

Molekulárna diagnostika *Cryptosporidium parvum* u pacienta zo Slovenska

Kristína Mravcová¹, Gabriela Štrkolcová¹, Rastislav Mucha², Mária Goldová¹

¹Ústav parazitológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

²Biomedicínske centrum SAV, Neurobiologický ústav, Košice

Kryptosporidióza je významnou príčinou hnačkového ochorenia zvierat a ľudí na celom svete. Predovšetkým u detí, ktoré žijú v endemických oblastiach a ľudí s imunodeficienciou môže predstavovať vážne zdravotné riziko. V našom príspevku uvádzame prípad ľudskej kryptosporidiózy spôsobenej druhom *Cryptosporidium parvum* u 23-ročného pacienta s vysokou frekvenciou vodnatých hnačiek. Farbením podľa Ziehleho-Neelsena sme potvrdili prítomnosť oocýst kryptosporídií a imunologickou metódou ELISA (Fecal) sme detegovali koproantigén vo vzorkách stolíc. Pomocou nested PCR s použitím vybraných primerov sme určili zoonotický subtyp IIdA15G1. **Kľúčové slová:** *Cryptosporidium parvum*, Nested PCR, zoonóza

Molecular diagnostic of *Cryptosporidium parvum* in a patient from Slovakia

Cryptosporidiosis is a significant cause of diarrhoea in animals and humans throughout the world. It presents a severe health risk, especially to children living in endemic areas, immunocompromised individuals. In our study, we are reporting a case of human cryptosporidiosis caused by *Cryptosporidium parvum* in a 23-year-old patient with a high frequency of watery diarrhoea. We confirmed the presence of cryptosporidial oocysts by Ziehl - Neelsen staining and detected coproantigen in stool samples by immunological ELISA (Fecal). We determined the zoonotic subtype IIdA15G1 by nested PCR using selected primers.

Keywords: *Cryptosporidium parvum*, Nested PCR, zoonosis

NewsLab, 2020; roč. 11 (2): 107 – 108

Úvod

Na Slovensku sú záznamy o výskyte ľudskej kryptosporidiózy zriedkavé. Prvý údaj pochádza z roku 1987, keď bolo diagnostikovaných sedem prípadov ochorenia spôsobených *Cryptosporidium* spp. u pacientov s HIV/AIDS⁽¹⁾. Druhý prípad bol zaznamenaný u dvoch súrodencov v roku 2013, z ktorých len sedemročný chlapec vykazoval klinické príznaky ochorenia. Pomocou DNA typizácie bol u týchto detí identifikovaný druh *C. hominis*⁽²⁾. V súčasnosti sú známe aj ďalšie infekcie detí z rómskych osád či detských domovov na východnom Slovensku, ktoré boli vyvolané najmä druhmi *C. hominis* a *C. muris*⁽³⁾. V našom príspevku uvádzame prvý prípad ľudskej kryptosporidiózy vyvolanej druhom *C. parvum* u imunokompetentného pacienta na Slovensku.

Vlastný prípad

Pacient, 23-ročný muž, v septembri 2018 prejavoval typické klinické príznaky kryptosporidiózy. Vo Fakultnej nemocnici v Košiciach bol 4 dni hospitalizovaný s bolesťou brucha, hnačkou a úbytkom hmotnosti. Počas hospitalizácie dostával pacient podpornú liečbu (diéta, infúzie). Po kompletnom vyšetrení nebol zistený pôvodca bakteriálneho ani vírusového ochorenia. Gastrointestinálne príznaky trvali 7 dní, potom sa stav pacienta postupne zlepšoval. Po hospitalizácii pacient priniesol vzorky stolice na Ústav parazitológie UVLF v Košiciach. Vzorku stolice sme vyšetrili flotačnou metódou podľa Fausta s negatívnym výsledkom. Následne sme zhotovili tenký náter stolice, ktorý sme ofarbili špeciálnym acidorezistentným farbením podľa Ziehleho-Neelsena. Mikroskopickým vyšetrením boli identifikované oocysty kryptosporídií, ktoré sa javili ako ružovo-fialové subsférické útvary

na modrozelenom pozadí. Na potvrdenie suspektnej kryptosporidiózy sme urobili ELISA test na dôkaz koproantigénu s pozitívnym výsledkom. Na extrakciu DNA z pozitívnej vzorky sme použili komerčnú súpravu ZR Fecal DNA MiniPrep™ kit a následne sme izoláty podrobili genotypizácii pomocou úsekov génov SSU rRNA a GP60⁽⁴⁾. Na základe nested PCR sme amplifikovali malú ribozomálnu podjednotku SSU rRNA, čím sme potvrdili druh *C. parvum* a následne pomocou sekvenácie génu GP60 sme určili zoonotický subtyp IIdA15G1.

Diskusia

V našom príspevku uvádzame prvý prípad ľudskej kryptosporidiózy vyvolanej druhom *C. parvum* subtyp IIdA15G1 u imunokompetentného pacienta na Slovensku. Dvadsaťtri ročný pacient v anamnéze uviedol prácu s teľatami na farme v obci Zemplínska Teplica (okres Trebišov). Pravdepodobný prenos infekčných oocýst nastal priamym kontaktom s infikovanými teľatami a následnou nedostatočnou hygienou rúk. Vzhľadom na tieto skutočnosti sme sa rozhodli vyšetriť vzorky trusu teľiat na farme v obci Zemplínska Teplica, kde sa pacient pracovne zdržiaval. Koproantigény boli potvrdené ELISA testom v 5/18 vzorkách trusu. PCR metódou sme zistili, že pozitívne izoláty patrili k zoonotickým subtypom rodiny Ila a IId. Vo 4 vzorkách bol identifikovaný *C. parvum* IIdA17G1. V jednej vzorke bol potvrdený subtyp IlaA17G1R1⁽⁵⁾. Z toho vyplýva, že teľatá predstavujú významný rezervoár zoonotických subtypov *C. parvum* aj pre imunokompetentných ľudí. Riziko hrozí predovšetkým poľnohospodárom, veterinárnym študentom a lekármi, zooteknikom a ostatným zamestnancom pracujúcim na farme, ktorí prichádzajú do kontaktu s hospodárskymi zvieratami.

Záver

Hovädzí dobytok predstavuje jeden z najčastejších zdrojov kryptosporidiózy u ľudí⁽⁵⁾. Subtyp IIdA15G1, potvrdený na našom území, sa vyskytuje vo svete sporadicky a vyvoláva u pacientov miernu až stredne ťažkú hnačku. Zdokumentované prípady boli hlásené u ľudí a teliat v Ázii a Európe. Nato, aby sme pochopili molekulárnu epidemiológiu druhu *C. parvum*, je nevyhnutné identifikovať izoláty na úrovni subtypov.

LITERATÚRA

1. Čatár G, Sobota K. Cryptosporidiosis – parasitic intestinal infection. In: Reports of scientific Conference of the 5th Prowazels days, Komárno 1987; 21-23.
2. Ondriska F, Vrabcová I, Brindáková S, et al. The first reported cases of human cryptosporidiosis caused by *Cryptosporidium hominis* in Slovak Republic. Folia Microbiol 2013; 58: 69-73.
3. Hasajová A, Valenčáková A, Malčeková B, et al. Significantly higher occurrence of *Cryptosporidium* infection in Roma children compared with non Roma children in Slovakia. Eur. Journal of Clinical Microbiology and Infection Diseases 2014; 33: 1401-1406.
4. Alves M, Xiao L, Antunes F, et al. Distribution of *Cryptosporidium* subtypes in humans and domestic and wild ruminants in Portugal. Parasitol Res 2006; 99: 287-292.
5. Mravcová K, Štrkolcová G, Goldová M, et al. *Cryptosporidium parvum* infection in Calves from animal farm in Slovakia. J Vet Med Res 2019; 6: 1169-1174.

Niektoré zistenia naznačujú, že jednotlivé subtypové rodiny sú zoonotické a niektoré len antroponotické.

PodĎakovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore vedeckej grantovej agentúry VEGA č. 1/0536/18.

Konflikt záujmov: Autori vyhlasujú, že nemajú žiadny konflikt záujmov.

MVDr. Kristína Mravcová

Ústav parazitológie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Komenského 73, 041 81 Košice

e-mail: kristina.mravcova@student.uvlf.sk