

Diagnostika rickettsiových infekcií ELISA testom vyvinutým na BMC SAV: Porovnanie s komerčnými testami na vzorke pacientov zo Slovenska

Eva Boldišová¹, Eva Špitalská¹, Katarína Palkovičová¹, Vojtech Boldiš², Ľudovít Škultéty¹

¹Národné referenčné centrum pre surveillance a laboratórnu diagnostiku rickettsií RÚVZ Banská Bystrica pri Virologickom ústave, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava

²Oddelenie parazitológie, Medirex, a. s., Bratislava

Cieľom tejto štúdie bolo overiť kvalitu a detekčnú schopnosť diagnostického antigénu *Rickettsia akari* pripraveného v našom laboratóriu (RaAg). Za týmto účelom sme vyšetrili 139 sér pacientov na prítomnosť IgG protilátok proti rickettsiám a porovnali s výsledkami dvoch komerčných ELISA súprav firiem Fuller Lab a Vircell. Štatistické ukazovatele ako citlivosť (92,9 %) a špecifickosť (76,8 %) naznačili, že test pripravený použitím RaAg je porovnateľný s komerčnými testami, a je teda vhodný na diagnostiku rickettsiových infekcií.

Kľúčové slová: rickettsiázy, ELISA testy, IgG protilátky

Diagnosis of rickettsial infection using ELISA test developed at BMC SAS: Comparison to commercial tests on samples of patients from Slovakia

The aim of this study was to check the quality and verify the detection capability of the *Rickettsia akari* diagnostic antigen prepared in our laboratory (RaAg). Using this antigen, we examined 139 patient sera for the presence of IgG antibodies to rickettsiae and compared to the results of two commercial ELISA kits from Fuller Lab and Vircell. Statistical indicators such as sensitivity (92.9 %) and specificity (76.8 %) have suggested that the test prepared using RaAg is comparable to the commercial ones and is therefore suitable for the diagnosis of rickettsial infections.

Keywords: rickettsiosis, ELISA tests, IgG antibodies

NewsLab, 2020; roč. 11 (2): 77 – 78

Úvod

Celosvetovo rozšírené rickettsiázy sú vektormi prenášané ochorenia, ktorých pôvodcom sú *Rickettsie*, obligátne intracelulárne baktérie. *Rickettsie* týfusovej skupiny *R. typhi* a *R. prowazekii*, pôvodca historicky známeho škvrnitého týfusu, sa prenášajú všami a blchami. *Rickettsie* zo skupiny purpurových horúčok (SFGR) sú prenášané najmä kliešťami. Vstupnou bránou je teda koža, odkiaľ sa rickettsie rozširujú krvným obehom a infikujú endotel, niekedy aj vaskulárny systém hladkého svalstva⁽¹⁾. Na Slovensku sú rickettsie prenášané najmä kliešťami *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus* a *D. marginatus*⁽²⁾. V r. 2011 bolo zriadené Národné referenčné centrum pre surveillance a laboratórnu diagnostiku rickettsií pri Regionálnom úrade verejného zdravotníctva v Banskej Bystrici, ktorého hlavným poslaním je uskutočňovať sérologickú diagnostiku infekcií spôsobených rickettsiami a *Coxiella burnetii*.

Materiál a metódy

Séra pacientov sme obdržali z ambulancií ošetrojúcich lekárov po celom Slovensku. Na detekciu IgG protilátok v ELISA a IFA (pri šedej zóne ELISA) testoch sme použili antigén *Rickettsia akari* (RaAg, R) pripravený na našom oddelení a komerčné ELISA kity Spotted Fever *Rickettsia* IgG (Fuller Lab, F) a *Rickettsia conorii* ELISA IgG/IgM (Vircell, V). Informácie o pacientovi (pohlavie, vek, bydlisko, diagnóza, klinické príznaky a zaklieštenie) uvedené na žiadankách sme využili pre štatistické vyhodnotenie

významností ($p \leq 0,05$) v priamej súvislosti s výsledkami testov (<http://www.openepi.com/RbyC/RbyC.htm>). Následne sme zhodnotili citlivosť a špecifickosť (https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php).

Výsledky

Prítomnosť IgG protilátok voči SFGR bola potvrdená obooma komerčnými ELISA kitmi v 9 prípadoch. RaAg poskytol pozitívny výsledok pri 10 sérach, z ktorých 8 bolo v zhode s komerčnými testami. Len 1 sérum nebolo rozpoznané ako pozitívne. Naš test naznačil šedú zónu, a preto pozitivita bola potvrdená až s IFA. Všetky tri testy vykázali zhodu aj v neprítomnosť protilátok pri 88 sérach. Výsledky sa líšili len v 12 prípadoch, kde jeden z testov naznačil pozitívny výsledok a pri 30-tich šedej zóne. Následne bola vypočítaná citlivosť (pre R 92,9 %, F 100% a V 78,6 %) a špecifickosť (pre R 76,8 %, F 95,2 % a V 98,4 %) jednotlivých testov. Séroprevencia bola signifikantne vyššia u pacientov nad 41 rokov (11,9 %), žijúcich v meste (8,6 %; $p = 0,041$) a u pacientov s pozitívnou symptomatológiou pre rickettsiázy (12,3 %; $p = 0,006$). Rozdiely v séroprevencii pre opačné pohlavia (žena: 43,7 %, muži: 59,7 %) neboli štatisticky významné ($p = 0,364$).

Diskusia

Všetkými použitými ELISA testami sme potvrdili prítomnosť IgG protilátok voči SFGR u 5,8 % pacientov zo Slovenska. Na Slovensku by mohlo ísť o infekcie spôsobené

s *R. helvetica*, *R. monacensis*, *R. slovaca* alebo *R. raoultii*. Na porovnanie v Taliansku bolo detegovaných približne 1000 prípadov infikovaných *Rickettsia conorii*⁽³⁾ a v Portugalsku 9 prípadov ročne na 100,000 obyvateľov⁽⁴⁾. V Belgicku, Švajčiarsku, či vo Francúzsku boli diagnostikované infekcie s *R. conorii* priemerne u 50 pacientov ročne na 100,000 obyvateľov⁽⁵⁾.

Naše výsledky potvrdzujú cirkuláciu *Rickettsia* spp. na Slovensku. Poukazujú tým aj na skutočnosť, že diagnostike týchto infekčných ochorení je potrebné venovať pozornosť, a to najmä v prípadoch, keď príznaky ochorenia naznačujú pôvod infekcie.

LITERATÚRA

1. Masters EJ, Olson GS, Weiner SJ, et al. Rocky mountain spotted fever a clinician's dilemma. Arch Intern Med 2003; 163: 769-774.
2. Špitalská E, Boldiš V, Košťanová Z, et al. Incidence of various tick-borne microorganisms in rodents and ticks of central Slovakia. Acta virol 2008; 52: 175-179.
3. Raoult D, Lakos A, Fenollar F, et al. Spottless rickettsiosis caused by *Rickettsia slovaca* and associated with *Dermacentor* ticks. Clin Infect Dis 2002; 34: 1331-1336.
4. Oteo JA, Ibarra V, Blanco JR, et al. Epidemiological and clinical differences among *Rickettsia slovaca* rickettsiosis and other tick-borne diseases in Spain. Ann N Y Acad Sci 2003; 990: 355-356.
5. Komitova R, Lakos A, Aleksandrov A, et al. A case of tick-transmitted lymphadenopathy in Bulgaria associated with *Rickettsia slovaca*. Scand J Infect Dis 2003; 35: 213.

Záver

ELISA test na diagnostiku rickettsiových infekcií založený na antigéne *R. akari* vyvinutom na BMC SAV poskytuje zodpovedné výsledky, ktoré sú zhodné s komerčnými testami, a to najmä v prípade ak sa výsledky v šedej zóne potvrdia s IFA.

PodĎakovanie: Práca bola podporená projektmi APVV-19-0066 a Vega 2/0021/21.

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

Ing. Eva Boldišová

Virologický ústav, Biomedicínske centrum SAV
Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava
e-mail: virubeti@savba.sk