

Protilátky proti pôvodcom niektorých prírodne ohniskových nákaz v sérach darcov krvi zo západného Slovenska

Bazovská, S., Guryčová, D., Výrosteková, V., Jareková, J., Bakoss, P., Macháčová, E., Špaleková, M.

Ústav epidemiológie Lekárskej fakulty UK v Bratislave

SÚHRN

Úvod: Oblasť západného Slovenska je známa výskytom viacerých prírodne ohniskových nákaz. Dlhodobé sledovanie ohnísk leptospiroz, tularémie a lymfkej boreliózy poukázalo na ich stálu aktivitu, ale ochorenia boli hlásené len veľmi sporadicky. Pre lepšie poznanie výskytu sledovaných nákaz sa vyšetrovali protilátky v sérach darcov krvi z týchto oblastí.

Materiál a metódy: Séra od 302 darcov krvi z okresu Senec a Senica sa vyšetrovali na prítomnosť protilátok proti *Borrelia burgdorferi* s.l. komerčným testom ELISA Euroimmun IgG s VlsE antigénom, proti *Anaplasma phagocytophilum* IgG komerčným IF testom fy Focus, proti leptospíram štandardným MAT (mikroaglutinačný test), proti *Francisella tularensis* aglutinačnou reakciou.

Výsledky: Protilátky proti *F. tularensis* sa zistili u 4,01 % vyšetrovaných, proti leptospíram u 1 %. Išlo o osoby, u ktorých v rámci surveillancie týchto nákaz ochorenia neboli hlásené. Prítomnosť protilátok proti *B. burgdorferi* s.l. triedy IgG až u 8,6 % osôb poukazuje na časté infekcie a protilátky proti *A. phagocytophilum* IgG u 3,64 % osôb ukazujú na existenciu tejto nákazy aj v oblasti západného Slovenska.

Závery: Výskyt protilátok v sérach darcov krvi poukazuje na vysokú expozíciu obyvateľstva pôvodcami prírodne ohniskových nákaz v danej oblasti, napriek malému počtu hlásených ochorení. Na ich vysokom výskyte u zdravej populácie sa môže podieľať variabilný klinický obraz ochorení, resp. asymptomatické infekcie. Relatívne nízky počet hlásených ochorení môže byť aj výsledkom nedostatkov v diagnóze a v hlásení ochorení.

Kľúčové slová: protilátky proti *Francisella tularensis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, leptospíram.

SUMMARY

Bazovská, S., Guryčová, D., Výrosteková, V., Jareková, J., Bakoss, P., Macháčová, E., Špaleková, M.: Antibodies against the Causative Agents of Some Natural Focal Infections in Blood Donor Sera from Western Slovakia

Objective: Western Slovakia is known for the presence of natural foci of some infections. The long-term monitored foci of leptospirosis, tularaemia and Lyme borreliosis showed persisting activity, but cases of infection were reported only sporadically. To have a more accurate idea of the incidence of the monitored infections, blood donor sera from the afflicted areas were tested for antibodies against these infections.

Material and methods: Sera of 302 blood donors from the Senec and Senica districts were tested for the presence of antibodies against *Borrelia burgdorferi* s. l. using a commercial Anti-Borrelia-plus-VlsE ELISA (IgG) Euroimmun kit, against *Anaplasma phagocytophilum* using a Focus commercial IFA IgG kit, against leptospirae using a standard microagglutination test (MAT) and against *Francisella tularensis* using an agglutination test kit.

Results: Antibodies against *F. tularensis* were detected in 4.01 % of the study subjects and those against leptospirae in 1 % of subjects. No case had been reported in the study subjects within the surveillance program of these diseases. The detection of IgG antibodies against *B. burgdorferi* s. l. in as many as 8.6 % of the study subjects reflects frequent infections and that of IgG antibodies against *A. phagocytophilum* in 3.64 % of the study subjects documents the occurrence of this infection in western Slovakia.

Conclusions: The detection of antibodies in blood donor sera indicates high exposure of the population to the causative agents of natural focal infections in western Slovakia despite the small numbers of reported cases. The levels of antibodies in the healthy population can be explained by the high variability of clinical manifestations of these infections or by a considerable proportion of asymptomatic cases. The relatively low number of reported cases may also be a result of diagnostic and/or reporting failure.

Key words: antibodies against *Francisella tularensis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* and leptospirae.

Úvod

Existencia viacerých prírodne ohniskových nákaz v oblasti západného Slovenska je dobre známa z rôznych štúdií ako aj z epidémií v minulom storočí. Dlhodobé sledovanie ohnisk leptospiróz vyšetrením drobných zemných cicavcov ako rezervoárov leptospír v oblasti Šaštín-Stráže v okrese Senica a Martinský les v okrese Senec poukazovalo na ich stálu aktivitu [2, 3] a prinieslo mnohé poznatky o cirkulujúcich sérovaroch leptospír a ich rezervoárových zvierat. Napriek tomu za posledných 10 rokov bol hlásený v týchto oblastiach výskyt len jedného ochorenia. Aj sledovanie premorenia drobných zemných cicavcov a kliešťov pôvodcami lymskej boreliózy v týchto lokalitách ukazovalo na vysokú infikovanosť hlavne kliešťov [14] a tým riziko expozície obyvateľstva. Západné Slovensko je významnou endemickou oblasťou tularémie, známou výskytom rozsiahlych epidémií najmä koncom 60. rokov minulého storočia. Komplexný výskum prírodných ohnisk v tejto oblasti a dlhodobé sledovanie vytypovaných prírodných ohnisk tularémie v uvedených lokalitách, poukázal na ich stálu perzistenciu a vzostup ich aktivity v ostatnom desaťročí. Výskyt hlásených ochorení z týchto oblastí bol však len veľmi sporadický [8, 13].

Pre lepšie poznanie výskytu sledovaných nákaz sme sa rozhodli vyšetriť protilátky proti leptospíram, *Francisella tularensis*, *Borrelia burgdorferi* ako aj *Anaplasma phagocytophilum* v sérach darcov krvi z týchto oblastí.

Materiál a metódy

Séra od darcov krvi z okresu Senec a Senica sa odoberali v jarných a jesenných mesiacoch v roku 2008 a na jar 2009,

Tab. 1. Charakteristika darcov krvi

Table 1. Characteristics of blood donors

Veková skupina	≤ 20 m/ž	21–30 m/ž	31–40 m/ž	41–50 m/ž	≥ 51 m/ž	Spolu
Okres Senec	4/10	24/15	11/16	21/15	29/7	89/63
Okres Senica	23/19	28/12	21/10	14/11	8/4	94/56
Spolu	27/29	52/27	32/26	35/26	37/11	183/119 = 302
Priemerný vek mužov	36,2					
Priemerný vek žien	33,0					
Poštípanie kliešťom						
Okres Senec	3/5	8/4	0/1	5/3	3/2	19/15
Okres Senica	3/1	8/3	6/4	5/5	3/1	25/14
Spolu	6/6	16/7	6/5	10/8	6/3	44(29 = 73 (24,17 %))

m/ž – muži/ženy

celkove 302 sér. Od darcov krvi sa získavali údaje dotazníkom – vek, pohlavie, trvalé bydlisko, údaje o poštípaní kliešťom.

Stanovenie protilátok v sére sa robilo komerčným testom ELISA a westernblotom Euroimmun IgG s VlsE antigénom proti *B. burgdorferi* s.l., komerčným IF testom fy Focus, proti *A. phagocytophilum* IgG a prítomnosť protilátok v titri ≥ 1 : 64 sa hodnotila ako pozitívna. Protilátky proti leptospíram sa stanovovali štandardným MAT (mikroaglutinačný test) a v titri 1 : 400 a vyššie sa hodnotili ako pozitívne. Protilátky proti *F. tularensis* sa hodnotili aglutinačnou reakciou ako pozitívne v titri 1 : 20 a vyššie.

Ochorenia na tularémiu a leptospirózy sú sledované v Slovenskej republike v rámci surveillance zoonóz [3, 8], údaje o hlásených ochoreniach na lymskú boreliózu sme získali z Regionálneho úradu verejného zdravotníctva v Banskej Bystrici.

Výsledky

V sérach 302 darcov krvi z okresov Senec a Senica (tab. 1), kde sú dlhodobo sledované prírodné ohniska tularémie a leptospiróz sa zistili protilátky (tab. 2) proti *F. tularensis* u 4,01 % [12] vyšetovaných a proti leptospíram u 1 % [3]. Išlo o osoby, u ktorých v rámci surveillance týchto nákaz ochorenia neboli hlásené. Prítomnosť protilátok proti *B. burgdorferi* s.l. triedy IgG až u 8,6 % osôb poukazuje na časté infekcie, napriek nízkemu počtu hlásených ochorení na lymskú boreliózu z týchto oblastí, najmä z okresu Senec (tab. 3). Prítomnosť protilátok proti *A. phagocytophilum* IgG v sérach darcov krvi poukazuje na existenciu tejto nákazy aj v oblasti západného Slovenska (viď tab. 3). U troch osôb z 11 s prítomnosťou protilátok proti anaplazmám sa zistili aj protilátky proti *B. burgdorferi* a u dvoch proti tularémii. U jednej osoby s prítomnosťou antiboreliových protilátok boli prítomné aj protilátky proti tularémii. Nezistila sa korelácia medzi údajmi o poštípaní kliešťom a prítomnosťou protilátok proti sledovaným nákazám prenášanými kliešťami.

Tab. 2. Protilátky proti leptospíram, *F. tularensis*, *A. phagocytophilum* a *B. burgdorferi* u darcov krvi z okresu Senec a Senica**Table 2.** Antibodies against leptospires, *F. tularensis*, *A. phagocytophilum* and *B. burgdorferi* in blood donors from the Senec and Senica districts

Veková skupina	≤ 20 m/ž	21–30 m/ž	31–40 m/ž	41–50 m/ž	≥ 50 m/ž	Spolu
Protilátky proti leptospíram						3 (1,00 %)
Okres Senec (152)		1/0				
Okres Senica (150)			1/1			
<i>F. tularensis</i>						12 (4,01 %)
Okres Senec (151)	0/1	2/0	1/0	2/0	1/0	
Okres Senica (148)	1/0	1/0	1/0	1/0		
<i>A. phagocytophilum</i> IgG						11 (3,64 %)
Okres Senec (152)		0/2	0/2	1/0	2/0	
Okres Senica (100)		1/0		1/0	2/0	
<i>B. burgdorferi</i> IgG						2 (8,60 %)
Okres Senec (152)						
Okres Senica (100)						

m/ž – muži/ženy

Tab. 3. Počet hlásených ochorení na sledované nákazy v okrese Senec a Senica, roky 1999–2008**Table 3.** Reported cases of the infections monitored in the Senec and Senica districts, 1999–2008

Rok	1999 m/ž	2000 m/ž	2001 m/ž	2002 m/ž	2003 m/ž	2004 m/ž	2005 m/ž	2006 m/ž	2007 m/ž	2008 m/ž	Spolu
Leptospirózy											
Okres Senec	0	1/0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Okres Senica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tularémia											
Okres Senec	1/0	0	0	0	0	0/1	0	1/0	0	0	3
Okres Senica	0	0	0	3/1	0	0	1/1	2/3	0	0	11
Lymeská borelióza											
Okres Senec	0	0	0	1/0	0	0	0	0	0	0/1	2
Okres Senica	1/8	1/2	1/3	1/2	0	0	1/0	0/1	1/1	2/1	26

m/ž – muži/ženy

Diskusia

Údaje o prevalencii protilátok u zdravej populácie poukazujú na jej expozíciu pôvodcami jednotlivých nákaz a najčastejšie sa získavajú vyšetrením sér darcov krvi. V okrese Senec a Senica sú dlhodobo sledované prírodné ohniská tularémie, ktoré sú pravidelne hodnotené na základe vyšetrenia drobných zemných cicavcov, kliešťov, veterinárneho vyšetrenia hospodárskych zvierat a ulovených zajacov. Tieto údaje poukazovali na stálu aktivitu týchto ohnísk [8, 13]. Ochorenia na tularémiu môžu mať variabilný klinický obraz a zrejme často unikajú hláseniu, na čo poukazuje aj výskyt protilátok u 4,01 % osôb, u ktorých ochorenia neboli hlásené. Podobne pri leptospirózach, kde v týchto oblastiach sú aktívne prírodné ohniská a za sledované obdobie bolo hlásené len jedno ochorenie [2, 3]. Vyšetrenia sér darcov krvi aj tu poukázali na ďalšie tri infekcie.

Pri lymsej borelióze vzhľadom na variabilný klinický obraz, problémy v laboratórnej diagnostike a dlhé pretrvávanie protilátok u zdravej populácii aj po inaparentných nákazách nie je prekvapujúci nález vysokého percenta pozitívnych sér u darcov krvi [4]. Rozdiely medzi počtom zaznamenaných ochorení a výskytom protilátok u zdravej populácie sú známe [1], ale literárne údaje o výskyte protilátok v populácii endemických oblastí sú značne rozdielne, aj v závislosti od metódy stanovenia protilátok. Nami používaná metóda ELISA obohatená s vysokošpecifickým antigénom VlsE dáva spoľahlivé výsledky. Dlhodobé sledovanie prírodných ohnísk v týchto oblastiach poukazuje na stále riziko tejto infekcie [14] a údaje o poštipaní kliešťom u 24,17 % sledovaných darcov krvi poukazujú na ich častý kontakt s nimi a tým aj možný prenos tejto nákazy. Korelácia medzi údajmi o poštipaní kliešťom a prítomnosťou protilátok sa nedokázala. Nízky počet hlásených ochorení, hlavne v okrese Senec poukazuje aj na možné nedostatky v kvalite diagnostiky a v hlásení ochorení, na čo poukazovali aj

predchádzajúce štúdie pri hodnotení výskytu hlásených ochorení z jednotlivých okresov [4].

Ochorenia na anaplazmózu u nás neboli hlásené a ani laboratória klinickej mikrobiológie bežne nezabezpečujú ich diagnostiku. V centrálnej Európe je ochorenie prenášané hlavne kliešťami *Ixodes ricinus* a jednotlivé štúdie poukázali na ich vysoké premorenie *A. phagocytophilum*, často v koinfekcii s *B. burgdorferi*, na čo poukazujú aj práce viacerých autorov [6, 9, 12]. Aj súčasný výskyt protilátok proti anaplazmám a *B. burgdorferi* u 3 pacientov poukazuje na túto možnosť. Literárne údaje o výskyte protilátok u zdravej populácie sú značné rozdielne. V Slovinsku sa zistili protilátky u 15,4 % detí a mladých osôb [5], v Poľsku u lesných robotníkov u 3,9, resp. u 9,6 % [7, 11]. Aj Loebermann et al. [10] poukázali na variabilnú prevalenciu protilátok u populácie v rôznych oblastiach Nemecka – od 1,9 do 14 %. Anaplazmóza má často asymptomatický priebeh, resp. prebieha ako mierne febrilné ochorenie, ktorému sa nevenuje pozornosť. Výskyt protilátok IgG proti anaplazmózam u darcov krvi z oblasti Senice a Senca poukazuje na existenciu tejto nákazy aj v týchto oblastiach a potrebu pri nejasných ochoreniach počítat aj s jej diagnostikou.

Záver

Vyšetrovanie protilátok proti pôvodcom niektorých prírodne ohniskových nákaz v sérach 302 darcov krvi z okresu Senec a Senica, kde sú dlhodobo sledované aktívne prírodné ohniská tularémie, leptospiróz a lymfkej boreliózy, poukázalo na podstatne vyšší výskyt infekcií ako vyplýva z počtu hlásených ochorení za posledných 10 rokov (1999–2008). Protilátky proti *B. burgdorferi* s.l. malo 8,6 %, proti *F. tularensis* 4,01 % a proti leptospíram 1 % vyšetovaných. Výskyt protilátok proti *A. phagocytophilum* u 3,64 % osôb poukázal na existenciu tejto nákazy aj v oblasti západného Slovenska. Na vysokom výskyte protilátok u zdravej populácie proti pôvodcom sledovaných nákaz sa môže podieľať variabilný klinický obraz ochorení, resp. asymptomatické infekcie, ako aj nedostatky v diagnóze a v hlásení ochorení.

Literatúra

1. **Arteaga, F., Coligtly, M. G., Perez, A. G et al.** Disparity between serological reactivity and evidence of past disease in high-risk group. *Clin. Infect. Dis.*, 1998, 27, p. 1210–1213.
2. **Bakoss, P., Jareková, J.** Prírodné ohniská leptospiróz na Slovensku v rokoch 1991–2007. *Zborník Labudove dni 2009*, 23.–24. apríla 2009, Bratislava, p. 69–71.

3. **Bakoss, P., Macháčová, E., Jareková, J.** Výsledky surveillance humánných leptospiróz. Slovensko 1986–2005. *Epidem. Mikrobiol. Immunol.*, 2007, 56, 3, p. 140–149.
4. **Bazovská, S., Macháčová, E., Špaleková, M., Kontrošová, S.** Reported incidence of Lyme disease in Slovakia and antibodies to *B. burgdorferi* antigens detected in healthy population. *Bratisl. Lek. Listy*, 2005, 106, 8–9, p. 270–273.
5. **Cizman, M., Avsic-Zupanc, T., Petrovec, M. et al.** Seroprevalence of ehrlichiosis, lyme borreliosis and tick-borne encephalitis infections in children and young adults in Slovenia. *Wien Klin. Wochenschr.*, 2000, 112, 19, p. 842–845.
6. **Derdáková, M., Halanová, M., Stanko, M. et al.** Molecular evidence for *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* tick from eastern Slovakia. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 2003, 10, p. 269–271.
7. **Grzszczuk, A.** *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks and human granulocytic anaplasmosis seroprevalence among rangers in Bialystok region. *Adv. Med. Sci.*, 2006, 51, p. 283–286.
8. **Guryčová, D., Tináková, K., Výrosteková, V., Gaciková, E.** Výskyt tularémie na Slovensku v rokoch 1987–2008. *Epidem. Mikrobiol. Immunol.*, 2010, 59, 1, p. 60–65.
9. **Hulínská, D., Kurzová, Z., Dřevová, H. Votýpka, J.** První poznatky o ehrlichioze, prokázané sérologicky a polymerázovou řetězovou reakcí u pacientov s boreliózou v České republice. *Čas. Lék. čes.*, 2001, 140, 6, p. 181–184.
10. **Loebermann, M., Fingerle, V., Lademann, M. et al.** *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* Coinfection. *Emerg. Infect. Dis.*, 2006, 112, 2, p. 353–355.
11. **Stańczak, J., Grzszczuk, A.** Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* among forestry rangers in northern and northeastern Poland. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2006, 1078, p. 89–91.
12. **Špitálska, E., Kocianová, E.** Tick-borne microorganisms in southwestern Slovakia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2003, 990, p. 196–200.
13. **Výrosteková, V., Guryčová, D.** Dlhodobé sledovanie prírodného ohniska tularémie na juhozápadnom Slovensku. *Zborník Labudove dni 2009*, 23.–24. apríla 2009, Bratislava, p. 73.
14. **Výrosteková, V., Kocianová, E., Pertináčová, J., Truska, P.** Ukazovatele rizika lymfkej boreliózy v sledovanej oblasti Bratislavského kraja. *Zborník X. Aktuálne problémy humánnej parazitológie*. Bratislava 2003, p. 56–58.

Práca bola čiastočne podporená Grantom MZd SR 2006/31-SAV-02 a VEGA 1/4581/07 a projektom Centra excelentnosti pre parazitológiu SAV v rámci operačného programu Výskum a vývoj Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Do redakcie došlo 15. 2. 2009.

Doc. MUDr. Sylvia Bazovská, CSc.

Ústav epidemiológie LFUK

Špitálska 24

813 72 Bratislava

Slovenská republika

e mail: sylvia.bazovska@fmed.uniba.sk