

ORTHOHANTAVIRUS SPP. – PRZEGLĄD RODZAJU

Kamil Leis¹, Patryk Kaczor¹, Aleksandra Baska¹, Jakub Kazik¹, Michalina Kolan¹,
Katarzyna Grudlewska-Buda², Natalia Wiktorczyk², Krzysztof Skowron^{2*}

¹ Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, 85-067 Bydgoszcz, Polska

² Katedra Mikrobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, 85-067 Bydgoszcz, Polska

Wpłynęło w maju, zaakceptowano w grudniu 2020 r.

Streszczenie: Orthohantawirusy i powodowane przez nie infekcje znane były już w średniowieczu jako tzw. „angielskie poty”. Istnieją dwa główne schorzenia wywoływane przez te wirusy – HPS (hantawirusowy zespół płucny) i HFRS (gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym). Główny rezerwuuar tych drobnoustrojów stanowią gryzonie, a człowiek zaraża się nimi najczęściej drogą wziewną, w wyniku kontaktu z wydzielinami i odchodami nosicieli. HPS charakteryzuje się nagłym początkiem, a do objawów zaliczają się przede wszystkim kaszel, gorączka i trudności z oddychaniem, a w skrajnych przypadkach – niewydolność oddechowa i wstrząs kardiogeny. HFRS rozpoczyna się nagle, a główna manifestacja obejmuje gorączkę, niewydolność nerek, krwotoki, krwiomocz i białkomocz, a także wstrząs. Na ten moment, terapia antyhantawirusowa o udowodnionej skuteczności nie istnieje. Kluczową rolę w leczeniu stanowią oszczędny tryb życia, kontrola gospodarki elektrolitowej, płynoterapia oraz zapobieganie niedociśnieniu, a w wymagających tego przypadkach – podanie tlenu. Odchylenia od wartości prawidłowych w analizach laboratoryjnych osób zainfekowanych tym patogenem zależą od zajętego przez proces chorobowy organu.

1. Historia 2. Systematyka rodzaju Orthohantavirus spp. 3. Morfologia 3.1. Genom 3.2. Budowa wirionu 4. Mechanizm infekcji 4.1. Droga zarażenia 4.2. Cykl życiowy 5. Chorobotwórczość 6. Leczenie 7. Diagnostyka 8. Profilaktyka – szczepionki 9. Podsumowanie

ORTHOHANTAVIRUS SPP. – REVIEW OF GENUS

Abstract: The infections caused by orthohantaviruses were already known in the Middle Ages as “English sweats.” There are two main diseases caused by these viruses – HPS (hantavirus pulmonary syndrome) and HFRS (hemorrhagic fever with renal syndrome). Rodents are the main reservoir of these microorganisms, and humans usually catch them by inhalation, as a result of contact with secretions and droppings of carriers. HPS is characterized by a sudden onset, and symptoms include primarily cough, fever and difficulty breathing, and in extreme cases – respiratory failure and cardiogenic shock. HFRS begins suddenly and the main manifestation includes fever, renal failure, hemorrhage, hematuria and proteinuria, as well as shock. At present, anti-hantavirus therapy with proven effectiveness does not exist. A key role in the treatment is resting lifestyle, electrolyte control, fluid therapy and prevention of hypotension, and in harder cases – administration of oxygen. Deviations from normal values in laboratory analyzes of people infected with this pathogen depend on the organ affected by the disease process

1. History 2. Systematics of Orthohantavirus spp. genus 3. Morphology 3.1. Genome 3.2. Structure of the virion 4. Mechanism of infection 4.1. Route of infection 4.2. Life cycle 5. Pathogenicity 6. Treatment 7. Diagnostics 8. Prevention – vaccines 9. Summary

Słowa kluczowe: gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym, hantawirusowy zespół płucny, HFRS, HPS, orthohantavirus
Keywords: hemorrhagic fever with renal syndrome, hantavirus pulmonary syndrome, HFRS, HPS, orthohantavirus

1. Historia

Infekcje orthohantawirusami znane były już od średniowiecza. Jedno z pierwszych udokumentowanych zakażeń miało miejsce w 1485 roku w Anglii. Nagły atak wirusowej choroby zakaźnej określono wówczas jako angielskie poty lub „sudor anglicus”. Zgodnie z dostępnymi danymi historycznymi, ta wówczas tajemnicza choroba dotykała ludzi mających. W latach 1508,

1517, 1528 i 1551 miały miejsce kolejne cztery epidemie infekcji hantawirusowych. Różnice w czasie między powstawaniem ognisk choroby mogą wskazywać na szeroko rozpowszechnione wrota zakażenia. Choroba charakteryzowała się gwałtownym początkiem, skorelowanym z porą dnia (najczęściej do początku manifestacji objawów dochodziło w nocy lub rano). Występowały dreszcze, gorączka, wysypka oraz uczucie osłabienia. Po kilku godzinach od pierwszych objawów

* Autor korespondencyjny: dr hab. inż. Krzysztof Skowron, prof. UMK, Katedra Mikrobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. M. Curie Skłodowskiej 9, 85-067 Bydgoszcz, Polska; tel. 512-210-245; e-mail: skowron238@wp.pl

mogło dojść do zgonu pacjenta. Ogólna śmiertelność, według danych, waha się w granicach 5–90%, jednak większość źródeł podaje statystykę 30–50%. Po dobie „pocenia się” pacjent wracał do zdrowia [6, 23, 59].

Kolejną chorobą o etiologii hantawirusowej, znaną z zapisków historycznych, były „poty Pikardii”, występujące głównie na terenie Francji, ale także w Niemczech lub Włoszech w latach 1718–1861. Do objawów należały gorączka oraz poty, jednak w porównaniu do „angielskich potów”, „poty Pikardii” cechowały się dużo wyższym odsetkiem przeżywalności i dotyczyły głównie ubogiej ludności wiejskiej. Uważa się, że była ona powodem śmierci kompozytora Wolfganga Amadeusza Mozarta [6, 23].

Uważa się, że występujące podczas I wojny światowej okopowe zapalenie nerek ma najprawdopodobniej etiologię orthohantawirusową, podobnie jak występująca w czasie II wojny światowej choroba przebiegająca podobnie do zakażenia bakteriami z rodzaju *Leptospira* [9].

W latach 1951–1953, w czasie wojny w Korei, około 3000 żołnierzy uległo zakażeniu hantawirusami, które objawiało się w postaci manifestacji nerkowej ze wstrząsem i krwotokami. Śmiertelność wynosiła około 10%. Dopiero w 1976 roku wyjaśniono etiologię zachorowań z czasów wojny koreańskiej. Z materiału pobranego od myszy wyizolowano wirus *Haantan* [9].

W 1993 roku w Stanach Zjednoczonych miała miejsce epidemia nazwana „Four Corners”. Czynnikiem etiologicznym był wówczas nowo odkryty wirus *Sin*

Nombre, wyizolowany z materiału pobranego od myszy *Peromyscus maniculatus*. Powodował on zespół płucny o bardzo ciężkim przebiegu, jego śmiertelność wynosiła około 50%, a powodował go kontakt z odchodami gryzoni. Od kwietnia 1993 do maja 1993 CDC (ang. Centers for Disease Control and Prevention) doniosło o 24 przypadkach śmiertelnych [9, 10].

2. Systematyka rodzaju *Orthohantavirus* spp.

Wirusy z rodzaju *Orthohantavirus* spp. należą do podrodziny *Mammantavirinae*, do rodziny *Hantaviridae* oraz do rzędu *Bunyavirales* [1, 26].

Niektóre orthohantawirusy zakwalifikowane zostały dodatkowo do 3 głównych drzew filogenetycznych, w zależności od ich segmentów S. Podział ten stanowi przykład ko-ewolucji wirus–gospodarz, gdyż pokrywa się on z przenosicielami tych wirusów oraz interakcjami wirus–komórka i powodowanymi głównymi zespołami chorobowymi związanymi z infekcją orthohantawirusami [28, 41, 44, 48, 60].

Zestawienie wybranych przedstawicieli dotychczas zidentyfikowanych gatunków tego rodzaju oraz znanych gospodarzy i powodowane przez nie choroby, a także podział na wirusy Nowego i Starego Świata oraz główne ich lokalizacje przedstawiono w tabeli I. Z kolei przegląd najważniejszych informacji dotyczących omawianych wirusów przedstawiono na rycinie 1.

Tabela I
Zestawienie wybranych przedstawicieli rodzaju *Orthohantavirus*

Gatunek	Skrót	Nosiciel*	Choroba**	Główna lokalizacja
Stary świat (Old world)				
Dobrava-Belgrade orthohantavirus	DOBV	Muridae	HFRS	Słowenia, Bałkany
Hantaan orthohantavirus	HTNV	Muridae	HFRS	Korea Południowa, Chiny
Seoul orthohantavirus	SEOV	Muridae	HFRS	cały świat
Khabarovsk orthohantavirus	KBR	Arvicolinae	nieznana	wschodnia Rosja
Prospect Hill orthohantavirus	PHV	Arvicolinae	nieznana	Maryland (USA)
Puumala orthohantavirus	PUUV	Arvicolinae	HFRS/NE	Finlandia, Europa i Azja
Tula orthohantavirus	TULV	Arvicolinae	HFRS	Rosja, Europa
Nowy świat (New world)				
Andes orthohantavirus	ANDV	Cricetidae	HPS	Argentyna, Chile
Bayou orthohantavirus	BAYV	Cricetidae	HPS	Luizjana (USA)
Black Creek Canal orthohantavirus	BCCV	Cricetidae	HPS	Floryda (USA)
Cano Delgado orthohantavirus	CADV	Cricetidae	nieznana	Wenezuela
Choclo orthohantavirus	CHOV	Cricetidae	HPS	Panama
El Moro Canyon orthohantavirus	ELMC	Cricetidae	nieznana	Kalifornia (USA)
Laguna Negra orthohantavirus	LNV	Cricetidae	HPS	Paragwaj, Boliwia, Argentyna
Sin Nombre orthohantavirus	SNV	Cricetidae	HPS	Nowy Meksyk (USA)

* Muridae – myszowate; Arvicolinae – nornikowate; Cricetidae – chomikowate

** HFRS – gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym; HPS – hantawirusowy zespół płucny; NE – nefropatia epidemiczna [1, 26, 28, 41, 44, 48, 60].

ORTHOHANTAWIRUSY			
<p>HISTORIA</p> <ul style="list-style-type: none"> – pierwsza wzmianka w Anglii w 1485 roku, opis choroby jako angielskie poty – w XVI wieku epidemie hantawirusów – „poty Pikardii” opisane w XVIII i XIX wieku na terenie kilku państw europejskich – kolejne epidemie podczas I wojny światowej i wojnie w Korei – epidemia „Four Corners” na terenie USA w 1993 roku 	<p>SYSTEMATYKA</p> <ul style="list-style-type: none"> – podrodzina <i>Mammantavirinae</i> – rodzina <i>Hantaviridae</i> – rząd <i>Bunyavirales</i> – obecnie podział na wirusy Nowego Świata i Starego Świata 	<p>MORFOLOGIA</p> <ul style="list-style-type: none"> – wirion wielkości 80–120 nm – kształt kulisty – wielkość genomu szacowana n 11845–12317 pz – 3 pojedyncze nici RNA o polarności ujemnej (–) ssRNA 	<p>INFEKCJA</p> <ul style="list-style-type: none"> – infekcja dochodzi najczęściej poprzez układ oddechowy na skutek kontaktu z zainfekowanymi gryzoniami – 2 potaci choroby: zespół płucny oraz gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym – namnażanie w śródbłonku naczyń krwionośnych płuc i nerek, rzadziej innych narządów
<p>OBJAWY</p> <ul style="list-style-type: none"> – postać płucna: nagły początek, dreszcze, gorączka, kaszel, trudności z oddychaniem, obrzęk płuc, wymioty, bóle brzucha – postać nerkowa: objawy rozwijają się po kilku tygodniach, nagły początek, niewydolność nerek, krwotoki wewnętrzne, bóle brzucha, gorączka, wymioty, białkomocz, zespół wykrępowania wewnątrznaczyniowego, hipotensja 	<p>DIAGNOSTYKA</p> <ul style="list-style-type: none"> – wykrywanie materiału genetycznego wirusów – testy serologiczne np. test ELISA – barwienie immunohistochemiczne – PCR 	<p>LECZENIE</p> <ul style="list-style-type: none"> – farmakoterapia skupia się na leczeniu objawowym i przywróceniu funkcji zainfekowanych narządów – zespół płucny: tlenoterapia, płynoterapia, aminy wazopresyjne, albuminy – zespół nerkowy: płnoterapia, tlenoterapia, dializoterapia, transfuzja krwi, inhibitory pompy protonowej, antagoniści receptorów H2, leki wazokonstrykcyjne 	<p>SZCZEPIONKI</p> <ul style="list-style-type: none"> – na terenie Europy brak dostępnych środków o potwierdzonej skuteczności – produkcja szczepionek odbywa się głównie w Azji, stosowane są głównie szczepionki inaktywowane

Ryc. 1. Najważniejsze informacje dotyczące hantawirusów

3. Morfologia

3.1. Genom

Wirusowy genom osiąga wielkość 11845–12317 pz, składa się z 3 pojedynczych, nici RNA o polarności ujemnej (–) ssRNA i określany jest w piśmiennictwie jako trójdzielny. Wyróżnia się w nim 3 fragmenty: duży – L (ang. large), kodujący białko L, średni – M (ang. medium), kodujący prekursor dla glikoprotein Gn i Gc oraz mały – S (ang. small), kodujący białko nukleokapsydowe. Te zaś są podzielone na region 3'–niekodujący, region 5' oraz region kodujący. Białko L spełnia funkcję polimerazy RNA, endonukleazy, replikazy i transkryptazy. Fragment długi i średni wykazują stałość, natomiast fragment krótki różni się długością u poszczególnych gatunków. Ich produkty charakteryzują się podobną długością u poszczególnych gatunków hantawirusów. Cały zaś genom wykazuje około 60–70% zgodności międzygatunkowej [18, 19, 28, 42, 47].

Rybonukleoproteiny to pojedyncze segmenty RNA połączone z białkiem N, które z racji braku białek macierzy przejmują ich funkcje a także odpowiadają za nitkowaty wygląd wirionów hantawirusowych [19, 28, 47].

Jak każdy *Bunyavirus*, genom przybiera okrągły kształt, powstały na skutek łączenia końców 3' i 5', które charakteryzują się komplementarnością, co pozwala im tworzyć struktury typu „paletki” (ang. *panhandle*

structures) o zaburzonej komplementarności i wielkości 17 pz, z czego 14 pz wykazuje swoistość dla danego gatunku. Uważa się, że uczestniczą one w procesach replikacji oraz transkrypcji. Końce 5' zakończone są sekwencją UAG, która powtarza się trzy razy. Posiadają one 10–18 nukleotydów pochodzących od gospodarza oraz czapkę (kap) zawierającą resztę metylową. Wirusolodzy zwracają szczególną uwagę na NCR na końcu 3' w segmencie S, który cechuje się dużą zmiennością długości, wahającej się w granicach 229–728 pz [19, 28, 47].

W niektórych gatunkach, takich jak np. *Bayou*, *Puumala* czy *Tula*, obecna jest otwarta ramka odczytu dla białka NS, kodowana przez fragmenty M i S, która koduje Gn i Gc. Struktura ta nie występuje jednak w komórkach zainfekowanych gospodarza, z wyjątkiem wirusa *Puumala*. Nie zostało jednak ustalone, dlaczego wirusy zbliżone do hantawirusów nie posiadają otwartej ramki odczytu. Białka NS nie posiadają za to wirusy *Seoul* i *Hantaan* [19, 28, 47].

3.2. Budowa wirionu

Wiriony mają zazwyczaj długość 80–120 nm, przybierają kulisty kształt, a ich kapsyd zbudowany jest z białka nukleokapsydowego N, bogatego w cysteinę i układającego się w trimery [28, 42, 54]. Występują jednak także gatunki osiągające 160 nm, a formy

pleomorficzne mogą osiągać rozmiary 78–210 nm [54, 62]. Zewnętrzna powierzchnia, podobnie jak w innych Bunyawirusach, tworzy kwadratową, siatkowatą strukturę, a jej glikoproteiny Gn i Gc, tworzące wypustki, sięgają 6 nm (według innych danych 7 nm lub 12 nm) od podwójnej otoczki lipidowej i tworzą struktury na kształt kolców [19, 28, 54, 56]. Osłonka wirionu zbudowana jest głównie z błon pochodzących z aparatu Golgiego. Oprócz aminokwasów, zawierają one 2–7% węglowodanów i 20–30% lipidów.

Wiriony wykazują gęstość na poziomie 1,16–1,25 g/cm³, w zależności od roztworu [19, 54]. Optymalnym pH jest dla nich 5,8–9,0, a wirus pozostaje zjadliwy w temperaturze 4–42°C przez okres 1–3 dni. Masa molekularna wynosi 300–400 × 10⁶ [54].

4. Mechanizm infekcji

4.1. Droga zarażenia

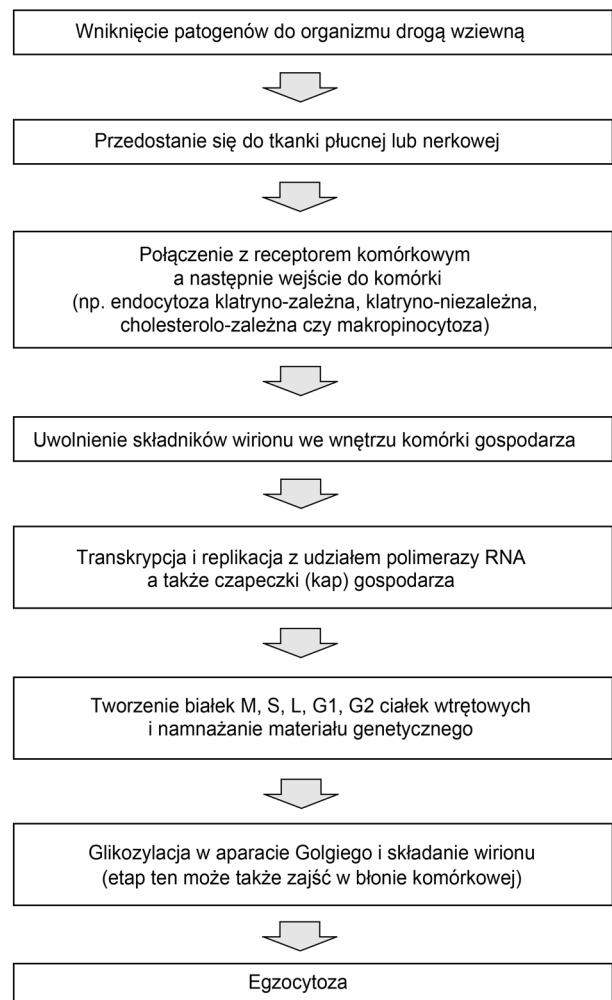
Wirus do organizmu człowieka dostaje się najczęściej drogą wziewną wraz z odchodami i wydzielinami gryzoni [3]. Znane są także przypadki zakażenia *Andes orthohantavirus* od drugiego człowieka, natomiast *Puumala orthohantavirus* może zostać przeniesiony poprzez transfuzję składników krwi, przede wszystkim płytek krwi. Vaheri i wsp. [60] w swoim artykule przeglądowym opublikowanym w 2013 roku twierdzą, że infekcje przewlekłe związane z zakażeniem tym patogenem nie zostały do tej pory odnotowane. Wirusy z rodzaju *Orthohantaviruses* spp. prowadzą do zakażeń o ostrym przebiegu, dotyczących głównie układu hormonalnego, nerek, płuc, serca oraz OUN (ośrodkowy układ nerwowy). Wyróżnia się 2 główne obrazy kliniczne: gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym (HFRS – haemorrhagic fever with renal syndrome) oraz hantawirusowy zespół płucny (HPS – hantavirus pulmonary syndrome). Oba zespoły kliniczne są prawdopodobnie tą samą chorobą o różnym obrazie klinicznym – Vaheri i wsp. [60] zalecają nazywać je chorobami hantawirusowymi. Objawy obu tych zespołów związane są z odpowiedzią komórkową swoistą i nieswoistą (wrodzoną) oraz bezpośrednim wpływem wirusa na śródbłonek [44, 60].

4.2. Cykl replikacyjny

Cykl replikacyjny hantawirusów przedstawiono na rycinie 2.

Do replikacji hantawirusów dochodzi głównie w śródbłonku naczyń krwionośnych, przede wszystkim nerek i płuc, a także w makrofagach [44, 60]. W warunkach *in vitro*, integryny stanowią główne receptory dla tych wirusów, jednak nie jest to potwierdzone *in vivo*.

Kolejnym etapem po połączeniu wirusa ze swoistym receptorem komórkowym jest jego wejście do komórki. Nie istnieje jeden sposób, na który wirusy z rodzaju *Orthohantavirus* spp. dokonują tej czynności. Przykładowo, HTNV wnika do komórki gospodarza na drodze endocytozy klatryno-zależnej, podczas której następuje pobranie wirusa w specjalnym pęcherzyku endocytarnym pokrytym klatryną. Do innych alternatywnych sposobów wnikania należą klatryno-niezależna endocytoza mediowana receptorem, makropinocytoza, endocytoza cholesterolo-zależna, endocytoza pęcherzykowo-zależna oraz prawdopodobnie inne ścieżki, które do tej pory nie zostały jeszcze poznane. Zamknięcie cząsteczki wirusa w pęcherzyku błonowym zapobiega jego degradacji przez lizosomy. Po internalizacji komórki wirusa, na skutek zmniejszonego pH we wnętrzu endosomu dochodzi do jego odłączenia od receptorów komórkowych. Następuje także zmiana konformacji glikoprotein, co umożliwia fuzję błony komórkowej i wirusa, a ostatecznie odpłaszczenie, czyli uwolnienie do cytoplazmy komórki gospodarza materiału genetycznego w postaci trzech rybonukleoprotein [14, 28, 60].



Ryc. 2. Cykl replikacyjny hantawirusów

Zarówno transkrypcja, jak i replikacja wirusów związana jest z wirusową polimerazą RNA zależną od RNA (RdRp). Hantawirusy nie są w stanie samodzielnie zsyntetyzować czapeczki (kap) na koniec 5' mRNA, dlatego przeprowadzają tzw. *cap snatching*, czyli wykorzystują czapeczki (kap) mRNA gospodarza przeznaczone do degradacji. Proces ten zachodzi w cytoplazmatycznych ciałkach P i umożliwia translację [60].

Białko N ma kluczowe znaczenie w cyklu życiowym wirusa i jest tworzone w początkowym etapie infekcji – sugeruje się, że może mieć ono wpływ na odpowiedź immunologiczną gospodarza. Przed transkrypcją dochodzi do rozszczepienia mRNA przez RdRp, co umożliwia utworzenie starterów otoczonych czapeczką (kap) [45]. Pierwotna transkrypcja prowadzi do powstania mRNA wirusowych białek S, M i L. Fragment M odpowiada za kodowanie prekursorów glikoprotein powierzchniowych G1 i G2, fragment S służy za matrycę dla białka N, natomiast fragment L koduje RdRp. Następnie na wolnych rybosomach dochodzi do translacji fragmentów kodujących mRNA białek S i L, natomiast translacja fragmentu mRNA kodującego białko M ma miejsce w retikulum endoplazmatycznym. W cytoplazmie dochodzi także do tworzenia się złożonych z wirusowych nukleoprotein ciałek wtętoowych. Ostateczna glikozylacja zachodzi w kompleksie Golgiego, do którego transportowane są powstałe glikoproteiny G1 (Gn) i G2 (Gc) [28, 44, 45].

Po replikacji wirusowego RNA dochodzi do jego składania w aparacie Golgiego lub, w przypadku wirusów Nowego Świata, do jego alternatywnego składania w błonie komórkowej. W wyniku enkapsydacji kopii wirusowego RNA przez białko N dochodzi do powstania rybonukleoprotein. Dyneina umożliwia ich transport wzdłuż mikrotubul do ERGIC (*ER-Golgi intermediate compartment* – przedział pośredni między aparatem Golgiego a retikulum endoplazmatycznym), gdzie dochodzi do formowania wirionów. Kolejnym etapem jest utworzenie pęcherzyka wydzielniczego zawierającego cząstkę wirusa w cysternach aparatu Golgiego, który następnie transportowany jest do błony komórkowej gospodarza, gdzie okrywany jest błoną białkowo-lipidową i uwalniany z komórki na drodze egzocytoty [28, 44, 60].

5. Chorobotwórczość

Wirusy z rodziny *Hantavirus* wywołują hantawirusowy zespół płucny (HPS – hantavirus pulmonary syndrome), określane niekiedy jako zespół sercowo-płucny (HCPS – hantavirus cardio-pulmonary syndrome), oraz gorączkę krwotoczną z zespołem nerkowym (HFRS – hemorrhagic fever with renal syndrome) [27]. Zakażenia związane są z kontaktem z gryzoniami, które sta-

nowią główny rezerwuuar drobnoustrojów. Nie udokumentowano transmisji z człowieka na człowieka, jednak taka droga szerzenia się infekcji jest możliwa – opisano przypadki na terenie Ameryki Południowej [27].

Pierwsze schorzenie zostało opisane w 1993 roku, podczas epidemii w Stanach Zjednoczonych, nazwanej „Four Corners”, spowodowanej odkrytym przy tej okazji wirusem *Sin Nombre* [24]. Przyczyną jest infekcja takimi wirusami, jak: wirus Andów, wirus Bayou, wirus Black Creek Canal, wirus New York, wirus Monongahela oraz wymieniony wcześniej wirus *Sin Nombre*. Choroba występuje głównie na terenie Ameryki Północnej i Ameryki Południowej [37, 38].

Hantawirusowy zespół płucny cechuje się gwałtownym, nagłym początkiem, a objawy pojawiają się do 8 tygodni od infekcji. Zalicza się do nich: gorączkę, kaszel, dreszcze, uczucie zmęczenia, nudności i wymioty, ból i zawroty głowy, osłabienie apetytu, bóle stawowo-mięśniowe, sztywność mięśni, ból brzucha, biegunki, trudności z oddychaniem, tachypnoe (ang. *tachypnea* – przemijający, szybki oddech), uczucie ucisku na klatkę piersiową, obrzęk płuc, tachykardię, hipotensję oraz powiększenie śledziony. Objawy te dotyczą około 50% chorych. W skrajnych przypadkach może dojść do zaawansowanej duszności, niewydolności oddechowej oraz wstrząsu kardiogenego. Wyróżnia się dwie fazy choroby: wczesną, gdzie dominują objawy niespecyficzne, a także późną, która rozwija się do 10. dnia po rozwinięciu się fazy wczesnej (występują tutaj: kaszel, obrzęk płuc, uczucie ucisku na klatkę piersiową oraz duszności). Śmiertelność szacuje się na poziomie 38–40% [20, 27, 37].

Do możliwych manifestacji HPS zalicza się również zapalenie mięśnia sercowego. Saggiaro i wsp. [50] w 2007 roku porównali mięśnie sercowe osób zmarłych na hantawirusowy zespół płucny z sercami osób, których zgony nastąpiły z innych przyczyn. Badacze ci stwierdzili, że w tkance mięśniowej pobranej od osób z HPS występuje antygen hantawirusowy, a także wyższe stężenia makrofagów, TNF- α , TNF- γ , limfocytów Th1, limfocytów Th2 i limfocytów B. Zaobserwowano również obszary martwicy miocytów [50].

Uważa się, że podczas rozwoju HPS limfocyty T CD8+ działają na endotelocyty, w wyniku czego dochodzi do uszkodzenia śródbłonka, aktywacji limfocytów oraz przecieku naczyniowego [37, 49, 58]. Po wnikięciu patogenów, na skutek replikacji, dochodzi do zaburzenia integralności śródbłonka. Zachodzi połączenie pomiędzy hantawirusami a receptorami β 3-integrin, co wiąże się ze wzrostem przepuszczalności ścian naczyń. Wpływa na to również blokowanie przez te drobnoustroje aktywacji trombocytów (powstaje poinfekcyjna trombocytopenia, która jest również wynikiem napływu trombocytów do zajętego przez hantawirusy śródbłonka). Innym czynnikiem

zmienionej przepuszczalności jest wzrost stężeń VEGF (vascular endothelial growth factor – czynnik wzrostu śródbłonna naczyńniowego) poprzez niedotlenienie i jego łączenie z receptorem R2 oraz zmniejszenie stężeń VE-kadheryn, co skutkuje niszczeniem wiązań przylegających w śródbłoku [21, 37].

Borges i wsp. [5], analizując 21 przypadków HPS doszli do wniosku, że w odpowiedzi immunologicznej bierze udział interleukina-6, limfocyty Th1 (wzrost stężenia odpowiedni do zaawansowania choroby) oraz limfocyty Th2 (odpowiedź zarówno komórkowa, jak i humoralna). Spada natomiast stężenie TGF- β [5]. Potwierdzono również obecność interferonu gamma, interleukiny-1 i TNF-alfa [37].

Diagnostyka hantawirusowego zespołu płucnego może sprawiać trudności, ze względu na rzadkość występowania oraz początkowe niespecyficzne, grypopodobne objawy. Kluczowym elementem jest wywiad, ukierunkowany na ekspozycję na gryzonie. Informacja ta, w połączeniu ze skróconym, spłyconym oddechem i gorączką może świadczyć o infekcji hantawirusami [27]. W badaniach laboratoryjnych natomiast obserwuje się małopłytkowość, leukocytozę czy podwyższony hematokryt i kreatyninę. Charakterystyczną cechą jest również obecność specyficznych immunoglobulin M oraz wzrost miana specyficznych przeciwciał w klasie IgG. Za pomocą PCR (polimerase chain reaction) można wykryć też materiał genetyczny wirusa [37, 38].

MacNeil i wsp. [38] w 2011 roku opublikowali wyniki analiz przypadków hantawirusowego zespołu płucnego z lat 1993–2009, obejmujących 510 pacjentów. Na terenie Stanów Zjednoczonych dochodziło co roku do 11–48 infekcji. Średni wiek chorych wynosił 38 lat, przedział wiekowy większości zachorowań mieścił się natomiast w granicach 20–50 lat. Wśród zachorowań, 78% dotyczyło rasy kaukaskiej, 64% obejmowało mężczyzn, a 7% stanowiły dzieci. Zgony wystąpiły w 35% przypadków HPS. Czas od pierwszej manifestacji infekcji do śmierci pacjenta wynosił średnio 6 dni. Chorzy w badaniach obrazowych mieli uwidocznione cechy ARDS (ang. *acute respiratory distress syndrome*), występowały również nacieki płucne [38].

Gorączkę krwotoczną z zespołem nerkowym stanowi natomiast kilka chorób podobnych do siebie pod względem klinicznym oraz etiologicznym. Wywołują ją takie patogeny, jak: wirus Dobrava, wirus Hantaan, wirus Saaremaa, wirus Seoul oraz wirus Puumala. Choroba występuje na całym świecie (Hantaan jest obecny w Azji; Dobrava, Saaremaa i Puumala w Europie; natomiast Seoul stanowi gatunek kosmopolityczny) [27].

Pierwsze objawy choroby pojawiają się do 2 tygodni od infekcji, choć mogą być też niezauważalne przez pierwsze 8 tygodni. HFRS charakteryzuje się nagłym początkiem i występowaniem m.in. bólów głowy, brzucha i pleców, gorączki, nudności, wymiotów, zaburze-

niami widzenia oraz obecnością stanu zapalnego w obrębie oka. W zaawansowanej fazie choroby pojawiają się hipotensja, niewydolność nerek, krwotoki, przecieki naczyńniowe, nadmiar płynów w organizmie, krwimocz, białkomocz, DIC (ang. *disseminated intravascular coagulation* – zespół wykrzepiania wewnątrznaczyniowego), a także wstrząs. Za triadę charakterystycznych dla HFRS objawów uważa się: gorączkę, niewydolność nerek i krwawienia. Wyróżnia się 5 faz przebiegu choroby:

- 1) faza gorączkowa – faza ta charakteryzuje się nagłym początkiem, występuje gorączka, leukocytoza, dreszcze, bóle głowy i pleców. Za wzrost temperatury oraz wzrost stężenia krwinek białych odpowiada interleukina-1, TNF- α oraz interferon- γ .
- 2) faza hipotensji – w fazie tej pojawia się trombocytopenia, tachykardia, hipotensja, zaczerwienienie skóry i niedotlenienie. W wyniku infekcji patogenami następują zaburzenia przepuszczalności śródbłonna, rozszerzenie naczyń oraz gromadzenie się płynu w przestrzeni pozaotrzewnowej, osierdziu, czy opłucnej. W ciężkich postaciach może dojść do wstrząsu.
- 3) faza skąpomoczu – pojawia się niewydolność nerek (w niektórych przypadkach nieodwracalna) z białkomoczem. Następuje spadek filtracji kłębuszkowej i wzrost stężeń kreatyniny oraz mocznika, rozwija się również azotemia. Hipotensja pogłębia objawy niewydolności, dochodzi też do obrzęku nerek i uszkodzenia cewek nerkowych.
- 4) faza wielomoczu – ilość moczu oddawanego przez pacjentów może wynosić nawet do 6 litrów na dobę. W fazie tej, podobnie jak w fazie poprzedniej, może dojść do krwawień z naczyń zaopatrujących płuca, a także do obrzęku płuc, spowodowanego wzrostem przepuszczalności śródbłonna, czego skutkiem może być rozwinięcie wstrząsu. W wyniku wzrostu oporu naczyńniowego oraz odwrócenia przecieku rozwija się także nadciśnienie tętnicze. Zazwyczaj wielomocz świadczy o początkach procesów rekonwalescencji zachodzących w nerce.
- 5) faza zdrowienia – następuje powrót do zdrowia. Trwa on od kilku tygodni do kilku miesięcy.

Śmiertelność zależy od gatunku wirusa, który spowodował HFRS. Wirus Hantaan powoduje śmierć około 5–15% pacjentów, natomiast infekcja wirusem Puumala kończy się zgonem w mniej niż 1% wszystkich przypadków [17, 27, 31, 36]. Metodami diagnostycznymi są m.in. testy serologiczne (np. testy immunofluorescencyjne czy ELISA), barwienie immunohistochemiczne oraz wykrywanie wirusowego materiału genetycznego [27, 31, 46].

Golovljova i wsp. [22] przedstawili w 2007 roku wyniki analiz dotyczących gorączki krwotocznej z zespołem nerkowym na terenie Estonii. Badali oni suro-

więc ponad 300 pacjentów podejrzanych o HFRS. U 25 chorych określono etiologię: u 21 odpowiedzialny za chorobę był wirus Puumala, u 3 wirus Saaremaa, a u 1 – wirus Dobrava. Infekcja najczęściej manifestowała się bólem pleców, zaburzeniem funkcji nerek i podwyższeniem temperatury ciała. Często występował również skąpomocz z następującym po nim wielomoczem (częstość objawów zależna była od czynnika etiologicznego). Do rzadziej występujących objawów należały dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego, krwotoki, a także zaburzenia widzenia, choć autorzy wspominają, iż te ostatnie w innym badaniu występowały aż w 83%. Zakażenia wirusem Puumala oraz wirusem Saaremaa powodowały trombocytopenię odpowiednio w ponad 57% i 33% przypadków, natomiast wszystkie infekcje tymi wirusami skutkowały wzrostem stężeń kreatyniny. Nieprawidłowości te nie wystąpiły jednak u pacjenta, u którego choroba spowodowana była przez wirusa Dobrava [22].

W 2007 roku w Szwecji doszło do wybuchu HFRS, spowodowanej wirusem Puumala. Doszło wówczas do infekcji oraz następnej nefropatii 313 osób na każde 100 000. Dominowała łagodna postać choroby. Jedynie około 30% wszystkich przypadków wymagało hospitalizacji, a 2 przypadki zakończyły się zgonem. Inną epidemią była ta z 2017 roku, obejmująca Kanadę oraz Stany Zjednoczone. Czynnikiem etiologicznym był wówczas wirus Seoulu, a infekcje wykryto u 17 osób i 31 gryzoni [27, 46].

Anderson i wsp. [2] donieśli w 2016 roku o przypadku wystąpienia neuropatii z charakterystycznym bólem neuropatycznym powstałej na skutek infekcji orthohantawirusem [2].

6. Leczenie

Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy medycznej, nie istnieje terapia przeciwhantawirusowa o potwierdzonej skuteczności. Leczenie pacjentów opiera się na rekonwalescencji zainfekowanych układów (sercowo-naczyniowego, wydalniczego i oddechowego), gdzie płynoterapia, kontrola gospodarki elektrolitowej oraz zapobieganie niedociśnieniu odgrywają kluczową rolę. Mimo wprowadzenia odpowiedniej opieki medycznej, szacuje się, że w ciągu 48h umiera około 1/3 pacjentów zakażonych orthohantawirusami [43, 51].

Istotą leczenia zespołu płucnego jest płynoterapia, stosowanie respiratora oddechowego oraz kontrola pracy serca. W przypadku zaburzeń hemodynamicznych, konieczna jest podaż amin wazopresyjnych, natomiast niedociśnienie oraz wstrząs kardiogeny leczy się poprzez zastosowanie, oprócz amin, także albumin, środków o działaniu inotropowym-dodatnim i krystaloidów. Nadmierna ilość płynów w stosunku do leków

inotropowych może prowadzić do rozwoju obrzęku płucnego. Podobnie jak w przypadku zespołu nerczycowego, stosowanie kortykosteroidów oraz rybawiryny jest dyskusyjne [7, 43, 51].

Inną metodą terapii ciężkich przypadków hantawirusowego zespołu płucnego jest zastosowanie pozaustrojowego utleniania krwi (ECMO). Badanie Changa i wsp. [12] z 2007 roku wykazało, że metoda ta istotnie zwiększa szanse na przeżycie. Spośród 38 pacjentów z ECMO przeżyło 23. Szacunkowo, bez użycia pozaustrojowego utleniania krwi umierałby każdy pacjent z zespołem płucnym rozwiniętym w stopniu ciężkim. Szacuje się, że metoda ta jest skuteczna w 2/3 przypadków wszystkich zachorowań [8, 12, 32, 51]. Yao i wsp. [63] donieśli natomiast o przypadku ciężkiej infekcji, niepodatnej na terapię, skutecznie wyleczonej dzięki zastosowaniu ECMO [63]. Buggedo i wsp. [8] twierdzą natomiast, że metodą skuteczniejszą od ECMO jest hemofiltracja o dużej objętości (HFAV) [8].

W oparciu o mechanizm działania rybawiryny, stworzono analogi nukleozydów FPI i ETAR, potwierdzając działanie pierwszego w testach *in vitro*, a drugiego – w testach *in vivo* na modelu mysim [51].

W farmakoterapii zakażeń hantawirusowych stosowany jest także lek przeciw grypowy – arbidol. Środek ten wpływał na redukcję powikłań chorobowych, zmniejszał śmiertelność oraz indukował zmiany stężeń TNF-alfa [51]. Oprócz tego stosuje się także fitoterapię w postaci podaży oksymatryny.

Do metod immunoterapii zalicza się surowice poliklonalne oraz przeciwciała monoklonalne, chroniące przed infekcją lub łagodzące przebieg choroby [51].

Vial i wsp. [61] stosowali na pacjentach zakażonych wirusem Andes, należącym do orthohantawirusów, plazmareferezę oraz osocze. W latach 2008–2012 terapię tę wprowadzono w 29 przypadków infekcji. Śmiertelność przy tym sposobie leczenia wyniosła 14% (4 zgony), nieleczonych natomiast około 30% (101 zgonów na 325 pacjentów z rozpoznaniem zakażenia) [61]. W zakażeniach tym patogenem podawanie wandetanibu również przynosi korzyści w postaci redukcji wysięków [4].

Leczenie gorączki krwotocznej polega na podaży elektrolitów, tlenu oraz płynów (krystaloidy i koloidy), a w przypadku niewydolności nerek, kwasicy, braku odpowiedzi na środki moczopędne lub hiperkaliemii i-dializoterapii. Wymagana jest stała kontrola poziomu jonów w celu zapobiegnięcia rozwoju wielomoczu. Podaż krystaloidów chroni natomiast przed niedociśnieniem i ewentualnym wstrząsem hipowolemicznym, a podaż koloidów – przed powstawaniem obrzęków. Jeśli nie udaje się uzyskać oczekiwanych wartości ciśnienia, możliwe jest stosowanie leków wazokonstrykcyjnych, do których należą m.in. adrenalina czy dopamina [43, 51].

W przypadku wystąpienia skazy krwotocznej oraz następczego krwawienia, konieczna jest transfuzja krwi i zastosowanie farmakoterapii w postaci antagonistów receptorów H₂ lub inhibitorów pompy protonowej. Świeżo mrożone osocze oraz plazmaferezę stosuje się, kiedy dochodzi do powstania zespołu DIC (zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego) [43, 51].

W leczeniu gorączki krwotocznej znajdują zastosowanie także glikokortykosteroidy, jednak brakuje badań jednoznacznie potwierdzających ich skuteczność. Dowiedziono natomiast, że leki te cofają patologiczne zmiany w układzie oddechowym, a także podnoszą liczbę trombocytów w przebiegu zakażeniem wirusem Puumala [43, 51].

Innym lekiem podawanym chorym z HFRS jest rybawiryna. Jej skuteczność opiera się na nie poznanym dotąd mechanizmie, jednak stwierdzono, że podana w początkowym okresie choroby zwiększa odsetek przeżyć [32, 43, 51].

W przypadku zakażeń hantawirusami osób (głównie dzieci z niedoborami odporności na skutek hemofagocytarnej limfocytozy), niezbędne jest zastosowanie immunochemioterapii, która pozwala zredukować groźny stan zapalny i znacząco zmniejsza śmiertelność w tej grupie pacjentów. Inną metodą jest podawanie antygeny limfocytów T- CAR (chimeric antigen receptor T cell), wiążącą się jednak z wystąpieniem stanu zapalnego, w którego powstawaniu najprawdopodobniej bierze udział interleukina-6 [32].

7. Diagnostyka

Wśród najczęstszych odchyłeń w badaniach laboratoryjnych występujących zarówno w przypadku HPS (hantawirusowy zespół płucny, głównie w Ameryce Północnej i Południowej) jak i HFRS (gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym, głównie w Europie i Azji) wymienia się: trombocytopenia, leukocytoza, białkomocz, krwimocz, podwyższone stężenie kreatyniny, podwyższony hematokryt. W zależności od zajętego przez proces chorobowy organu, wystąpić mogą również inne odchylenia w badaniach [11, 15, 33, 35, 40, 57].

W trakcie procesu diagnostyki laboratoryjnej standardowo nie wykonuje się izolacji hantawirusów na drodze hodowli komórkowej ze względu na zmusność i czasochłonność procedury, konieczność posiadania specjalnie wykwalifikowanego personelu i laboratorium spełniającego normy 3 klasy bezpieczeństwa biologicznego. Zakażenia hantawirusami przebiegające pod postacią HPS czy HFRS mają gwałtownie postępujący przebieg i mogą zostać mylnie zinterpretowane jako leptospiroza, zespół hemolityczno-mocznicowy bądź zakażenie septyczne. Z tego względu, kluczowe w kontekście diagnostyki zakażenia hantawirusami jest

zastosowanie szybkich testów o wysokiej swoistości. Obecnie stosowane czułe metody diagnostyczne opracowano w oparciu o zdolność do wykrywania genomu wirusowego lub swoistych przeciwciał występujących w surowicy krwi [11, 16, 33].

Większość testów diagnostycznych służących do wykrywania zakażenia hantawirusami opiera się o badania serologiczne np. metody immunofluorescencyjne, immunoblot czy ELISA. Obecność przeciwciał klas zarówno IgM, jak i IgG, w zdecydowanej większości przypadków może zostać stwierdzona już w momencie pojawienia się pierwszych objawów klinicznych. Metoda ELISA może zostać skutecznie wykorzystana niezależnie od fazy przebiegu zakażenia, a jej niewątpliwymi zaletami jest czułość, łatwość wykonania i niski koszt. Niestety, w przypadku testów ELISA może wystąpić reakcja krzyżowa z nieswoistymi przeciwciałami IgM, co może w rezultacie dać wynik fałszywie dodatni badania [11, 29, 33].

W sytuacjach, gdy wyniki testów ELISA budzą wątpliwości co do obecności zakażenia, często wykorzystywaną metodą o większej czułości i swoistości jest immunoblot. Główną wadą dotyczącą wykorzystania w trakcie diagnostyki metod immunoblot jest większy koszt oraz dłuższy czas przeprowadzenia w stosunku do ELISA [33].

Inną metodą, którą można zastosować w celu diagnostyki zakażenia hantawirusami, jest test neutralizacji. W tym sposobie wykorzystuje się przeciwciała neutralizujące, których cel stanowią białka otoczki wirusa. Test ten cechuje się najwyższą swoistością, ale jest kosztowny, wymaga dużej ilości czasu i jest trudny do przeprowadzenia [33].

Sposobem na łatwe zidentyfikowanie genomu hantawirusa we krwi lub ślinie jest wykorzystanie reakcji PCR z odwrotną transkryptazą (ang. *RT-PCR*, *Reverse Transcriptase Polymerase chain reaction*) z odwrotną transkryptazą. Metoda ta charakteryzuje się wysoką czułością i swoistością oraz krótkim czasem przeprowadzenia. PCR z odwrotną transkryptazą umożliwia rozpoznanie zakażenia hantawirusowego tylko w trakcie fazy wiremii (wczesna faza zakażenia) i jest droższy w stosunku do metod serologicznych. Jego droższą alternatywę stanowi reakcja PCR w czasie rzeczywistym, do którego zalet należy jeszcze szybszy czas przeprowadzenia i mniejsze ryzyko zanieczyszczenia materiału badawczego. Niemniej jednak poważnym ograniczeniem w powszechnym stosowaniu metod PCR pozostaje ich użyteczność tylko w trakcie ostrej fazy zakażenia [29, 33].

W trakcie diagnostyki zakażenia hantawirusami, najlepszą metodą pozostaje połączenie testów serologicznych (np. ELISA) z metodami PCR, umożliwiającymi identyfikację na podstawie struktury genomu wirusa, np. RT-PCR. W celach identyfikacji i klasy-

fikacji nowych szczepów wirusów zachodzi konieczność wykorzystania metod umożliwiających ustalenie sekwencji nukleotydowych wirusa [33, 57].

8. Profilaktyka – szczepionki

Szczepionki znacznie przyczyniają się do kontroli chorób zakaźnych. Również w przypadku hantawirusów udało się uzyskać wystarczająco wysokie miana, dzięki inokulacji wirusa do mózgów gryzoni. Inaktywowane szczepionki przeciwko gorączce krwotocznej z zespołem nerkowym (HFRS, ang. *hemorrhagic fever with renal syndrome*) zostały opracowane i przetestowane na ludziach w Azji, aczkolwiek nie zostały dopuszczone do użytku w Stanach Zjednoczonych. Nie ma również dostępnych szczepionek przeciwko HFRS w Europie, a także nie prowadzi się w tym kierunku żadnych badań naukowych, ani nie podejmuje prób otrzymania licencji na szczepionki azjatyckie mimo, że spełniają europejskie standardy. Pochodzą one zarówno z mózgów gryzoni, jak i hodowli bakteryjnej (powstałej na skutek pobrania patogenów od osoby zainfekowanej), aczkolwiek nie są popularne w krajach zachodnich, ze względu na obawę, że mogłyby prowadzić do autoimmunologicznego zapalenia mózgu. W konwencjonalnych szczepieniach stosowana jest inaktywowana szczepionka Hantavax®, czyli inaktywowana szczepionka, pochodząca z mózgów myszy, stosowana w Korei Południowej od 1991 roku. Preparat z mysich mózgów zostaje inaktywowany za pomocą formaliny, a następnie dodaje się do niego wodorotlenek glinu. Hantavax® spełnia wymogi dla produktów biologicznych, takie jak siła działania, sterylność, bezpieczeństwo, pH, odpowiednie stężenie formaliny. Według wytycznych z 1991 roku szczepionkę podaje się w dwóch seriach, w odstępie jednego miesiąca, a po 12 miesiącach należy podać dawkę przypominającą. Szczepienie wyzwała odpowiedź przeciwciał w większości przypadków, ale tylko w połowie obecne były przeciwciała neutralizujące. Liczba hospitalizacji z powodu HFRS w Korei Południowej zmalała w latach 1991–1997 z 1234 do 415 przypadków. Song i wsp. [55] przeprowadzili badanie, które wykazało, że podanie dwóch dawek Hantavaxu® zazwyczaj nie powoduje immunogenności. Zalecili więc zmianę w podawaniu dawki przypominającej. Podanie dodatkowej dawki po 2–6 miesiącach wydaje się rozsądniejsze, gdyż indukuje odpowiedź seropozytywną, która utrzymuje się około 2 lat i gwarantuje ochronę u osób narażonych. Na wydłużenie okresu immunogenności może wpływać obecność kilku genów związanych z immunoglobulinami, np. NAMPT przedłużające życie limfocytów, czy NADSYN1. Oprócz tego odnotowuje się wpływ metabolitów kwasu foliowego (aktywacja odpowiedzi immu-

nologicznej komórkowej) i kwasu arachidonowego (regulacja odpowiedzi, m.in. przy pomocy komórek tucznych) [13, 30, 39, 52, 53, 55].

W Chinach produkuje się nieaktywne szczepionki monowalentne przeciwko HTNV i SEOV z nerek suwaka mongolskiego lub hodowli komórkowej pochodzącej od chomika syryjskiego. W porównaniu do obu powyższych szczepionek przeciwko HTNV, które wyzwalają przeciwciała neutralizujące tylko w połowie przypadków, szczepionka przeciwko SEOV wyzwała je u około 80% pacjentów, którzy przyjęli 3 dawki. Również w Chinach opracowano nieaktywną, biwalentną szczepionkę HTNV/SEOV, składającą się z wyizolowanego HTNV od chorego na HFRS oraz wyizolowanego ze szczura SEOV. Wirusy te zostały namnożone w komórkach nerkowych chomika, inaktywowane za pomocą formaldehydu, oczyszczone w kolumnie chromatograficznej oraz dodano do nich wodorotlenek glinu. Po 3 dawkach tej szczepionki rozwinęły się przeciwciała neutralizujące przeciwko HTNV w 93% przypadków i przeciwko SEOV w 92% [39, 53, 64].

Również w Rosji stworzono inaktywowaną szczepionkę biwalentną PUUV/DOBV. Użyto szczepów PUUV Ufa-97 i DOBV-Aa Lipetzk-06, które hodowano w komórkach Vero E6 (linii komórkowej wytwarzanej z tkanki nerkowej koczkodana), inaktywowanych za pomocą formaliny, z dodatkiem wodorotlenku glinu. Immunizowane myszy posiadały przeciwciała neutralizujące wobec PUUV oraz DOBV. Szczepionka ta przeszła pozytywnie badania przedkliniczne według wytycznych rosyjskich [34].

Do szczepionek rekombinowanych przeciwko hantawirusom należy szczepionka, w skład której wchodzi rekombinowany wektor zawierający sekwencję wirusa krowianki (VACV; ang. a recombinant vaccinia virus (VACV) – vectored vaccine), wraz z sekwencjami kodującymi białka M i S wirusa HTNV. W I fazie przeprowadzonych badań nie zaobserwowano efektów ubocznych podania szczepionki. Tylko osoby dostające najwyższe dawki wykształciły przeciwciała neutralizujące HTNV. W grupie tej podanie dawki przypominającej po roku wywołało nagły wzrost mian. Również grupa dostająca drugą najwyższą dawkę rozwinęła przeciwciała zobojętniające, ale w tym wypadku podanie dawki przypominającej przypominało bardziej pierwotną reakcję niż reakcję anamnestyczną. W II fazie badań podano dwie dawki podskórne w odstępie 6 tygodni. Przeciwciała neutralizujące pojawiły się w 72% przypadków, ale jedynie w 26% przypadków doszło do odpowiedzi na HTNV. Z tego powodu nie kontynuowano badań [53].

Kolejną szczepionką molekularną, która została dopuszczona do badań klinicznych, jest szczepionka DNA. Plazmidowe DNA wstrzykuje się za pomocą pistoletu genowego. Ponieważ szczepionki DNA nie posiadają składników białkowych, nie powinny pro-

wadzić do immunizacji. Wykazują również odporność krzyżową u zwierząt wśród HTNV, SEOV i DOBV. Do tej grupy nie zalicza się PUUV. Z tego powodu do szczepionki należy dodać zarówno komponentę HTNV (albo SEOV lub DOBV) oraz PUUV. Szczepionki DNA zostały przetestowane na zwierzętach i dopuszczone do I fazy badań klinicznych. W badaniu wzięły udział 3 grupy po 9 ochotników, którzy otrzymywali HTNV, PUUV, albo HTNV+PUUV w odstępie 4 tygodni. Wszystkie szczepionki składały się z dawki całkowitej 2 mg DNA w objętości 1 ml soli fizjologicznej. Szczepionki podawane były domięśniowo. Nie stwierdzono żadnych efektów ubocznych związanych z przeprowadzonym badaniem. Po trzech szczepieniach przeciwciała neutralizujące wykryto u 5 z 7 szczepionych HTNV i 7 z 9 szczepionych PUUV. W grupie HTNV+PUUV przeciwciała neutralizujące znaleziono u 7 z 9 ochotników. Trójka ochotników z najsilniejszą odpowiedzią na szczepionkę przeciw PUUV wykazywało także silne przeciwciała neutralizujące wobec HTNV. Badanie udowodniło, że szczepionki DNA przeciw HTNV i PUUV podawane zarówno oddzielnie, jak i razem, są bezpieczne. Obie szczepionki były immunogenne, ale kiedy połączono je razem, okazało się, że więcej uczestników badania reagowało na PUUV niż na HTNV [25, 53].

Szczepionki przeciwko hantawirusom opracowuje się głównie w Korei Południowej i Chinach, ze względu na częstość występowania zakażeń hantawirusami w tych krajach. Przeszkodą w produkcji skutecznych szczepionek jest różnorodność szczepów w różnych regionach. W ramach profilaktyki zakażeń powinno zwiększać się świadomość ludzi oraz unikać źródeł zakażenia, kontaktu z chorymi i poprawiać warunki sanitarne [64].

9. Podsumowanie

Do zarażenia wirusami z rodzaju Orthohantavirus spp. dochodzi najczęściej poprzez kontakt z wydzielinami i odchodami gryzoni, najczęściej drogą wziewną, jednak opisywane są także przypadki infekcji w wyniku transfuzji składników krwi. Replikacja wirusów odbywa się przede wszystkim w śródbłonku naczyń krwionośnych, głównie nerek i płuc. Wyróżnia się 2 główne zespoły chorobowe powodowane przez te wirusy: HPS (hantawirusowy zespół płucny) i HFRS (gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym). W przebiegu HPS wyróżnia się 2 fazy: wczesną i późną. Do głównych objawów należą gorączka, kaszel, trudności z oddychaniem obrzęk płuc, tachypnoe i tachykardia, jednak może dojść także do niewydolności oddechowej i wstrząsu kardiogenego. Przebieg HFRS podzielony został na 5 faz. Charakterystyczna triada objawów

zawiera gorączkę, niewydolność nerek i krwawienia. Śmiertelność zależy od gatunku wirusa. Terapia przeciwhantawirusowa o potwierdzonej skuteczności na ten moment nie istnieje. W leczeniu stosuje się przede wszystkim zbilansowaną płynoterapię, kontrolę gospodarki elektrolitowej oraz zapobieganie niedociśnieniu, a w skrajnych przypadkach – podawanie tlenu bądź stosowanie respiratora oddechowego. W przypadku skazy krwotocznej wymagana jest transfuzja krwi lub jej składników. Do głównych odchyłeń w badaniach laboratoryjnych należą leukocytoza, trombocytopenia, podwyższony hematokryt, krwimocz i białkomocz oraz podwyższone stężenie kreatyniny. Testy diagnostyczne w większości przypadków opierają się na badaniach serologicznych.

Piśmiennictwo

1. Abudurexiti A., Kuhn J.H. i wsp.: Taxonomy of the order Bunyavirales: update 2019. *Arch. virol.* **164**, 1949–1965 (2019)
2. Anderson D., Beecher G., Power C., Bridgland L., Zochodne D.W.: A neuropathic pain syndrome associated with hantavirus infection. *J. Neurovirol.* **23**, 919–921 (2017)
3. Bi Z., Formenty P.B.H., Roth C.E.: Hantavirus infection: a review and global update. *J. Infect. Develop. Countr.* **2**, 3–23 (2008)
4. Bird B.H., Shrivastava-Ranjan P., Dodd K.A., Erickson B.R., Spiropoulou C.F.: Effect of Vandetanib on Andes virus survival in the hamster model of Hantavirus pulmonary syndrome. *Antivir. Res.* **132**, 66–69 (2016)
5. Borges A.A., Campos G.M., Moreli M.L., Souza R.L.M., Saggiaro E.P., Figueiredo G.G., Figueiredo L.T.M.: Role of mixed Th1 and Th2 serum cytokines on pathogenesis and prognosis of hantavirus pulmonary syndrome. *Microb. Infect.* **10**, 1150–1157 (2008)
6. Bridson E.: The English 'sweat' (Sudor Anglicus) and Hantavirus pulmonary syndrome *Brit J Biomed Sci.* **58**, 1–6 (2001)
7. Brocato R.L., Hooper J.W.: Progress on the Prevention and Treatment of Hantavirus Disease. *Viruses.* **11**, 610 (2019)
8. Bugedo G., Florez J., Ferres M., Roessler E., Bruhn A.: Tratamento bem-sucedido da síndrome cardiopulmonar por hantavírus com uso de hemofiltração de alto volume. *Rev. bras. ter. Intens.* **28**, 190–194 (2016)
9. Bugert J.J., Welzel T.M., Zeier M., Darai G.: Hantavirus infection-haemorrhagic fever in the Balkans-potential nephrological hazards in the Kosovo war. *Nephrol. Dial. Transplant.* **14**, 1843–1844 (1999)
10. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Outbreak of acute illness-southwestern United States, 1993. *MMWR.* **42**, 421 (1993)
11. Chandy S., Mathai D.: Globally emerging hantaviruses: An overview. *Indian J med. Microbiol.* **35**, 165–175 (2017)
12. Chang B., Crowley M., Campen M., Koster F.: Hantavirus cardiopulmonary syndrome. *Sem. Resp. Crit. Care Med.* **28**, 193–200 (2007)
13. Cho H.W., Howard C.R., Lee H.W.: Review of an inactivated vaccine against hantaviruses. *Intervirology.* **45**, 328–333 (2002)
14. Cifuentes-Muñoz N., Salazar-Quiroz N., Tischler N.D.: Hantavirus Gn and Gc envelope glycoproteins: key structural units for virus cell entry and virus assembly. *Viruses.* **6**, 1801–1822 (2014)
15. Clement J., LeDuc J.W., McElhinney L.M., Reynes J.M., Van Ranst M., Calisher C.H.: Clinical characteristics of ratborne seoul hantavirus disease. *Emerg. Infect. Dis.* **25**, 387–388 (2019)

16. Clement J., Lee A.P.K., Verpooten G.A., Laenen L., Vergote V., De Samblanx H., Berneman Z.N., Van Ranst M., Maes P.: Acute hantavirus infection presenting as haemolytic-uraemic syndrome (HUS): the importance of early clinical diagnosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **37**, 135–140 (2018)
17. Cosgriff T.M.: Mechanisms of disease in Hantavirus infection: pathophysiology of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Rev. Infect. Dis.* **13**, 97–107 (1990)
18. Elliott R.M.: Molecular biology of the Bunyaviridae. *J. Gen. Virol.* **71**, 501–522 (1990)
19. Freiberg A.N., Bente D.A., Le Duc J.W.: Bunyaviruses: Hantavirus and others. *Viral Infect. Hum.* 173–197 (2014)
20. Friedewald V.E.: Hantavirus Pulmonary Syndrome (w) Clinical Guide to Bioweapons and Chemical Agents, Springer, 2008, s. 84–87
21. Gavrilovskaya I., Gorbunova E., Koster F., Mackow E.: Elevated VEGF levels in pulmonary edema fluid and PBMCs from patients with acute hantavirus pulmonary syndrome. *Adv. Virol.* doi:10.1155/2012/674360 (2012)
22. Golovljova I., Vasilenko V., Mitzenkov V., Prück T., Seppet E., Vene S., Settergren B., Plyusnin A., Lundkvist A.: Characterization of hemorrhagic fever with renal syndrome caused by hantaviruses, Estonia. *Emerg. Infect. Dis.* **13**, 1773–1776 (2007)
23. Heyman P., Simons L., Cochez C.: Were the English sweating sickness and the Picardy sweat caused by hantaviruses? *Viruses* **6**, 151–171 (2014)
24. Hjelle B.: Hantavirus, with emphasis on four corners hantavirus, https://s1.lite.msu.edu/res/msu/botonl/b_online/library/multimedia-virology/hanta.html (02.05.2020)
25. Hooper J.W., Moon J.E., Paolino K.M., Newcomer R., McLain D.E., Josleyn M., Schmaljohn C.: A Phase 1 clinical trial of Hantaan virus and Puumala virus M-segment DNA vaccines for haemorrhagic fever with renal syndrome delivered by intramuscular electroporation. *Clin. Microbiol. Infect.* **20**, 110–117 (2014)
26. International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV, <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (05.05.2020)
27. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Hantavirus Pulmonary Syndrome (HPS), <https://www.cdc.gov/hantavirus/hps/index.html> (05.05.2020)
28. Jonsson C.B., Figueiredo L., Vapalahti O.: A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clin. Microbiol. Rev.* **23**, 412–441 (2010)
29. Kalaiselvan S., Sankar S., Ramamurthy M., Ghosh A.R., Nandagopal B., Sridharan G.: Prediction of B cell epitopes among hantavirus strains causing hemorrhagic fever with renal syndrome. *J. Cell. Biochem.* **118**, 1182–1188 (2017)
30. Khan A., Kim W.J. i wsp.: A Systems Vaccinology Approach Reveals the Mechanisms of Immunogenic Responses to Hantavax Vaccination in Humans. *Sci. Rep.* **9**, 4760 (2019)
31. Klempa B., Koivogui L., Sylla O., Koulemou K., Auste B., Krüger D.H., ter Meulen J.: Serological evidence of human hantavirus infections in Guinea, West Africa. *J. Infect. Dis.* **201**, 1031–1034 (2010)
32. Klingström J., Smed-Sörensen A., Maleki K.T., Solà-Riera C., Ahlm C., Björkstöm N.K., Ljunggren H.G.: Innate and adaptive immune responses against human Puumala virus infection: immunopathogenesis and suggestions for novel treatment strategies for severe hantavirus-associated syndromes. *J. Intern Med.* **285**, 510–523 (2019)
33. Kruger D.H., Figueiredo L.T.M., Song J.W., Klempa B.: Hantaviruses-globally emerging pathogens. *J. Clin. Virol.* **64**, 128–136 (2015)
34. Krüger D.H., Schönrich G., Klempa B.: Human pathogenic hantaviruses and prevention of infection. *Hum. Vaccin.* **7**, 685–693 (2011)
35. Krumm P., Zitzelsberger T., Gawaz M., Greulich S.: Young patient with hantavirus-induced myocarditis detected by comprehensive cardiac magnetic resonance assessment. *BMC Infect. Dis.* **19**, 15 <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3658-8> (2019)
36. Kulzer P., Heidland A.: Acute kidney failure caused by Hantaviruses. *Ther Umsch.* **51**, 824–831 (1994)
37. MacNeil A., Nichol S.T., Spiropoulou C.F.: Hantavirus pulmonary syndrome. *Virus Res.* **162**, 138–147 (2011)
38. MacNeil A., Ksiazek T. G., Rollin P. E.: Hantavirus pulmonary syndrome, United States, 1993–2009. *Emerg. Infect. Dis.* **17**, 1195–1201 (2011)
39. Maes P., Clement J., Van Ranst M.: Recent approaches in hantavirus vaccine development. *Exp. Rev. Vac.* **8**, 67–76 (2009)
40. Maleki K.T., Klingström J. i wsp.: Serum Markers Associated with Severity and outcome of hantavirus pulmonary syndrome. *J. Infect. Dis.* **219**, 1832–1840 (2019)
41. Meyer B.J., Schmaljohn C.S.: Persistent hantavirus infections: characteristics and mechanisms. *Trends Microbiol.* **8**, 61–67 (2000)
42. Mir M.A., Panganiban A.T.: The hantavirus nucleocapsid protein recognizes specific features of the viral RNA panhandle and is altered in conformation upon RNA binding. *J. Virol.* **79**, 1824–1835 (2005)
43. Moore R.A., Griffen D.: Hantavirus Syndrome, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513243/> (05.05.2020)
44. Muranyi W., Bahr U., Zeier M., van der Woude F.J.: Hantavirus infection. *JASN.* **16**, 3669–3679 (2005)
45. Muyangwa M., Martynova E.V., Khaiboullina S.F., Morzunov S.P., Rizvanov A.A.: Hantaviral proteins: structure, functions, and role in hantavirus infection. *Front. Microbiol.* **6**, 1326 doi: 10.3389/fmicb.2015.01326 (2015)
46. Pettersson L., Boman J., Juto P., Evander M., Ahlm C.: Outbreak of Puumala virus infection, Sweden. *Emerg. Infect. Dis.* **14**, 808–810 (2008)
47. Plyusnin A., Vapalahti O., Vaheri A.: Hantaviruses: genome structure, expression and evolution. *J. Gen. Virol.* **77**, 2677–2687 (1996)
48. Plyusnin A.: Genetics of hantaviruses: implications to taxonomy. *Arch. Virol.* **147**, 665–682 (2002)
49. Rasmuson J., Andersson C., Norrman E., Haney M., Evander M., Ahlm C.: Time to revise the paradigm of hantavirus syndromes? Hantavirus pulmonary syndrome caused by European hantavirus. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **30**, 685–690 (2011)
50. Saggiaro F.P., Neder L. i wsp.: Hantavirus infection induces a typical myocarditis that may be responsible for myocardial depression and shock in hantavirus pulmonary syndrome. *J. Infect. Dis.* **195**, 1541–1549 (2007)
51. Sargianou M., Watson D.C., Chra P., Papa A., Starakis I., Gogos C., Panos G.: Hantavirus infections for the clinician: from case presentation to diagnosis and treatment. *Crit. Rev. Microbiol.* **38**, 317–329 (2012)
52. Schmaljohn C.S.: Vaccines for hantaviruses: progress and issues. *Expert Rev. Vaccines.* **11**, 511–513 (2012)
53. Schmaljohn C.: Vaccines for hantaviruses. *Vaccine*, **27**, 61–64 (2009)
54. Schmaljohn C.S.: Molecular biology of hantaviruses (w) The Bunyaviridae, red. Elliott R.M. Springer, Boston, MA, 1996, s. 63–90
55. Song J.Y., Woo H.J., Cheong H.J., Noh J.Y., Baek L.J., Kim W.J.: Long-term immunogenicity and safety of inactivated Hantaan virus vaccine (Hantavax™) in healthy adults. *Vaccine*, **34**, 1289–1295 (2016)
56. Spiropoulou C.F.: Hantavirus maturation (w) Hantaviruses. Current Topics in Microbiology and Immunology, red. Schmaljohn C.S., Nichol S.T. Springer, Berlin, Heidelberg, 2001, s. 33–46

57. Stojak J.: Hantavirus infections in humans in Poland-current state of knowledge and perspectives for research. *Eur. J. Publ. Health*. **30**, 982–985 (2019)
58. Terajima M., Hayasaka D., Maeda K., Ennis F. A.: Immunopathogenesis of hantavirus pulmonary syndrome and hemorrhagic fever with renal syndrome: Do CD8+ T cells trigger capillary leakage in viral hemorrhagic fevers? *Immunol. Lett.* **113**, 117–120 (2007)
59. Thwaites G., Taviner M., Phil M., Gant V., Path C.: The English sweating sickness, 1485 to 1551. *N. Eng. J. Med.* **336**, 580–582 (1997)
60. Vaheri A., Strandin T., Hepojoki H., Sironen T., Henttonen H., Mäkelä S., Mustonen J.: Uncovering the mysteries of hantavirus infections. *Nat. Rev. Microbiol.* **11**, 539–550 (2013)
61. Vial P.A., Mertz G.J. i wsp.: A non-randomized multicentre trial of human immune plasma for treatment of hantavirus cardiopulmonary syndrome caused by Andes virus. *Antivir. Ther.* **20**, 377–386 (2015)
62. Xu F., Yang Z., Wang L., Lee Y.-L., Yang C.-C., Xiao S.-Y., Xiao H., Wen L.: Morphological characterization of hantavirus HV114 by electron microscopy. *Intervirology*, **50**, 166–172 (2007)
63. Yao H., McDonald E.G.: Extracorporeal membrane oxygenation for the treatment of severe refractory hantavirus cardiopulmonary syndrome. *CMAJ*. **188**, 528–530 (2016)
60. Zou L.X., Chen M.J., Sun L.: Haemorrhagic fever with renal syndrome: literature review and distribution analysis in China. *Int. J. Infect. Dis.* **43**, 95–100 (2016)