]. W obrębie państw europejskich TBEV po raz pierwszy wykryto w 1948 r. na obszarach Czechosłowacji. W 1949 r. wirus został wyizolowany zarówno z organizmu człowieka, jak i kleszczy [2].

EPIDEMIOLOGIA

KLESZCZOWEGO ZAPALENIA MÓZGU

W obrębie gatunku TBEV obecnie wyróżnia się trzy podtypy: europejski (TBEV-Eu, CEE – *Central European encephalitis virus*), dalekowschodni (TBEV-FE, RSSE – *Russian spring – summer encephalitis virus*) oraz syberyjski (TBEV-Sib – *West Siberian virus*) [3]. Zasięg geograficzny poszczególnych podtypów jest ściśle związany z gatunkiem kleszcza, stanowiącego ich główny wektor i rezerwuar. Zasadniczą rolę w patogenezie KZM odgrywają dwa gatunki kleszczy twardych (*Ixodidae*): *Ixodes ricinus* przenoszący TBEV-Eu oraz *I. persulcatus* przenoszący TBEV-FE i TBEV-Sib [4].

I. ricinus rozprzestrzeniony jest na dużym obszarze Europy, a jego zasięg dochodzi do terenów Turcji, północnego Iranu i obszarów południowo-wschodniego Kaukazu, natomiast *I. persulcatus* występuje przede wszystkim w Azji – na Syberii, rozciągając się dalej na

wschód aż do dalekowschodnich obszarów Chin i japońskiej wyspy Hokkaido. Gatunek ten można znaleźć także we wschodniej Europie, w obrębie krajów nadbałtyckich (Łotwa, Estonia) oraz w Polsce [5,6]. Współistnienie obu gatunków kleszczy obserwuje się na obszarach od północnych partii krajów bałtyckich aż do Uralu. Granica terytorialna, wyraźnie wyznaczająca zasięg występowania *I. persulcatus*, przebiega przez Łotwę, gdzie po stronie zachodniej występuje jedynie *I. ricinus*, podczas gdy po wschodniej wykrywa się już oba gatunki kleszczy. Kolejne granice rozciągają się od Estonii, poprzez okolice St. Petersburga aż po Republikę Karelii (Rosja) oraz między Finlandią i Rosją, gdzie *I. persulcatus* występuje po stronie rosyjskiej. Do niedawna *I. persulcatus* nie był wykrywany na terenach zachodniej i północnej Europy, z wyjątkiem jednego przypadku w Szwecji, gdzie wirus przywleczony był przez migrujące ptactwo [7]. W 2006 r. Jääskeläinen i wsp. wykryli *I. persulcatus* przenoszący TBEV-Sib na obszarze zachodniej Finlandii (w okolicach Kokkoli), co było pierwszym przypadkiem potwierdzającym występowanie tego wirusa w Europie Północnej [8].

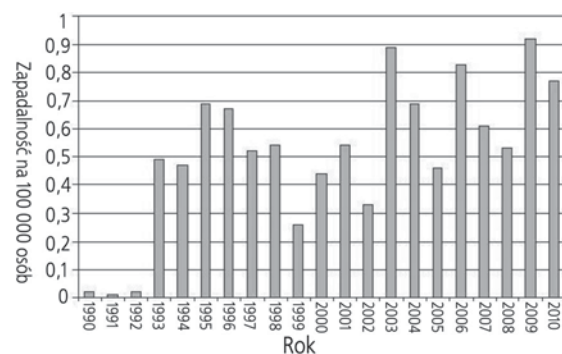
Rozmieszczenie endemicznych obszarów występowania TBEV ściśle łączy się z rozmieszczeniem geograficznym omawianych gatunków kleszczy. Aktualnie uważa się, że wirus rozprzestrzeniony jest w 27 krajach Europy Środkowej i Wschodniej, Skandynawii oraz w północnych rejonach Azji [9,10,11,12,13]. Niespodziewanie TBEV-Eu wykryto u dzikich gryzoni (*Apodemus agrarius*) w Korei Południowej [14,15]. Niewielki odsetek TBEV-Eu został wyizolowany z *I. persulcatus* [16]. Podtyp TBEV-FE przede wszystkim znajdowany jest w Rosji, zaś mniejsze ogniska obecne są również na terenach północno-wschodnich Chin [17], w części Japonii [18] oraz w krajach bałtyckich. Pierwotnie TBEV-Sib wykryty został na Syberii, w późniejszym okresie znajdowano go również w Finlandii [8]. Wszystkie trzy podtypy zostały wykryte w Estonii, Finlandii i na Łotwie [13].

W ostatnich latach udokumentowano poszerzenie się zasięgu występowania kleszczy *I. ricinus*, a wraz z nimi TBEV. Ich występowanie zaobserwowano zarówno w wyższych partiach górskich (w porównaniu z latami 70.–80. XX w.) [19,20], jak i przesuwanie się ich zasięgu w kierunku północnym – do Szwecji [21], Norwegii [22] i Finlandii [8], oraz na zachód – do Niemiec [19] i Austrii [23]. Co więcej, każdego roku odnoto-

wuje się nowe ogniska wirusa, m.in. w Danii, Finlandii, Szwecji, Norwegii, Austrii, Niemczech, Szwajcarii oraz w Polsce [10]. Niedawno wykryto ognisko endemiczne TBEV w Laponii (północna Finlandia), tj. na obszarze, gdzie wcześniej nie udokumentowano żadnego przypadku obecności wirusa. Zidentyfikowano tam nietypowy przypadek występowania TBEV-Eu w organizmie *I. persulcatus* [24]. Należy zaznaczyć, iż często trudno stwierdzić, czy opisany obszar endemiczny jest faktycznie nowo powstałym ogniskiem, czy niewykrytym ogniskiem rozwiniętym wcześniej [25].

W Polsce pierwsze przypadki KZM stwierdzono na przełomie lat 40. i 50. ubiegłego wieku w północno-wschodniej części kraju [26] oraz na Opolszczyźnie [27]. Od momentu wprowadzenia w latach 60.–70. XX w. rejestracji przypadków infekcji TBEV oraz ogólnokrajowych badań serologicznych w kierunku obecności przeciwciał przeciwko TBEV możliwe stało się określenie obszarów endemicznych KZM w obrębie naszego kraju. Okazało się, iż większość zgłoszeń pochodziła z obszarów Polski północno-wschodniej, tj. z terenów województw podlaskiego i warmińsko-mazurskiego. Zaobserwowano też mniejsze skupiska wirusa w obrębie województw opolskiego, mazowieckiego i dolnośląskiego [28]. Co więcej, w ciągu ostatnich lat zanotowano zwiększoną liczbę nowych przypadków zakażeń TBEV na obszarach województw małopolskiego, mazowieckiego, pomorskiego i świętokrzyskiego, co może świadczyć o powstawaniu nowych regionów endemicznych.

W Polsce regionalne stacje epidemiologiczne rejestrują 300–340 przypadków infekcji



Ryc. 1. Kleszczowe zapalenie mózgu (KZM) w Polsce w latach 1990–2010. Liczba zarejestrowanych przypadków na 100 tys. osób (wg meldunków NIZPH-PZH).

Fig. 1. Tick-borne encephalitis (TBE) in Poland in years 1990–2010. Number of recorded cases per 100 000 people (according to NIZPH-PZH reports).

rocznie [29]. Dane epidemiologiczne wskazują, że stopień zachorowalności na KZM jest zmienny, jednak w ostatnich latach obserwuje się jego wzrost, mimo sezonowych fluktuacji [29] (ryc. 1). Uważa się, że liczba zarejestrowanych zachorowań może stanowić jedynie 30% wszystkich przypadków, co wynika z nieprawidłowej diagnozy choroby oraz niezgłaszania wielu przypadków infekcji przez lekarzy pierwszego kontaktu. Dlatego wydaje się, że niezbędne jest opracowanie szczegółowej mapy obszarów endemicznego występowania KZM w Polsce [29].

1. Sezonowa aktywność kleszczy

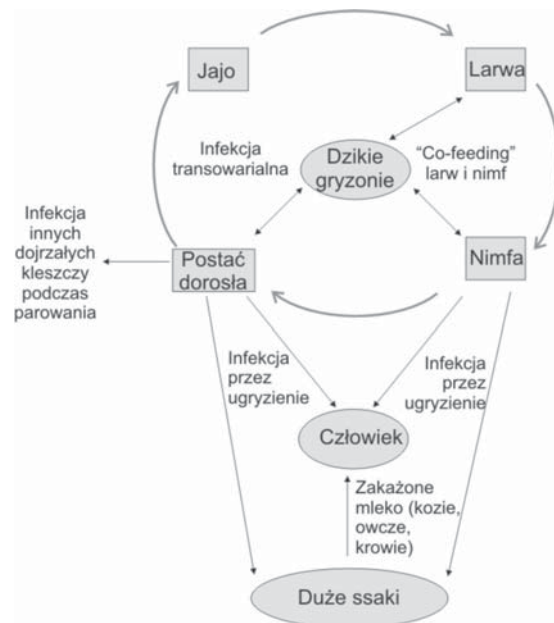
W związku z faktem, iż raz zakażony kleszcz pozostaje nosicielem wirusa przez całe swoje życie, rozpowszechnienie i nasilenie częstości występowania choroby jest ściśle związane z aktywnością kleszczy w ciągu roku [12], która ma charakter sezonowy: rozpoczyna się na przełomie marca/kwietnia i trwa aż do listopada. W Europie odnotowuje się dwa szczyty aktywności kleszczy: wiosenny (przełom maja i czerwca) oraz jesienny (między wrześniem i październikiem), co wynika z występowania w tych okresach najbardziej korzystnych dla nich warunków klimatycznych. W regionach chłodniejszych może pojawić się pojedynczy szczyt aktywności obserwowany latem [6,12,23]. Zwiększenie populacji kleszczy w tych okresach przyczynia się do wzrostu częstości zachorowań na KZM.

Niektóre dane sugerują związek między częstością zachorowań na KZM a zmianą klimatu. Według części badaczy, rozprzestrzenianiu kleszczy sprzyja wzrost globalnej temperatury, prowadzący do wydłużenia pory letniej i złagodzenia zimy [19,30]. Istnieją też doniesienia wskazujące, iż obserwowany wzrost częstości występowania KZM nastąpił jeszcze przed rozpoczęciem ocieplania się klimatu, co sugeruje istnienie innych czynników wpływających na wzrost ryzyka infekcją TBEV [31,32].

2. Cykl rozwojowy wirusa w środowisku

Występowanie TBEV w środowisku zależy od interakcji między wirusem, jego wektorem oraz organizmem żywicielskim wektora, stanowiącym jednocześnie rezerwuarem wirusa [12] (ryc. 2). Jak już wspomniano, głównym wektorem i rezerwuarem TBEV są kleszcze. Głównym żywicielem kleszcza, a jednocześnie również ważnym rezerwuarem wirusa, są zwierzęta ciepłokrwiste, przede wszystkim

gryzonie. Ważnym rezerwuarem dla TBEV-Eu są gryzonie *Apodemus flavicollis*, *A. sylvaticus*, i *Myodes* spp., a dla TBEV-FE – *Myodes rufocanus* i *Microtus arvalis*, natomiast dla TBEV-Sib – *A. agrarius* i *A. peninsula* [33]. Żywicielem kleszcza mogą być też inne leśne ssaki, ptaki oraz zwierzęta domowe, tj. krowy, kozy, owce, konie czy psy [34].



Ryc. 2. Cykl rozwojowy wirusa KZM w środowisku. Głównym wektorem i rezerwuarem wirusa są kleszcze, które ulegają zakażeniu podczas wysysania krwi lub płynów tkankowych od zwierząt ciepłokrwistych będących w fazie wirerii. Virus jest przekazywany również między kleszczami transstadialnie, transowarialnie, podczas kopulacji, jak też wskutek kanibalizmu obserwowanego czasem wśród kleszczy. Do zakażenia kleszcza może dojść także przez tzw. proces *co-feeding*. Człowiek ulega zakażeniu głównie na skutek ukłucia przez zakażonego kleszcza lub drogą pokarmową [6,9].

Pełny cykl rozwojowy kleszczy trwa stosunkowo długo – od 2 do 6 lat (średnio 3 lata), co warunkuje istotność roli kleszczy w krążeniu wirusa w środowisku [35]. Larwy i nimfy ulegają zwykle zakażeniu podczas wysysania krwi lub płynów tkankowych od zwierząt będących w fazie wirerii. Aby doszło do efektywnego zakażenia kleszcza, ładunek przekazywanego

wirusa musi być wystarczająco wysoki. Czas trwania wirerii oraz jej wielkość u zwierząt żywicieli determinują częstość występowania wirusa w populacji kleszczy. Zatem zagęszczenie populacji kleszczy oraz ich gospodarzy na danym terenie i stopień odporności gospodarza na zakażenie, determinują krążenie wirusa. U niewielkich ssaków (jak mysz leśna, orzesznica) obserwuje się długotrwałą – 2–8-dniowy okres wirerii oraz wysokie miano wirusa. Z kolei u dużych ssaków (sarny, kozy) wirerii jest krótkotrwała i osiąga niskie miano [34]. Niedawne badania wskazują jednak, że w wielu przypadkach przekazywanie wirusa na kleszcze podczas stadium niewiremicznego może odgrywać istotną rolę w cyklu rozwojowym TBEV. Taki przypadek transmisji, zwany *co-feeding*, polega na przekazywaniu infekcji w przypadku obecności w pobliżu siebie żerujących kleszczy niezakażonego i zakażonego [6,23,36].

Zainfekowane nimfy i postaci dorosłe kleszczy mogą przenosić wirusa na inne zwierzęta, głównie kręgowce ciepłokrwiste. Samice kleszczy zwykle zakażają jednego gospodarza, podczas gdy samce mogą infekować wiele osobników, gdyż żerują częściej od samic. Zakażone kleszcze oraz większość zakażonych zwierząt nie chorują, stanowiąc jedynie rezerwuaria wirusa przez całe życie i mogą być źródłem jego rozprzestrzeniania [12]. Wirus jest przekazywany również transstadialnie – przez każde stadium rozwojowe kleszcza, i transowarialnie – przez zapłodnioną samicę na jaja [12,37]. Możliwe jest przekazanie wirusa podczas kopulacji przez zakażonego samca na samicę bądź wskutek obserwowanego czasem u kleszczy kanibalizmu. Przekazywanie wirusa wśród kleszczy umożliwia jego cyrkulację w środowisku bez obecności organizmu żywiciela. Człowiek nie odgrywa istotnej roli w łańcuchu transmisji wirusa, stanowiąc jego końcowe ogniwo [9,12]. Ponieważ cykl rozwojowy wirusa w środowisku przebiega w organizmach wielu gatunków zwierząt, niemożliwe jest jego wykorzenie ze środowiska.

3. Drogi transmisji wirusa u ludzi

Do zakażenia człowieka dochodzi najczęściej w wyniku ukłucia przez zainfekowanego kleszcza – wirus przekazywany jest wraz z jego śliną w czasie wysysania krwi. W przypadku *I. ricinus* zasadniczą rolę w transmisji wirusa odgrywają nimfy, ponieważ stanowią stadium rozwojowe o największej liczebności oraz wy-

kazują niewielką swoistość w wyborze żywiciela. Natomiast w przypadku *I. persulcatus* główną rolę w przekazywaniu TBEV odgrywają postaci dorosłe [23].

Do zakażenia może dojść również drogą pokarmową przez spożycie surowego, niepasteuryzowanego mleka i przetworów mlecznych pochodzących od zainfekowanych zwierząt hodowlanych, tj. krów, owiec, kóz, ponieważ wirus może przenikać z krwi do gruczołów sutkowych zakażonych zwierząt [11]. Istnienie tej drogi zakażenia wynika z niewielkiej wrażliwości wirusa na działanie niskiego pH, z kolei pełną ochronę przed infekcją zapewnia pasteryzacja produktów mlecznych, ze względu na dużą wrażliwość TBEV na zmiany temperatury [34,36]. Według badań, w mleku zakażonych zwierząt TBEV zachowuje zdolność do wirulencji aż do 8 dni [11,12]. W konsekwencji, tą drogą transmisji dojść może do rozwoju charakterystycznej postaci choroby, tzw. dwufazowej gorączki mlecznej. Ten rodzaj infekcji stanowi około 10–20% wszystkich przypadków zakażeń TBEV w Europie [11].

Zakażenia pokarmowe stwierdzono na niektórych obszarach Europy Środkowej i Wschodniej. Największą epidemię tego rodzaju zakażeń odnotowano w okolicach miasta Rožňava na Słowacji na przełomie lat 1951 i 1952, kiedy zakażeniu uległo co najmniej 660 osób [38]. Masowe infekcje stwierdzono również w Rosji, Austrii, Czechach i na Węgrzech [11,20]. W Polsce ostatni przypadek wykryto w 1995 r. [39].

Sporadycznie do zakażenia może dojść także drogą wziewną poprzez nabłonek węchowy w trakcie wdychania zawiesiny cząstek wirusowych, udowodniono bowiem, iż wirus zachowuje swoją zakaźność w powietrzu do 6 godzin w temperaturze pokojowej [36]. Ponadto opisano przypadki zakażeń na skutek skałceń podczas pracy laboratoryjnej [40] oraz zakażeń okołotransfuzyjnych [23]. Wirus nie jest przenoszony z człowieka na człowieka.

PRZEBIEG ZAKAŻENIA TBEV

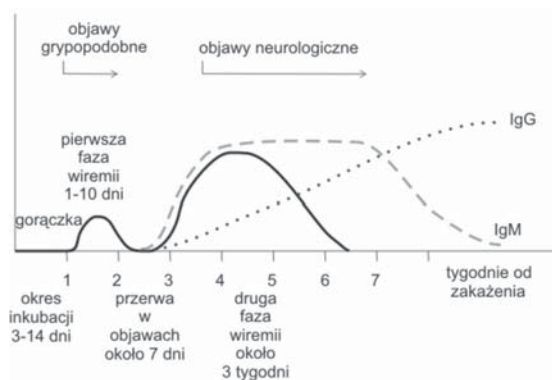
Typowy przebieg zakażenia TBEV u człowieka ma postać dwufazową (ryc. 3). Okres inkubacji trwa zwykle 7–14 dni od momentu ukłucia przez kleszcza, a 3–4 dni po spożyciu zakażonego mleka [5,13,23,41]. Wirus namnaża się początkowo w miejscu wprowadzenia, tj. w skórze lub w ścianie jelit [6,42]. W pierwszej kolejności TBEV atakuje komórki Langerhansa, makrofagi, neutrofile oraz komórki NK

(*natural killers*) [6,42,43,44]. Może dostawać się do komórek na drodze wiropeksji lub przez endocytozę [45]. Zakażone TBEV komórki przenoszone są przez włosowate naczynia limfatyczne do węzłów chłonnych, gdzie wirus dalej intensywnie replikuje [5,6,45]. Wydaje się, że TBEV może również zakażać komórki śródbłonna węzłów chłonnych, co umożliwia przenikanie wirusa do otaczających tkanek [45]. Jest to trwający 2–28 dni okres inkubacji wirusa, w którym nie obserwuje się objawów klinicznych. Następnie TBEV przedostaje się do krwiobiegu, co daje początek pierwszej fazie wirerii związanej z jego ogólnoustrojowym rozprzestrzenianiem się [6,45], trwającej zazwyczaj 1–10 dni [23,41] i cechującej się namnażaniem TBEV poza ośrodkowym układem nerwowym (OUN) [5]. Na tym etapie TBEV zakaża krążące w krwiobiegu mieloidalne i plazmocytoidalne komórki dendrytyczne (DC – *dendritic cells*). W dalszej kolejności wi-

rus atakuje komórki śródbłonna innych narządów, m.in. wątroby, śledziony i szpiku kostnego [5,6,42,43].

Pierwsza faza wirerii manifestuje się nieswoistymi, grypopodobnymi objawami [5,6,23,33,41,42], po czym następuje trwający około 1 tygodnia okres bezobjawowy [11,23,33,34]. U większości pacjentów (74–87%) rozwija się następnie druga faza wirerii, związana z zakażeniem OUN [34,46]. U 13–26% pacjentów nie wykształca się pełne, dwufazowe zakażenie [34,46], w którym po pierwszej fazie wirerii następuje wyzdrowienie [43]. Istnieją także pacjenci (23–50% ogółu przypadków KZM), u których nie obserwuje się objawów pierwszej fazy, a dopiero druga manifestuje się objawami ze strony OUN [34,46]. Ponieważ śródbłonek naczyń włosowatych mózgu jest trudny do przeniknięcia, wysoki poziom replikacji wirusa w pierwotnie zakażonych komórkach wydaje się warunkiem przekroczenia bariery krew–mózg (BBB – *blood-brain barrier*) [11]. Uważa się, że TBEV dostaje się do OUN, wykorzystując strategię „konja trojańskiego”, opartą na migracji zakażonych wirusem komórek układu odpornościowego (komórek dendrytycznych, neutrofilii, monocytów, makrofagów i limfocytów T) przez barierę krew–mózg do OUN. Stwierdzono ponadto, że prozapalne cytokiny: czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α) oraz interleukina 6 (IL-6), dodatkowo zwiększają przepuszczalność BBB dla zakażonych wirusem komórek [11]. Inną możliwą drogą przedostawania się TBEV do OUN jest zakażenie komórek śródbłonna naczyń włosowatych mózgu lub migracja przez neurony, po uprzednim zakażeniu nerwów obwodowych [5,6,11,13,42,43].

W następstwie zajęcia OUN przez TBEV dochodzi do obumierania zakażonych komórek nerwowych. Obecność wirusa w OUN powoduje powstanie stanu zapalnego, czego konsekwencją jest niszczenie także neuronów niezakażonych [6,47]. Na zmiany patologiczne w istocie szarej składają się: wokółnaczyńowe gromadzenie limfocytów, namnażanie komórek gleju, obumieranie komórek nerwowych oraz neurofagia. Głównym celem TBEV są neurony, rzadziej atakowane są oligodendrocyty. Na zakażenie podatne są głównie komórki gruszkowate mózdzku oraz komórki rogów przednich rdzenia kręgowego. Zmiany mikroskopowe są szczególnie wyraźne w rdzeniu przedłużonym, moście, mózdzku, pniu



Ryc. 3. Dwufazowy przebieg infekcji TBEV. Po okresie inkubacji następuje pierwsza faza wirerii (linia ciągła), charakteryzująca się objawami grypopodobnymi, w tym gorączką, po czym ma miejsce trwająca około 1 tygodnia faza bezobjawowa, poprzedzająca drugą fazę wirerii, związaną z objawami ze strony OUN, którym towarzyszy ponowna gorączka, wyższa niż w pierwszej fazie wirerii. Miano IgM skierowanych przeciwko TBEV w osoczu i płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) wzrasta podczas pierwszych 6 dni od początkowych objawów, a po kilku tygodniach zaczyna się obniżać (linia przerywana). Z kolei szczytowe miano IgG obserwuje się po 6 tygodniach od rekonwalescencji; pozostają one w organizmie przez całe życie (linia kropkowana).

Fig. 3. Biphasic course of TBEV infection. After incubation period begins first phase of viraemia (solid line), characterized by flu-like symptoms, including fever. Then is asymptomatic phase lasting about 1 week, prior to second phase of viraemia associated with onset of symptoms of central nervous system. Symptoms are accompanied by return of fever, higher than in first phase of viraemia. Level of IgM antibodies against TBEV, in serum and cerebrospinal fluid (CSF), increases during first six days of first symptoms, and after six weeks starts to reduce (dashed line). Peak levels of IgG observed after 6 weeks of convalescence, and antibodies remain in body for one's whole life (dotted line).

mózgu, jądrze podstawy i wzgórzu. Zmiany w korze mózgowia są najczęściej ograniczone do ośrodków motorycznych [5,11,34,42,47]. Objawy kliniczne w infekcji OUN przez TBEV zostały dosyć dobrze udokumentowane. Pojawiają się bardziej gwałtownie niż w pierwszej fazie wirerii [6]. Zaobserwowane u pacjentów formy KZM przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Schorzenia występujące w KZM oraz częstość ich występowania [6,34,47]

Table I. Diseases occurring in TBE and their prevalence [6,34,47]

Schorzenie	Częstość
Zapalenie opon mózgowych (<i>meningitis</i>)	54–69%
Zapalenie mózgu (<i>encephalitis</i>)	45–50%
Zapalenie opon i mózgu (<i>meningo-encephalitis</i>)	30–42%
Zapalenie opon, mózgu i rdzenia kręgowego (<i>meningo-encephalomyelitis</i>)	1–14%
Zapalenie opon, mózgu i korzonków (<i>meningo-encephaloradiculitis</i>)	4–14%

CZYNNIKI MODYFIKUJĄCE PRZEBIEG ZAKAŻENIA

1. Czynniki wirusowe

Podczas gdy przebieg wczesnej fazy zakażenia jest dla różnych podtypów TBEV zbliżony, to dalszy rozwój choroby może różnić się nie tylko pod względem częstości danych objawów klinicznych, lecz także stopnia ich nasilenia [11,42]. Infekcja podtypem europejskim w 65–98% przypadków jest bezobjawowa lub nacechowana tylko niecharakterystycznymi objawami grypopodobnymi. Dokładny odsetek takich infekcji trudno oszacować, gdyż część przypadków o łagodnych objawach pozostaje niezdiagnozowana [41,42,44]. Spośród wykrywanych objawowych zakażeń tym podtypem, u ponad 70% pacjentów stwierdza się opisany wcześniej dwufazowy przebieg choroby [6,42]. Infekcja podtypem europejskim TBEV ma stosunkowo łagodny przebieg i wiąże się z najniższą śmiertelnością wśród wszystkich trzech podtypów wirusa, wynoszącą 1–2%. U ponad 30% objawowych pacjentów dochodzi do następstw neurologicznych [41,42,44,48].

W przypadku podtypu syberyjskiego TBEV do infekcji bezobjawowej dochodzi u około 98% zakażonych. W przeciwieństwie do TBEV-Eu dwufazowy przebieg choroby odnotowuje się jedynie u około 21% osób z infekcją objawową [11]. Wskaźnik śmiertelności dla TBEV-Sib

jest nieco wyższy niż dla TBEV-Eu i wynosi 1–6% pacjentów z objawami [6,23,48]. U 80% pacjentów objawowych dochodzi do całkowitego wyzdrowienia. W zakażeniu podtypem syberyjskim obserwuje się tendencję do występowania infekcji przewlekłej, charakteryzującej się wieloletnią obecnością wirusa w zajętych narządach oraz długotrwałym wykształcaniem i utrzymywaniem się objawów [6,11,41,49,50].

Podobnie jak dla TBEV-Sib, choroba wywołana podtypem dalekowschodnim ma w 85% przypadków przebieg jednofazowy [6,42]. Większość takiego rodzaju infekcji ma ciężki przebieg i prowadzi do zapalenia OUN [41,48]. W infekcji TBEV-FE śmiertelność jest znacznie wyższa niż w dwóch pozostałych podtypach i wynosi 20–40% [5,6,11,23,42,48]. Z kolei z pełnym wyzdrowieniem mamy do czynienia tylko u około 25% objawowych pacjentów [11]. U 30–80% pacjentów dochodzi do następstw neurologicznych [34]. Podobnie jak w zakażeniu podtypem syberyjskim, może dojść do infekcji przewlekłej [50].

2. Czynniki związane z organizmem gospodarza

Przypuszcza się, że na przebieg infekcji TBEV u człowieka mogą wpływać czynniki genetyczne. Wśród osób badanych na Litwie wykazano, że delecja 32 par zasad w genie kodującym CCR5 (mutacja CCR5 Δ 32) występowała częściej u pacjentów ze zdiagnozowanym KZM niż w grupie kontrolnej osób zdrowych. Co więcej, częstość allelu CCR5 Δ 32 była u pacjentów z cięższym przebiegiem KZM wyższa niż u osób z łagodniejszą postacią choroby. Sugeruje to ochronną rolę białka CCR5 w przebiegu zakażenia TBEV. Białko to jest receptorem dla chemokin i odgrywa istotną rolę w odpowiedzi immunologicznej organizmu gospodarza. Delecja CCR5 Δ 32 prowadzi do powstania niefunkcjonalnego białka, które nie dociera na powierzchnię komórki. Obecność receptora CCR5, choćby w obniżonej ilości w przypadku heterozygotyczności względem mutacji CCR5 Δ 32, wydaje się istotna w zwalczaniu infekcji TBEV. Stwierdzono, że CCR5 sprzyja migracji leukocytów do OUN. Potwierdzeniem może być też częstsze występowanie mutacji CCR5 Δ 32 na tych obszarach Europy, gdzie stwierdza się przypadki KZM. Wyniki te wymagają potwierdzenia poprzez analizę większej liczby pacjentów, z uwagi na fakt, że migracja leukocytów do OUN może wywołać efekt odwrot-

ny, tj. wystąpienie zaostrzenia objawów KZM [11,51].

Przebieg zakażenia TBEV w organizmie człowieka może być także zależny od sekwencji genu kodującego białko TLR3 (*Toll-like receptor 3*). Stwierdzono, że mutacja ofrs3775291, przekładająca się na zamianę Leu na Phe w pozycji 412 białka TLR3, występuje częściej w kontrolnej grupie osób zdrowych niż w grupie pacjentów z KZM. Sugerować to może, że obecność mutacji ofrs3775291, powodującej powstanie dysfunkcyjnego białka TLR3, wywiera efekt ochronny w zakażeniu TBEV. Tego rodzaju wyniki muszą jednak znaleźć potwierdzenie w analizie obejmującej większą grupę pacjentów [47].

Czynnikiem sprzyjającym rozwojowi KZM może być też osłabienie układu immunologicznego gospodarza. Prawdopodobieństwo ciężkiego przebiegu infekcji TBEV wzrasta ponadto z wiekiem pacjenta [6,49]. U dzieci KZM jest mniej powszechne niż u osób dorosłych, a infekcja przebiega zazwyczaj łagodnie, korzystniejsze też są rokowania [11]. Z kolei poważniejszy przebieg infekcji TBEV, z wyższą śmiertelnością czy też długo utrzymującymi się następstwami znacznie pogarszającymi komfort życia, częściej ma miejsce u osób powyżej 60. roku życia [41].

Przypuszcza się, że wpływ na infekcyjność TBEV mogą mieć organizmy gryzoni, będące głównymi gospodarzami dla wirusa. U gryzoni, przeciwnie niż u większych zwierząt, przewlekła infekcja TBEV utrzymuje się zazwyczaj ponad 12 miesięcy, przez co odgrywają one istotną rolę w rozprzestrzenianiu wirusa pomiędzy kleszczami. Poszczególne gatunki gryzoni mogą wywoływać zróżnicowaną presję selekcyjną względem TBEV. Stwierdzono, że nornica *Clethrionomys rufocanus* jest gospodarzem dla izolatów wirusa KZM zarówno o niskiej, jak i wysokiej wirulencji, z kolei *Microtus arvalis* jest nosicielem izolatów o wyższej wirulencji. Presja selekcyjna na skutek odpowiedzi ze strony układu immunologicznego może mieć miejsce zarówno podczas rozprzestrzenienia infekcji w organizmie gospodarza, jak i w czasie transmisji TBEV z kleszcza na kleszcza w trakcie procesu współżerowania [50].

3. Czynniki związane z organizmem wektora

Wydaje się, że istnieje powiązanie między patogennością TBEV a gatunkiem kleszcza, będącego dla niego wektorem. Zróżnicowany

proces adaptacji wirusa w organizmie wektora może wynikać z niejednakowej odpowiedzi immunologicznej u danego gatunku kleszcza. Sugeruje się, że wpływa to na odmienną wirulencję różnych podtypów TBEV [44]. Stwierdzono, że na Dalekim Wschodzie *I. persulcatus* jest nosicielem wirusa związanego z cięższymi przypadkami KZM, z kolei łagodniejsze przypadki choroby odnotowywane były na obszarach, gdzie przeważają inne gatunki kleszczy – m.in. *Hyalomma concinna*, który okazał się źródłem lokalnych epidemii TBEV [50]. Presja selekcyjna ze strony układu odpornościowego kleszczy mogła wpłynąć na wykształcenie u TBEV właściwości pozwalających na uniknięcie mechanizmów obronnych gospodarza [44]. Przypuszcza się, że zmiany fenotypowe, będące następstwem selekcji, oparte są głównie na zmianach aminokwasowych w kilkunastu rejonach glikoproteiny E oraz w białku NS1 wirusa KZM [50].

Skuteczność zakażenia organizmu gospodarza przez TBEV w znacznym stopniu zależy od białek obecnych w ślinie kleszcza, gdyż może ona blokować proces fagocytozy oraz aktywację komórek dendrytycznych, a także hamować produkcję cytokin prozapalnych przez makrofagi i zmniejszać aktywność komórek NK. Przypuszcza się, że w ślinie kleszcza występują jeszcze inne, niezidentyfikowane białka mogące wiązać i neutralizować chemokiny odpowiedzialne za aktywację komórek układu odpornościowego [44].

ODPOWIEDŹ IMMUNOLOGICZNA W ZAKAŻENIU TBEV

Przebieg zakażenia TBEV u człowieka jest złożony, związany zarówno z procesem nekrozy i/lub apoptozy zainfekowanych komórek, jak i z procesami immunopatologicznymi [11]. Infekcja komórek przez TBEV prowadzi do uruchomienia nieswoistych i swoistych mechanizmów odpornościowych, mających na celu ograniczenie i likwidację zakażenia. Wrodzone mechanizmy immunologiczne uruchamiają się już w pierwszych minutach po zakażeniu, pełniąc rolę pierwszej linii obrony. Mimo złożoności tego procesu, niewątpliwie kluczowym elementem wrodzonej odpowiedzi przeciwwirusowej są interferony typu I (IFN- α i INF- β) [44]. Rozprzestrzenianie wirusa KZM może być ułatwione już na etapie inicjacji produkcji interferonów poprzez zakłócanie systemu ich aktywacji [52]. Wykazano, że antagonistą syntezy interferonów typu I jest wirusowe białko niestrukturalne NS5 [6,42], którego działanie

polega na blokowaniu fosforylacji w obrębie komórkowego szlaku sygnalizacji kinaz JAK-STAT1 [6,42]. W komórkach zakażonych TBEV, dzięki obecności białek PRR (*pathogen recognition receptor*), obecność wirusowego RNA uaktywnia czynniki transkrypcyjne indukujące produkcję INF- β [44]. Uważa się, że gromadzenie intermediatów replikacyjnych TBEV w izolowanych przedziałach komórkowych utrudnia wykrycie RNA wirusa i indukcję szlaku syntezy komórkowych [42,44,52].

Hamowanie produkcji interferonów typu I ogranicza proces dojrzewania głównie mieloidalnych komórek dendrytycznych. Uniemożliwia to prezentację przez te komórki antygenów TBEV limfocytom pomocniczym ThCD4⁺, co jest warunkiem zapoczątkowania swoistej odpowiedzi immunologicznej [44]. Proces prezentacji antygenów wirusowych mogą również blokować niepoznane dotąd białka obecne w ślinie kleszcza [42]. Główną subpopulacją komórek dendrytycznych prezentujących antygeny TBEV są komórki Langerhansa obecne w tkance podskórnej czy ścianie jelit. Podobną rolę przypisuje się makrofagom, które dodatkowo zwalczają wirusa poprzez aktywność fagocytarną. W eliminacji wirusa w początkowym etapie zakażenia biorą też udział neutrofile i komórki NK, jednak ze względu na podatność na zakażenie TBEV przyczyniają się one równocześnie do rozprzestrzeniania wirusa w organizmie gospodarza [42].

Aktywacja i dojrzewanie DC, na skutek zakażenia TBEV, prowadzi również do syntezy chemokin i cytokin prozapalnych. W surowicy pacjentów stwierdzono podwyższony poziom TNF- α , IL-1 α , IL-1 β i IL-6 [6,42,47]. Wykazano, że IL-1 α i TNF- α działają synergistycznie, inicjując w śródbłonku kaskadę mediatorów stanu zapalnego. Następnie obserwuje się obniżenie poziomu prozapalnych cytokin, czemu towarzyszy wzrost stężenia IL-10, inhibitora ich syntezy [42]. Zarówno w pierwszej fazie wirerii, jak i podczas okresu bezobjawowego, we krwi pacjentów obserwuje się leukopenię, trombocytopenię [11,34,41,42,46] oraz obniżenie liczby komórek NK. Około 4 dnia od momentu pojawienia się objawów pierwszej fazy infekcji obserwuje się spadek całkowitej liczby limfocytów TCD3⁺, który utrzymuje się przez całą fazę ostrą choroby. U pacjentów, u których po pierwszej fazie wirerii następuje wyzdrowienie (około 3 tygodnie później), poziom limfocytów TCD3⁺ wraca do normy [11]. W drugiej fazie wirerii dochodzi często

do leukocytozy [11,23,34,41]. Zakażenie limfocytów ThCD4⁺ przez TBEV ma duże znaczenie, gdyż może wpływać na proces aktywacji immunokompetentnych komórek odpornościowych [53].

U pacjentów z przewlekłym zakażeniem TBEV stwierdzono obniżony względny poziom limfocytów ThCD4⁺, a tym samym zmniejszony indeks immunoregulacyjny (stosunek limfocytów ThCD4⁺/TcCD8⁺). Wybiórcze osłabienie odporności związanej z limfocytami ThCD4⁺ może wynikać z przenikania TBEV do grasicy. Długotrwała aktywacja tych limfocytów podczas zakażenia przewlekłego z czasem prowadzi do wzrostu wydzielania IL-4 i w konsekwencji do stopniowego zaznaczenia się przewagi odpowiedzi ze strony limfocytów Th2, stymulujących odpowiedź typu humoralnego [53].

Podczas gdy w płynie mózgowo-rdzeniowym we wczesnej fazie choroby dominują granulocyty [23], po pojawieniu się objawów ze strony OUN, głównymi komórkami w CSF są limfocyty ThCD4⁺, w mniejszej ilości limfocyty T cytotoksyczne TcCD8⁺, jak również niewielka liczba komórek NK i limfocytów B CD19⁺ [6,41]. Uważa się, że silnie wykształcona odpowiedź komórkowa w CSF wiąże się z niezbyt korzystnymi rokowaniami dla pacjenta [23]. Zakażenie TBEV ma charakter immunopatologiczny, gdzie wywołwana przez limfocyty TcCD8⁺ reakcja zapalna prowadzi do uszkodzenia neuronów na skutek lizy zakażonych komórek, co może prowadzić do zgonu [6,47]. W drugiej fazie wirerii w CSF wykazano podwyższenie stężenia cząsteczek CCL-5, CXCL-10 i s-PECAM1. Sugeruje się, że ma to znaczenie dla napływu limfocytów Th1 do OUN, gdyż są one atraktantami dla tych komórek [6].

Przypuszcza się, że kluczową rolę w rozwoju KZM odgrywają limfocyty TcCD8⁺. W badaniach *post mortem* w zakażonych tkankach zaobserwowano, że bogate w granzyimy limfocyty T były w bliskim kontakcie ze zmienionymi morfologicznie neuronami, co wskazuje na główną rolę tych limfocytów w rozwoju stanu zapalnego [11]. Z kolei na powierzchni neuronów wykrywano proapoptotyczne cząsteczki liganda dla białka Fas. Uważa się, że ważną rolę w niszczeniu neuronów odgrywają też komórki mikrogleju, odpowiedzialne za proces neurofagii [54]. Ze względu na to, że stwierdzono niewielkie powiązanie między lokalizacją zmian zapalnych a miejscami w OUN,

w których wykrywano antygeny TBEV, przypuszcza się, że działanie układu odpornościowego odgrywa większą rolę w niszczeniu neuronów niż bezpośrednia liza komórek zakażonych TBEV. Odpowiedź immunologiczna skierowana na eliminację zakażenia TBEV przyczynia się więc paradoksalnie do zaostrzenia choroby [23,54]. Dokładne zbadanie i zrozumienie tego fenomenu może mieć podstawowe znaczenie dla zapobiegania i/lub leczenia następstw neurologicznych wywołanych przez TBEV [11]. Uważa się, że do niszczenia układu nerwowego przyczynia się także odpowiedź typu humoralnego. Metodą immunobarwienia stwierdzono zbliżoną lokalizację neuronów oraz przeciwciał z klasy IgM i IgG. Uważa się, że indukują one odpowiedź zapalną, przyczyniającą się do uszkodzenia tkanki nerwowej [54].

Dynamika zmian miana przeciwciał w zakażeniu TBEV jest zbliżona do odpowiedzi humoralnej na inne zakażenia wirusowe. Miano IgM skierowanych przeciwko TBEV w osoczu i CSF wzrasta po kilku dniach od pierwszych objawów zakażenia, zaś sześć tygodni później zaczyna ulegać obniżeniu (ryc. 3). Początkowa ilość IgM w zakażeniu TBEV pozwala wnioskować o intensywności późniejszych objawów ze strony OUN. Zdolność do zależnej od przeciwciał neutralizacji wirusa wpływa na poziom wirerii TBEV, który z kolei jest związany z rozwojem KZM [23]. Szczytowe miano IgG obserwuje się po 6 tygodniach od ustąpienia objawów pierwszej fazy wirerii. Podczas gdy IgM mogą zostać wykryte w surowicy do 6 miesięcy od ostrej fazy zakażenia, przeciwciała z klasy IgG pozostają w organizmie przez całe życie, dając długotrwałą odporność przeciwko TBEV [6,11,41].

ZAPOBIEGANIE ZAKAŻENIU TBEV I LECZENIE KZM

Diagnostyka zakażeń TBEV opiera się na testach potwierdzających, wykorzystujących różnorodne techniki laboratoryjne [5,6,13]. Dzięki technice RT-PCR można stwierdzić obecność RNA wirusa KZM w osoczu we wczesnym stadium infekcji, jeszcze przed pojawieniem się przeciwciał. Reakcja multiplex PCR pozwala określić podtyp TBEV [6]. U pacjentów z KZM (z objawami ze strony OUN) obecność wirusa diagnozowana jest dzięki wykryciu swoistych przeciwciał IgG i IgM metodą ELISA, gdyż na tym etapie wykształcona już jest odpowiedź humoralna przeciwko TBEV [5,6,33,49]. Za-

równo czułość, jak i swoistość tego rodzaju testów sięga 99% [41,46]. Obecność TBEV potwierdza się również testem neutralizacji [33,46], a także metodami Western-Blot, immunofluorescencji (IFA) i analizy hemaglutynacji [34,41].

W celu zapobieganiu zakażeniom TBEV stosuje się szczepienia, a skuteczność najnowszych preparatów sięga 95–99%. Najczęściej stosowana szczepionka zawiera oczyszczony wirus, inaktywowany formaldehydem bądź formaliną [6,42]. Obecnie dostępne są cztery szeroko rozpowszechnione preparaty: austriacki „FMSE Immun” (Baxter Vaccines) i niemiecki „Encepur” (Novartis Vaccines and Diagnostics GmbH) oraz dwa rosyjskie „TBE-Moscow” (Federal State Enterprise of Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis RAMSci) i „Ence Vir” (Scientific Production Association Microgen), produkowane odpowiednio w Moskwie i Omsku, oparte na szczepach „FE-TBEV” [6,13].

Do tej pory nie opracowano terapii pozwalającej na wyleczenie KZM [6,34,42]. Stosuje się jedynie wspomagające leczenie objawowe paracetamolem, aspiryną i innymi niesteroidowymi preparatami przeciwzapalnymi. W ciężkich przypadkach KZM wprowadza się kortykosteroidy [6].

PODSUMOWANIE

Przedstawione w niniejszej pracy dane wskazują na zagrożenia, jakie niewątpliwie niesie ze sobą infekcja TBEV. Jak już zaznaczano, KZM stanowi groźne schorzenie neurologiczne pociągające za sobą liczne powikłania, często utrzymujące się przez wiele lat. Mimo licznych badań, mechanizm patogenezы wirusa nie jest, jak dotąd, w pełni poznany. Co więcej, brak kompletnych danych na temat sytuacji epidemiologicznej KZM. Z uwagi na fakt, iż właściwa profilaktyka KZM stanowi jedyną, ale jednocześnie wysoce skuteczną, metodę walki z zakażeniem, konieczne jest prowadzenie dalszych badań mających na celu dokładne poznanie mechanizmu działania wirusa oraz jego rozmieszczenia na świecie. Skonstruowanie szczegółowej mapy terenów endemicznego występowania KZM jest niezbędne do zaplanowania odpowiedniej profilaktyki tej choroby z myślą o mieszkańcach terenów endemicznych oraz osób je odwiedzających.

PIŚMIENNICTWO

1. Silber L.A., Soloviev V.D. Far Eastern tick-borne spring-summer (spring) encephalitis. *Am. Rev. Soviet. Med.* 1946; 5: 1–80.
2. Blašković D. The public health importance of tick-borne encephalitis in Europe. *Bull. Wild. Hlth. Org.* 1967; 36(1): 5–13.
3. Tonteri E., Jääskeläinen A.E., Tikkakoski T. i wsp. Tick-borne encephalitis virus in wild rodents in winter, Finland, 2008–2009. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(1): 72–75.
4. Grard G., Moureau G., Charrel R.N. i wsp. Genetic characterization of tick-borne flaviviruses: New insights into evolution, pathogenic determinants and taxonomy. *Virology* 2007; 361: 80–92.
5. Banzhoff A., Bröker M., Zent M. Protection against tick-borne encephalitis (TBE) for people living in and travelling to TBE-endemic areas. *Travel Med. Infect. Dis.* 2008; 6: 331–341.
6. Mansfield K.L., Johnson N., Phipps L.P., Stephenson J.R., Fooks A.R., Solomon T. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis. *J. Gen. Virol.* 2009; 90: 1781–1794.
7. Olsén B., Jaenson T.G.T., Bergström S. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato-infected ticks on migrating birds. *Appl. Environ. Microbiol.* 1995; 61: 3082–3087.
8. Jääskeläinen A.E., Tikkakoski T., Uzcátequi N.Y., Alekseev A.N., Vaheri A., Vapalahti O. Siberian subtype tickborne encephalitis virus, Finland. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12: 1568–1571.
9. Heinz F.X. Molecular aspects of TBE virus research. *Vaccine* 2003; 21(1): 3–10.
10. Kunze U., ISW TBE. Tick-borne encephalitis: from epidemiology to vaccination recommendations in 2007. New issues – best practices. *Wien. Med. Wochenschr.* 2007; 157(9–10): 228–232.
11. Růžek D., Dobler G., Mantke O.D. Tick-borne encephalitis: Pathogenesis and clinical implications. *Travel Med. Infect. Dis.* 2010; 8: 223–232.
12. Süß J. Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. *Vaccine* 2003; 21(1): 19–35.
13. Petri E., Gniel D., Zent O. Tick-borne encephalitis (TBE) trends in epidemiology and current and future management. *Travel Med. Infect. Dis.* 2010; 8: 233–245.
14. Kim S.Y., Yun S.M., Han M.G. i wsp. Isolation of tick-borne encephalitis viruses from wild rodents, South Korea. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008; 8: 7–13.
15. Yun S.M., Kim S., Han M.G. i wsp. Analysis of the envelope (E) protein gene of tick-borne encephalitis viruses isolated in South Korea. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9: 287–293.
16. Karan L.S., Kolyasnikova N.M., Fedorova M.V., Pogodina V.V., Platonov A.E. Epidemiology and evolution of TBE in Russia 1939–2009. Vienna, Conference report of the 9th meeting of the International Scientific Working Group of Tick-borne Encephalitis (ISW TBE) (abstract) 2010.
17. Lu Z., Bröker M., Liang G. Tick-borne encephalitis in mainland China. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008; 8: 713–720.
18. Takashima I., Hayasaka D., Goto A., Kariwa H., Mizutani T. Epidemiology of tick-borne encephalitis (TBE) and phylogenetic analysis of TBE viruses in Japan and Far Eastern Russia. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2001; 54: 1–11.
19. Süß J., Klaus C., Gerstengarbe F.W., Werner P.C. What makes ticks tick? Climate change, ticks and tick-borne diseases. *J. Travel Med.* 2008; 15: 39–45.
20. Holzmann H., Aberle S.W., Stiasny K. i wsp. Tick-borne encephalitis from eating goat cheese in a mountain region of Austria. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15: 1671–1673.
21. Eisen L. Climate change and tick-borne diseases: A research field in need of long-term empirical field studies. *Int. J. Med. Microbiol.* 2008; 298(1): 12–18.
22. Skarpaas T., Golovljova I., Vene S. i wsp. Tick-borne encephalitis virus, Norway and Denmark. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12: 1136–1138.
23. Lindquist L., Vapalahti O. Tick borne encephalitis. *Lancet* 2008; 371: 1861–1871.
24. Jääskeläinen A., Tonteri E., Sironen T., Vaheri A., Vapalahti O. *Ixodes persulcatus* carries TBEV-Eur in Simo, Finnish Lapland. Vienna, Conference report of the 12th meeting of the International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis (ISW-TBE). 2010.
25. Kupča A.M., Essbauer S., Zoeller G. i wsp. Isolation and molecular characterization of a tick-borne encephalitis virus strain from a new tick-borne encephalitis focus with severe cases in Bavaria, Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 2010; 1: 44–51.
26. Demiaszkiewicz W. Wiosenno-letnie kleszczowe zapalenie mózgu w Puszczy Białowieskiej. *Pol. Tyg. Lek.* 1952; 7: 799–801.
27. Szajna J. Badania nad zapaleniem mózgu kleszczowym. III. Obraz kliniczny kleszczowego zapalenia mózgu. *N. Prz. Epidemiol.* 1954; 8(3): 219–223.
28. Gut W., Prokopowicz D. Półwiecze kleszczowego zapalenia mózgu w Polsce. *Prz. Epidemiol.* 2002; 56: 129–135.
29. www.pzh.gov.pl
30. Gray J.S., Dautel H., Estrada-Peña A., Kahl O., Lindgren E. Effects of Climate Change on Ticks and Tick-Borne Diseases in Europe. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* 2009; 593232, 12 pp.
31. Korenberg E.I. Recent epidemiology of tick-borne encephalitis: An effect of climate change? *Adv. Virus. Res.* 2009; 74: 123–144.
32. Randolph S.E. Tick-borne encephalitis incidence in Central and Eastern Europe: consequences of political transition. *Microbes Infect.* 2008; 10: 209–216.
33. Süß J. Tick-borne encephalitis 2010: Epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia-An overview. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011; 1: 1–14.
34. Baxter A.G. Tick-Borne Encephalitis (TBE, FSME). Vienna, Austria 2008.
35. Gray J.S. The development and seasonal activity of the tick *Ixodes ricinus*: a vector of Lyme borreliosis. *Rev. Med. Vet. Entomol.* 1991; 79: 323–333.
36. Charrel R.N., Attoui H., Butenko A.M. i wsp. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004; 10: 1040–1055.
37. Bakhvalova V.N., Dobrovorsky A.K., Panov V.V., Matveeva V.A., Tkachev S.E., Morozova O.V. Natural tick-borne encephalitis virus infection among wild small mammals in the south-eastern part of Western Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2006; 6: 32–41.
38. Blašković D. Outbreak of tick-borne encephalitis in Rožňava natural focus. *SAV, Bratislava* 1954.
39. Kondrusik M., Hermanowska-Szpakowicz T. Kleszczowe zapalenie mózgu – aspekty patogenetyczne, kliniczne oraz powikłania. *Neurol. Neurochir. Pol.* 2004; 38, 1(1): 67–70.
40. Avšič-Zupanc T., Poljak M., Matić M. Laboratory acquired tick-borne meningoencephalitis: characterization of virus strains. *Clin. Diagn. Virol.* 1995; 4: 51–59.
41. Bogovic P., Lotric-Furlan S., Strle F. What tick-borne encephalitis may look like: Clinical signs and symptoms. *Travel Med. Infect. Dis.* 2010; 8: 246–250.
42. Dörrbecker B., Dobler G., Spiegel M., Hufer F.T. Tick-borne encephalitis virus and the immune response of the mammalian host. *Travel Med. Infect. Dis.* 2010; 8: 213–222.
43. Haglund M., Günther G. Tick-borne encephalitis-pathogenesis, clinical course and long-term follow-up. *Vaccine* 2003; 21: 11–18.
44. Robertson S.J., Mitzel D.N., Taylor T.T., Best S.M., Bloom M.E. Tick-borne flaviviruses: dissecting host immune responses and virus countermeasures. *Immunol. Res.* 2009; 43(1–3): 172–186.
45. Lehrer A.T., Holbrook M.R. Tick-borne encephalitis vaccines. W: *Vaccines for Bio-defense and Emerging and Neglected Diseases*. Red. A.D.T. Barrett, L.R. Stanberry, Elsevier Inc., London 2009; 714–735.
46. Schultze D., Dollenmaier G., Rohner A., Guidi T., Cassinotti P. Benefit of detecting tick-borne encephalitis viremia in the first phase of illness. *J. Clin. Virol.* 2007; 38: 172–175.
47. Kindberg E., Vene S., Mickiene A., Lundkvist A., Lindquist L., Svensson L. A functional Toll-like receptor 3 gene (TLR3) may be a risk factor for tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection. *J. Infect. Dis.* 2011; 15; 203(4): 523–528.
48. Carpi G., Bertolotti L., Rosati S., Rizoli A. Prevalence and genetic variability of tick-borne encephalitis virus in host-seeking *Ixodes ricinus* in northern Italy. *J. Gen. Virol.* 2009; 90: 2877–2883.

49. Donoso Mantke O, Schädler R, Niedrig M.A. A survey on cases of tick-borne encephalitis in European countries. *Euro Surveill.* 2008; 13: 18848.
50. Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis. *Antivir. Res.* 2003; 57: 129–146.
51. Kindberg E., Mickiene A., Ax C i wsp. 2008. A Deletion in the Chemokine Receptor 5 (CCR5) Gene Is Associated with Tickborne Encephalitis. *J. Infect. Dis.*; 197(2): 266–269.
52. Överby A.K., Popov V.L., Niedrig M., Weber F. Tick-Borne Encephalitis Virus Delays Interferon Induction and Hides Its Double-Stranded RNA in Intracellular Membrane Vesicles. *J. Virol.* 2010; 84(17): 8470–8483.
53. Naslednikova I.O., Ryazantseva N.V., Novitskii V.V. i wsp. Chronic tick-borne encephalitis virus antigenemia: possible pathogenesis pathways. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005; 139(4): 451–454.
54. Gelpi E., Preusser M., Laggner U. i wsp. Inflammatory response in human tick-borne encephalitis: analysis of post-mortem brain tissue. *J. Neurovirol.* 2006; 12: 322–327.