



newslab

časopis laboratórnej medicíny

Ročník XIV.



2023

SUPPLEMENT

Pri príležitosti vedeckej konferencie

**II. Aktuálne problémy
humánnej parazitológie**



ISSN 2454-0021 (online)



Vedecká konferencia

II. AKTUÁLNE PROBLÉMY HUMÁNNEJ PARAZITOLÓGIE

20. september 2023

konferenčná miestnosť **MEDIREX** GROUP ACADEMY n. o.,
laboratórneho komplexu na Galvaniho ul. 17/C, Bratislava

PROGRAMOVÝ VÝBOR

prof. RNDr. František Ondriska, PhD.
RNDr. Vojtech Boldiš, PhD.
doc. RNDr. Michal Štanko, DrSc.
doc. RNDr. Martina Horváthová, PhD., MPH

ĎAKUJEME

partnerom, ktorí podporili usporiadanie konferencie

Milé čitateľky, milí čitatelia,

po dvoch rokoch sme tu znova s druhým ročníkom konferencie Aktuálne problémy humánnej parazitológie. Zainteresovaní iste majú v pamäti možno odvážne usporiadanie prvého ročníka v čase koronakrízy. Po vyhodnotení tohto úvodného ročníka sme sa usporiadatelia zhodli, že sme urobili dobre. Napriek povinnému prekrytiu tvárovej časti rúškami konferencia prebehla bez ujmy na zdraví jej účastníkov. Mala veľký úspech, podľa plánu bolo prezentovaných 16 odborných prác a organizátori i účastníci konferencie sa jednoznačne zhodli na jej pokračovaní. Po diskusii sa organizátori i vedenie spoločnosti Medirex, a. s., dohodli organizovať konferenciu každý druhý rok, čím sa o. i. vyplní časový priestor medzi tradične organizovanými parazitologickými i mikrobiologickými konferenciami. A v neposlednom rade, ale veľmi podstatnom, konferenciu vďaka priazni a všemožnej podpore vedenia spoločnosti Medirex, a. s., môžeme usporiadať v priestoroch spoločnosti, čo je nesporná výhoda. Veľká vďaka.



Na druhom ročníku konferencie sa stretli parazitológovia z výskumných ústavov, vysokých škôl, diagnostických laboratórií aj z klinických pracovísk. Odprezentovaných bolo 14 nemenej zaujímavých príspevkov z rôznych oblastí parazitológie, ktoré sú obsahom tohto supplementu časopisu Newslab. Dozvedeli sme sa nové poznatky z oblasti diagnostiky parazitárnych nákaz, perspektívy v liečbe akantamébových infekcií, výskytu parazitov v rôznych vyšetrovaných skupinách populácie a regiónoch. Nechýbajú očakávané prezentácie ochorení prenášaných kliešťami. Priznám sa, očakával som trochu väčšiu aktívnu účasť klinických pracovníkov, celkom sa však nevytratil, niektorí sú súčasťou autorských kolektívov. S radosťou však vítam aktívnu účasť kolegov – parazitológov z vedeckých ústavov, vysokých škôl i diagnostických pracovísk z Českej republiky, čím dostáva naša konferencia prívlastok „s medzinárodnou účasťou“. Verím, že druhý ročník našej konferencie prinesie veľa nových, zaujímavých a podnetných poznatkov a bude sa aj v nasledujúcich rokoch tešiť čoraz väčšej pozornosti vedeckých, diagnostických, pedagogických a iných záujemcov o parazitológiu.

Prajem vám príjemné čítanie.

prof. RNDr. František Ondriska, PhD.
MEDIREX, a. s.

garant konferencie II. aktuálne problémy
humánnej parazitológie

Pôvodné práce

Porovnanie koprologických metód používaných v diagnostike črevných parazitov	61
František Ondriska, Vojtech Boldiš, Lucia Ondrejková, Jakub Steinhübel, Marcela Bastlová	
Kvantitatívne porovnanie účinnosti sedimentačnej metódy mertiolát jód formalínovej a flotačnej metódy so síranom zinočnatým	64
František Ondriska, Vojtech Boldiš, Lucia Ondrejková	
Diagnostika trichomonózy a možnosti optimalizácie kultivačného vyšetrenia pôvodcu <i>Trichomonas vaginalis</i>	66
Vojtech Boldiš, František Ondriska, Marcela Bastlová, Jakub Steinhübel, Ľubor Kováč, Nikola Kellnerová	
Epidemiológia a zdravotné riziká <i>Toxoplasma gondii</i> u vybraných skupín obyvateľstva	69
Daniela Antolová, Miroslava Fecková, Júlia Jarošová, Viktória Dandárová, Katarína Šimeková	
Fluorescenčný rozjasňovač Rylux – alternatíva ku Calcofluor White pre fluorescenčnú vizualizáciu cýst akantaméb	71
Martin Mrva, Mária Garajová	
Výskyt zoonotických hlístovcov <i>Anisakis</i> v baltických sledoch uvádzaných na trh na Slovensku	73
Mikuláš Oros, Daniel Barčák, Daniela Antolová, Miroslava Fecková, Tomáš Scholz	
<i>Strongyloides</i> infections in humans and other reservoir hosts in Dzanga-Sangha Protected Areas, Central African Republic	76
Eva Nosková, Klára Petrželková, Frédéric Stéphane Singa Niatou, Laurent Dumas, Vojtech Baláž, David Modrý, and Barbora Pařčo	

Prevalencia intestinálnych parazitov u detí hospitalizovaných v Detskej fakultnej nemocnici Košice	78
Michaela Kaduková, Andrea Schreiberová, Miroslava Petrášová, Gabriela Štrkolcová	
Kliešťami prenášané infekcie na Slovensku v rokoch 2021 – 2023	80
Eva Špitalská, Katarína Palkovičová, Eva Boldišová, Jana Kerlik, Ľudovít Škultéty	
Rozdielny trend ochorení na kliešťovú encefalitídu a lymskú boreliózu na Slovensku v prvých dvoch dekádach 21. storočia	82
Branislav Petko, Blažena Vargová, Zuzana Cellengová	

Prehľadové práce

Derivatizácia zlúčenín do formy fosfóniových solí – nová perspektívna stratégia eliminácie patogénnych akantaméb	85
Martin Mrva, Mária Garajová, Aneta Dušeková, Silvia Bittner Fialová, Miloš Lukáč	
Hepatálna kapilarióza – zabudnutá zoonóza?	87
Martina Miterpáková, Zuzana Hurníková, Grzegorz Zalesny	
Záchyty parazitárných agens alebo protilátok proti nim v plzeňskom regionu v létech 1981 – 2020	89
Karel Fajfrlík, Kristína Farkašová, Dominika Jadroňová	
Ovplyvnia klimatické zmeny výskyt machovcov na Slovensku?	91
Gabriela Štrkolcová, Michaela Kaduková, Andrea Schreiberová, Miroslava Petrášová	

Ročník 14, 2023, Supplement
Vychádza 3x ročne
Dátum vydania: september 2023

Redakčná rada:

Šéfredaktorka:

RNDr. Elena Tibenská, PhD.

Členovia:

Dr. Domenico Pangallo, DrSc.
 Dr. Boris Klempa, DrSc.
 RNDr. Martin Radina
 prof. MUDr. Milan Buc, DrSc.
 prof. RNDr. Ján Turňa, CSc.
 Ing. Pavol Sulo, CSc.
 Dr. Bálint Nagy, PhD.
 Dr. Branislav Zagrapan, PhD.
 Dr. Tomas Kovacic
 Dr. Gabriela Gubo
 Dr. Štefan Lukáč
 Mgr. Peter Baráth, PhD.
 RNDr. Ján Radvánszky, PhD.
 Dr. Jaroslav Bojňanský
 Dr. Katarína Vlniešková

Vydavateľ:

MEDIREX GROUP ACADEMY n. o.

Sídlo vydavateľa a adresa redakcie:

MEDIREX GROUP ACADEMY n. o.
 Novozámocká 1/67, 949 05 Nitra
 redakcia@newslab.sk, www.newslab.sk
 IČO: 37 98 68 05

Výkonná redaktorka:

Mgr. Martina Šoltéssová

Technická redaktorka:

Ing. Danica Paulenová

Grafická úprava:

Ing. Lukrécia Schiller

Všetky články sú plne recenzované.

Registrácia MK SR pod číslom

EV 231/23/EPP

ISSN 2454-0021 (online)

Časopis je indexovaný v Bibliographia medica Slovaca (BMS).

Citácie sú spracované v CiBaMed.

Citacia skratka: Newslab

Na informačné a nekomerčné účely je dovolené články v publikácii newslab voľne a bezplatne sťahovať, kopírovať, distribuovať, tlačiť, prehľadávať a odkazovať na ne. Je však potrebné, ak je to podľa spôsobu použitia možné, uvádzať ich autora a zdroj. Použitie článkov na iné účely a iným spôsobom je možné len so súhlasom vydavateľa.

Vydavateľ nenesie zodpovednosť za údaje a názory autorov jednotlivých článkov či inzerátov.

Porovnanie koprologických metód používaných v diagnostike črevných parazitov

František Ondriska^{1,2}, Vojtech Boldiš², Lucia Ondrejková¹, Jakub Steinhübel², Marcela Bastlová²

¹Trnavská univerzita. Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Trnava

²Medirex, a.s. člen Medirex Group, úsek parazitológie, Bratislava

V práci sme porovnali tri koprologické metódy priameho dôkazu črevných parazitov: i) Hrubý náter podľa Katoa, ii) Sedimentačnú techniku s použitím merthiolát-jód-formaldehydu (MIF) a iii) Flotačnú metódu so síranom zinočnatým podľa Fausta. Jednu skupinu vzoriek stolíc sme zamerali na efektívnosť záchytu prvokov, druhá skupina bola určená pre detekciu helmintov. MIF technika detegovala cysty prvokov citlivejšie (100 %) ako flotačná metóda podľa Fausta (89 %). Pre diagnostiku vajčiek helmintov vykazoval najvyššiu citlivosť náter podľa Katoa (97,2 %).

Kľúčové slová: črevné parazity, koprologická diagnostika, metódy, citlivosť

Comparison of coprological methods used in the diagnosis of intestinal parasites.

Summary

In our work, we compared three coprological methods of direct detection of intestinal parasites: i) the Kato tick technique, ii) the Merthiolate iodine formaldehyde concentration method (MIF) and iii) Faust's zinc sulfate flotation method. We focused on one group of stool samples for the efficiency of protozoan detection, and the second group was designed for helminth detection. For the detection of protozoa, the MIF technique detected protozoan cysts more sensitively (100 %) than Faust's flotation method (89 %). Kato smear showed the highest diagnostic reliability in detecting helminth eggs with high sensitivity (97.2 %).

Keywords: intestinal parasites, coprological examination, methods, sensitivity

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 61 – 63

Úvod

Patogénne parazity gastrointestinálneho systému vyvolávajú ochorenia, ktoré majú významný vplyv na zdravie a chorobnosť ľudí na celom svete. Sú spôsobené helmintmi alebo prvokmi, pričom klinické prejavy závisia od parazitárneho druhu, jeho virulencie, vývinového cyklu a najmä od veľkosti infekčnej dávky⁽¹⁾. Kvôli nešpecifickým prejavom je nevyhnutná definitívna diagnóza v laboratóriách, založená na vyšetrení stolice koprologickými metódami^(2,3). Keďže neexistuje „zlatý štandard“, laboratória používajú metódy podľa vlastného uváženia i možnosti, v niektorých prípadoch s nedostatčným výberom, pretože nepokrývajú záchyt všetkých črevných parazitov.

Cieľom tejto štúdie bolo porovnať účinnosť troch najpoužívanejších koprologických metód s vyhodnotením ich citlivosti a špecifickosti, ako parametre odrážajúce efektívnosť dôkazu parazitov gastrointestinálneho systému.

Materiál a metódy

Pre porovnanie záchytu protozoí sme vybrali 34 stolíc, z ktorých 18 stolíc obsahovalo parazitické prvky (13 *Entamoeba coli*, 3 *Giardia intestinalis*, 2 *Blastocystis hominis*, 2 *Entamoeba histolytica* a jedna stolica obsahovala *Ascaris lumbricoides* aj *G. intestinalis*). Do tejto skupiny sme zaradili kontrolne aj 16 stolíc bez prítomnosti parazitov. Pre záchyt helmintov sme vybrali 35 pozitívnych stolíc (30 stolíc ob-

sahovalo vajčká *A. lumbricoides*, 5 stolíc *Trichuris trichiura*, jedna stolica obsahovala vajčká *Clonorchis sinensis*, jedna *Hymenolepis nana* a jedna *Enterobius vermicularis*. Do tejto skupiny sme taktiež zaradili 16 stolíc bez nálezu parazitov.

Každú vzorku stolice sme vyšetřili metódou hrubého náteru podľa Katoa, koncentračnou metódou sedimentačného typu s merthiolát-jód-formalínom (MIF) a Faustovou flotačnou metódou so síranom zinočnatým⁽²⁾. Na koncentračné metódy sme použili súpravu Biosepar.

Citlivosť jednotlivých metód sme vyhodnotili pomocou intervalov spoľahlivosti pre 5 % hladinu pravdepodobnosti chyby⁽⁴⁾.

Výsledky

V skupine protozoí (**tabuľka 1**) sme porovnávali diagnostickú účinnosť predovšetkým koncentračných metód sedimentačnej (MIF) a Faustovej flotačnej metódy. Metóda hrubého náteru podľa Katoa je pre dôkaz prvokov irelevantná, napriek tomu v stolici č. 4 sme touto metódou identifikovali cysty *G. intestinalis*. V 32 stolicách (94 %) sme zistili obomi koncentračnými metódami zhodné nálezy, v stolici č. 1 a 7 sme Faustovou flotáciou cysty prvokov nezistili. Obe koncentračné metódy sa ukázali v diagnostike prvokov vysoko spoľahlivé, sedimentačná metóda MIF však detegovala cysty prvokov citlivejšie ako flotačná metóda ($P \leq 0,05$) (**tabuľka 1, 2**).

Tabuľka 1. Porovnanie koprologických metód na dôkaz črevných prvokov

Vz.č.	Kato	MIF	Faust	Sheater
1	negat	Bh	negat	negat
2	negat	Ec	Ec	Ch
3	negat	Ec	Ec	negat
4	Gi	Gi	Gi	negat
5	negat	Ec	Ec	negat
6	Al	Al, Gi	Al, Gi	negat
7	Al	Gi	negat	negat
8	negat	Ehi, Ec	Ehi, Ec	negat
9	negat	Ehi, Ec	Ehi, Ec	negat
10	negat	Bh	Bh	negat
11	negat	Ec	Ec	negat
12	negat	Ec	Ec	negat
13	negat	Ec	Ec	negat
14	negat	Ec	Ec	negat
15	negat	Ec	Ec	negat
16	negat	Ec	Ec	negat
17	negat	Ec	Ec	negat
18	negat	Ec	Ec	negat
19 – 34	negat	negat	negat	negat

Ec = *Entamoeba coli*, Gi = *Giardia intestinalis*, Ehi = *Entamoeba histolytica*, Bh = *Blastocystis hominis*, Al = *Ascaris lumbricoides*, Ch = *Cryptosporidium hominis*

Tabuľka 2. Vyhodnotenie spoľahlivosti črevných prvokov, metód pre dôkaz črevných prvokov

Parameter	MIF	Faust
Citlivosť (CI %)	100	89 ± 4,5
Špecifickosť (%)	100	100
Pozitívna prediktívna hodnota	100	100
Negatívna prediktívna hodnota (CI %)	100	88,9 ± 4,5

CI = interval spoľahlivosti (Confidence interval)

ne detegovali parazity taktiež v 43 stoliciach (82,7 %). Náter podľa Katoa vykázal v dôkaze vajčiek helmintov najvyššiu citlivosť (97,2 %) v porovnaní s koncentračnými metódami ($P \leq 0,05$), v citlivosti ktorých sme významný rozdiel nezistili (tabuľka 4).

Diskusia

Cieľ tejto práce vyplýval z konkrétnej potreby prispieť k určitej optimalizácii a šandardizácii koprologických metód v diagnostike parazitóz v rutinných laboratóriách. Štandardné postupy pre vyšetrenie črevných parazitóz sú síce uvedené aj v legislatívnom dokumente MzSR⁽⁶⁾, avšak je na laboratóriu, ktoré s týchto metód použije. Podľa našich skúseností

Tabuľka 3. Porovnanie diagnostickej efektívnosti koprologických metód pre dôkaz helmintov ($n = 52$)

Vz. č.	Kato	MIF	Faust
1	Al	Al	Al
2	Al	negat	negat
3	Al	negat	negat
4	Al, Tt	Al, Tt	Al, Tt
5	Al	negat	negat
6	Al	Al	Al
7	Al	Al	Al
8	Al	Al	Al
9	Tt	Tt	Tt
10	Al	Al	Al
11	Al	negat	Al
12	Al	Al	Al
13	Al	Al	Al
14	Al	Al	Al
15	Al	Al	Al
16	Al, Tt	Al, Tt	Al, Tt
17	Al	Al	Al
18	Al	negat	negat
19	Al	Al	Al

Al = *Ascaris lumbricoides*, Tt = *Trichuris trichiura*, Ev = *Enterobius vermicularis*, Hn = *Hymenolepis nana*, Cs = *Clonorchis sinensis*, Ss = *Strongyloides stercoralis*

V druhej skupine pri porovnaní metód na dôkaz helmintov (tabuľka 3) sme v nátere podľa Katoa zistili vajčká všetkých očakávaných helmintov až na stolicu č. 36, kde sme vajčká *Clonorchis sinensis* identifikovali iba sedimentačnou metódou MIF. Zhodu nálezov sme všetkými metódami zaznamenali u 41 stolíc (78,8 %). Zhodné výsledky metód podľa Katoa a MIF sme zistili u 44 stolíc (84,6 %). Metóda podľa Katoa a Faustova flotácia vykázala zhodu v 43 výsledkoch (82,7 %) a koncentračné metódy MIF a podľa Fausta zhodu

Vz. č.	Kato	MIF	Faust
20	Cs	Cs	negat
21	Ev	negat	negat
22	Ss	Ss	negat
23	Al	Al	Al
24	Al	Al	Al
25	Al, Tt	Al, Tt	Al, Tt
26	Al	Al	Al
27	Ev	negat	Ev
28	Al	Al	Al
29	Al, Tt	negat	Al, Tt
30	Al	Al	Al
31	Al, Tt, Hn	Al, Tt, Hn	Al, Tt, Hn
32	Al	Al	Al
33	Al	Al	Al
34	Al	Al	Al
35	Al	Al	Al
36	negat	Cs	negat
37 – 52	negat	negat	negat

Tabuľka 4. Vyhodnotenie parametrov spoľahlivosti diagnostických metód pre dôkaz helmintov

Parameter	Kato	MIF	Faust
Citlivosť (CI, %)	97,2 ± 4,5	81,1 ± 10,5	77,8 ± 11,1
Špecifickosť (%)	100	100	100
Pozitívna prediktívna hodnota	100	100	100
Negatívna prediktívna hodnota	94,11 ± 6,3	69,6 ± 12,3	66,7 ± 12,7

niektoré laboratóriá používajú iba metódu hrubého náteru, napr. podľa Katoa, iné iba niektorú z koncentračných metód.

Pre diagnostiku črevných prvokov sa MIF technika ukázala v porovnaní s Faustovou metódou citlivejšia (100 %, resp. 89 %, $P \leq 0,05$). Z metód na dôkaz helmintov dosiahla najvyššiu citlivosť metóda hrubého náteru podľa Katoa (97,2 %), sedimentačná MIF metóda vykázala 88,1 % a flotačná metóda podľa Fausta 77,8 % citlivosť. Naše výsledky sú v podstate identické s výsledkami Alyaniho et al.⁽⁷⁾, ktorí taktiež zistili pre dôkaz prvokov citlivejšiu sedimentačnú Ritchieho metódu ako Faustovu metódu. Citlivosť Ritchieho metódy bola 100 % v porovnaní s Faustovou metódou, ktorou dosiahli

93,75 % citlivosť. Podobne Allam et al.⁽⁸⁾ metódou podľa Katoa a Katza zistili najvyššiu mieru spoľahlivosti v diagnostike helmintóz. Naopak, Inês et al.⁽⁹⁾ zistili významne vyššiu efektivitu vo Faustovej flotácii ako u sedimentačných metód pre detekciu vajíčok *T. trichuria*.

Záver

Z tohto porovnania jednoznačne vyplýva nutnosť kombinácie metód hrubého náteru podľa Katoa s koncentračnou metódou sedimentačného, príp. flotačného typu. Použitie jednej metódy v koprologickej diagnostike črevných parazitov je nedostačujúce.

LITERATÚRA

1. Ondriska F, Boldiš V, Garajová M, Mrva M. Klinická parazitológia. 1. vyd. Bratislava : PRIF UK, 2016.
2. Ananias FL, Ferraz RRN, Barbosa AP, et al. Evaluation of the sensitivity of Faust method and spontaneous sedimentation for the diagnosis of giardiasis. Rev Cubana Med Trop 2016; 68(2): 157 – 164.
3. Ondriska F, Boldiš V, Kaiglová A, a spol. Atlas parazitov človeka. VEDA: Bratislava, 2022; 144 s.
4. Venčíkov AI, Venčíkov VA. Základní metody statistického zpracování dat ve fyziologii. 1. vyd. Praha: Avicenum. 1977.
5. Czirfuszová M, Horniačková M, Nikš M, a spol. Štandardný postup pre laboratórnu diagnostiku v klinickej mikrobiológii. Vestník MzSR: Zoznam schválených štandardných postupov. 2019; 67, osobitné vydanie, s. 406 – 422.
6. Alyani D, Murhandarwati EH, Ernaningsih E. Comparing the Sensitivity and Specificity of Zinc Sulphate Flotation Method to Formol Ether Sedimentation Method in Identifying Intestinal Protozoa's Cysts. Trop Med J 2015; 3(2): 176 – 183.
7. Allam AF, Farah HF, Loftly W, et al. Comparison among FLOTAC, Kato-Katz and Formalin Ether Concentration Techniques for Diagnosis of Intestinal Parasitic Infections in School Children in an Egyptian Rural Setting. Parasitology 2020; 148(3): 289 – 294.
8. Inês EJ, Pacheco FTF, Pinto MC, et al. Concordance between the zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation methods for the diagnosis of intestinal parasites. Biomedica 2016; 36(4): 519 – 524.

prof. RNDr. František Ondriska, PhD.

Medirex Group a.s., Úsek parazitológie
Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava
e-mail: frantisek.ondriska@medirex.sk

Kvantitatívne porovnanie účinnosti sedimentačnej metódy mertiolát-jód-formalínovej a flotačnej metódy so síranom zinočnatým

František Ondriska^{1,2}, Vojtech Boldiš², Lucia Ondrejková¹

¹Trnavská univerzita. Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Katedra laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Trnava

²Medirex, a.s. člen Medirex Group, úsek parazitológie, Bratislava

Pri kvantitatívnom porovnaní citlivosti koncentračných metód pre dôkaz cysty prvoka *Entamoeba coli* sme vyššiu efektívnosť zistili v mertiolát-jód-formalínovej (MIF) sedimentácii, ktorou sme v 100 µl sedimentu zistili významne vyšší počet cyst *Entamoeba coli* v porovnaní s Faustovou flotáciou (87,0 %, resp. 77,7 %; $P \leq 0,05$). Avšak, pri porovnaní citlivosti týchto koncentračných metód pre dôkaz vajíčok *Ascaris lumbricoides* Faustova flotačná metóda so síranom zinočnatým detegovala významne viac vajíčok (v 100 µl) ako sedimentačná MIF metóda (31,3 %, resp. 0,4 %; $P \leq 0,05$).

Kľúčové slová: koncentračná metóda, MIF, Faustova flotácia, citlivosť

Quantitative comparison of the effectiveness of the Merthiolate iodine formaldehyde sedimentation method and the zinc sulfate flotation method.

In a quantitative comparison of the sensitivity of the methods for the detection of *Entamoeba coli* cysts, we found higher efficiency in Merthiolate-Iodine-Formaldehyde (MIF) sedimentation, by which we found a significantly higher detection of *Entamoeba coli* cysts in 100 µl of sediment compared to Faust's flotation (87.0% and 77.7% respectively; $P \leq 0.05$). However, when quantitatively comparing the sensitivity of both concentration methods for the capture of *Ascaris lumbricoides* eggs, Faust's flotation method with zinc sulfate detected significantly more eggs (in 100 µl) than the MIF method (31.3% and 0.4%, respectively; $P \leq 0.05$).

Keywords: Concentrations method, MIF, flotation method according to Faust, sensitivity.

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 64 – 65

Úvod

Črevné parazity sú veľkým problémom verejného zdravia a ich presná diagnóza je veľmi dôležitá. V predchádzajúcej štúdii sme sa venovali porovnaniu metód koprológickej diagnostiky najčastejšie používaných v rutinej diagnostike v našich laboratóriách. V štúdii zameranej na diagnostickú efektívnosť sme pokračovali s cieľom kvantitatívne vyhodnotiť a porovnať účinnosť dvoch koncentračných techník na detekciu črevných parazitov v laboratórnych podmienkach.

Materiál a metódy

Pre porovnanie dôkazu vajíčok helmintov sme pripravili suspenziu stolice obsahujúcu 2 300 vajíčok *Ascaris lumbricoides* v 1 ml. Túto základnú suspenziu stolice sme ďalej nariedili v pomere 1: 2, 4 a 8 a pre spracovanie Mertiolát-jód-formaldehýdovou (MIF) metódou a flotačnou metódou podľa Fausta sme negatívnu stolicu o veľkosti lieskového orecha naočkovali 250 µl

suspenzie z každého riedenia. Do porovnania detekcie prvokov sme do stolice veľkosti lieskového orecha naočkovali 100 µl suspenzie stolice s 22 245 cystami *Entamoeba coli*. Pripravené stolice sme dôkladne zhomogenizovali a vyšetrili sedimentačnou i flotačnou metódou technikou BIO-separ⁽¹⁾. Frekvenciu parazitárnych nálezov sme vyhodnotili pomocou intervalov spoľahlivosti pre 5 percentnú hladinu pravdepodobnosti chyby⁽²⁾.

Výsledky

1. Porovnanie citlivosti koncentračných metód pre dôkaz vajíčok *Ascaris lumbricoides* (tabuľka 1). Zo všetkých pripravených riedení sme vyšetrovali prípravky o objeme 100 µl sedimentu alebo povrchovej blanky.

Z tabuľky 1 je zrejmá jednoznačná kvantitatívna dominancia vajíčok *A. lumbricoides* dokázaných koncentráciou v sírane zinočnatom. Vo všetkých štyroch riedeniach s infekčnými náložami vajíčok flotácia detegovala v priemere 50 % vajíčok

Tabuľka 1. Detekcia vajíčok *A. lumbricoides* koncentračnými metódami v modelovom pokuse

Počet vajíčok <i>A. lumbricoides</i> dodaných do stolice (250 µl)		Počet vajíčok v MIF metóde Abs/%		Počet vajíčok vo Faustovej metóde Abs/%	
Riedenie 1:	Počet vajíčok	Počet v 100 µl	Počet v 250 µl/(%)	Počet v 100 µl/(%)	Počet v 250 µl (%)
Konc.	575	2 (0,4)	5 (0,9)	180 (31,3)	450 (78,3)
2	288	1 (0,4)	2,5 (0,9)	41 (14,2)	103 (35,7)
4	144	0	0	24 (16,4)	60 (41,1)
8	72	0	0	13 (17,8)	33 (44,5)

z pôvodnej nálož, v koncentrovanej nálož až 78,3 % vajčiek. Sedimentačná metóda MIF naopak zachytila v dodanom objeme 250 µl iba necelé jedno percento vajčiek, ktoré boli dodané v koncentrovanej nálož a riedenej 1 : 2.

Diskrepancie sú veľké, ale dajú sa vysvetliť technikou spracovania jednotlivých metód, kde hlavne v sedimentačnej metóde sa časť vajčiek *A. lumbricoides*, ktoré majú nerovnaký chitínový povrch s rôznymi výstupkami, zachytáva na filtre, časť je zachytená v zátke z detritu, ktorý sa odstraňuje. Naopak, pri flotácii sú straty vajčiek iba pri premývaní a niektoré nemusia vyflotovať. Tieto straty, ako to vidno z **tabuľky 1**, sú však významne menšie ako pri sedimentačnej metóde.

Tento predpoklad sme si overili na jednoduchom pokuse. Vybranú vzorku stolice o veľkosti lieskového orecha s vajčkami *A. lumbricoides* sme vyšetrili sedimentačnou metódou MIF a flotačnou metódou so síranom zinočnatým štandardnými postupmi, tak ako vyšetrujeme každú stolicu v rutinej diagnostike. Testy sme vyhodnotili tak, že pri MIF metóde sme spočítali počty vajčiek v sedimente, vo výplachu z filtra, v zátke detritu. Vo flotácii v sírane zinočnatom sme taktiež spočítali vajčka v povrchovej blanky zachytenej na krycom sklíčku a taktiež vajčka v sedimente. Počet vajčiek sme prepočítali na jeden mililiter. Výsledky sú uvedené v **tabuľke 2**.

Tabuľka 2. Dôkaz vajčiek *A. lumbricoides* v jednotlivých vrstvách v koncentračných metódach

Koncentračná metóda	Počet vajčiek/ml
MIF sediment*	220
MIF Filter	401
MIF vrstva detritu	0
Faust povrchová blanka*	1460
Faust sediment	12

* Štandardne vyšetrované preparáty

Vyššie uvedený predpoklad sme potvrdili, napriek tomu nás prekvapil vysoký počet vajčiek *A. lumbricoides* zachytených na kovovom sitku systému BIO-separ, ktoré unikajú diagnostikej pozornosti a výťažnosti MIF metódy.

2. Porovnanie efektivity koncentračných metód pre diagnostiku protozoí. Výsledok porovnania oboch metód je uvedený v **tabuľke 3**.

Porovnaním diagnostickej efektívnosti záchytu cýst prvoka *E. coli* sme spočítaním cýst prvoka v 100 µl sedimentu

Tabuľka 3. Efektívnosť záchytu cýst *Entamoeba coli* koncentračnými metódami

Koncentračná metóda	Počet cýst v prepočte na 100 µl koncentráta	
	abs	CI (%; P ≤ 0,05)
Sedimentácia MIF	19 360	87,0 ± 0,4
Faustova flotácia	17 280	77,7 ± 0,6

a povrchovej blanky flotačného roztoku zistili významne vyššiu detekciu cýst v sedimentačnej MIF metóde. Aj takto jednoducho postavená metóda vypovedá o porovnateľnej citlivosti oboch metód pre diagnostiku črevných protozoí.

Diskusia

Cieľom tejto štúdie bolo kvantitatívne vyhodnotenie a porovnanie diagnostickej citlivosti koncentračných metód: sedimentačnej MIF metódy a Faustovej flotačnej metódy. V rámci efektívnosti záchytu vajčiek *Ascaris lumbricoides* sa vo vyššej miere uplatnila flotačná metóda podľa Fausta, ktorá v nami pripravenej riedenej vzorke zachytila 78,3 % vajčiek z použitej celkovej nálož. Inú situáciu sme zaznamenali pri detekcii cýst prvoka *Entamoeba coli*, pri ktorej dominovala sedimentačná MIF metóda, ktorou sme v sedimente zistili vyšší záchyt cýst v porovnaní s Faustovou flotáciou. Podobne Inês et al.⁽³⁾ zistili významne citlivejšiu flotačnú metódu so síranom zinočnatým pri diagnostike vajčiek helmintov *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis* a lariev *Strongyloides stercoralis* v porovnaní so sedimentáciou. Pri dôkaze prvokov však, na rozdiel od nás, nezistili významné rozdiely. Taktiež Pakdad et al.⁽⁴⁾ považujú sedimentačné koncentračné metódy citlivejšie na dôkaz prvokov. S našimi výsledkami nekorešpondujú výsledky Ananias et al.⁽⁵⁾, ktorí porovnávali citlivosť záchytu *Giardia intestinalis* nimi použitej sedimentácie (tzv. Lutzova technika) a flotácie v ZnSO₄. Faustovou metódou zistili vyšší počet cýst ako sedimentačnou metódou. Výsledkové diskrepancie mohli byť spôsobené použitím iných variantov sedimentačných techník a našou technikou.

Záver

Z oboch prác, ktoré sme zamerali na porovnanie diagnostickej efektívnosti koprologických metód, aj v tejto práci sme potvrdili nutnosť používania kombinácie minimálne dvoch techník pre spoľahlivú diagnostiku črevných parazitov. Pre rutinnú diagnostiku odporúčame kombináciu náteru podľa Katoa a niektorú z koncentračných metód.

LITERATÚRA

- Ondriska F, Boldiš V, Garajová M, Mrva M. Klinická parazitológia. 1.vyd. Bratislava: PRIF UK, 2016.
- Venčíkov AI, Venčíkov VA. Základní metody statistického zpracování dat ve fyziologii. 1. vyd. Praha: Avicenum. 1977.
- Inês EJ, Pacheco FTF, Pinto MC, et al. Concordance between the zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation methods for the diagnosis of intestinal parasites. Biomedica 2016; 36(4): 519–524.

- Pakdad K, Nasab SDM, Damraj FA, Ahmadi NA. Comparing the efficiency of four diagnostic concentration techniques performed on the same group of intestinal parasites. Alex J Med 2018; 54(4): 495–501.
- Ananias FL, Ferraz RRN, Barbosa AP, et al. Evaluation of the sensitivity of Faust method and spontaneous sedimentation for the diagnosis of giardiasis. Rev Cubana Med Trop 2016; 68(2): 157–164.

prof. RNDr. František Ondriska, PhD.

Medirex Group a.s., Úsek parazitologie
Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava
e-mail: frantisek.ondriska@medirex.sk

Diagnostika trichomonózy a možnosti optimalizácie kultivačného vyšetrenia pôvodcu *Trichomonas vaginalis*

Vojtech Boldiš¹, František Ondriska^{1,2}, Marcela Bastlová¹, Jakub Steinhübel¹, Ľubor Kováč³, Nikola Kellnerová²

¹Medirex Group a.s., Úsek parazitológie, Bratislava

²Trnavská univerzita, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnava

³Medirex Group a.s., Úsek virológie, sérológie a molekulovej biológie infekčných ochorení, Bratislava

Bičíkovitý parazitický prvok *Trichomonas vaginalis* postihuje urogenitálny systém a je pôvodcom sexuálne prenosného ochorenia – trichomonózy. Cieľom tejto práce bolo komplexné štúdium rastových schopností trichomonád a taktiež vyhodnotiť 4-ročné obdobie výskytu trichomonózy v SR. Z metód sme použili kultivačné vyšetrenie a dôkaz DNA *T. vaginalis* pomocou PCR. Z rastových kriviek vyplýva, že so zvyšujúcim počiatočným inokulom *T. vaginalis* sa zvyšuje aj generačná doba (GD), čo reprezentujú naše výsledky: 12,9 h GD pre inokulum 1 – 5000 buniek; 17,3 h GD pre inokulum 5 001 – 10 000 buniek; 25,8 h GD pre inokulum 10 001 – 20 000 buniek a 55,5 h GD pre inokulum od 20 001 buniek. Taktiež s rastom inokula sa zvyšuje čas maxima pomnoženia: 2,1 dňa pre inokulum 1 – 5 000 buniek, 3,6 dňa pre inokulum 5 001 – 10 000 buniek, 5,2 dňa pre inokulum 10 001 – 20 000 buniek. Počas 4 rokov sme pomocou kultivácie potvrdili 1,7 % prevalenciu tejto sexuálne prenosnej infekcie zo 17 295 vyšetrených pacientov.

Kľúčové slová: *Trichomonas vaginalis*, trichomonóza, kultivácia, PCR

Diagnosis of trichomonosis and the possibility of optimizing the culture examination of the causative agent *Trichomonas vaginalis*.

The flagellated parasitic protozoan *Trichomonas vaginalis* affects the urogenital system and is responsible for the sexually transmitted disease – trichomonosis. This work aimed to comprehensively study the growth abilities of trichomonads and evaluate the occurrence of trichomonosis in SR during a 4-year period. The culture examination and DNA proof of *T. vaginalis* by PCR were used. It follows from the growth curves that as the initial inoculum of cells increases, the generation time (GT) also increases. Our results represent it: 12.9 hours GT for inoculum 1 – 5000 cells, 17.3 hours GT for inoculum 5001 – 10000 cells, 25.8 hours GT for inoculum of 10,001 – 20,000 cells and 55.5 hours GT for inoculum from 20001 cells. Also, the maximum multiplication time increases with the growth of the inoculum: 2.1 days for inoculum of 1 – 5000 cells, 3.6 days for inoculum of 5001 – 10000 cells, and 5.2 days for inoculum of 10001 – 20000 cells. By cultivation method, we confirmed a 1.7 % prevalence of this sexually transmitted infection from 17,295 examined patients during 4 years.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, trichomonosis, cultivation, PCR

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 66 – 68

Úvod

Klinický priebeh trichomonózy môže byť asymptomatický, ktorý pomerne často býva typický pre mužov, ale ochorenie tiež býva sprevádzané prostatitídou. U žien pri infekcii dochádza k rozvoju symptómov v podobe vaginitídy, uretritídy a dyzúrie. Patogénny prvok sa prenáša predovšetkým kontaktom slizníc počas nechráneného pohlavného styku. Spomínaný agens cysty netvorí, vyskytuje sa len vo forme pohyblivého trofozoitu. Diagnostika ochorenia spočíva v determinácii trichomonád vo vyšetřovanom materiáli pomocou kultivácie a následnom mikroskopickom dôkaze (obrázok 1) a z nadstavbových molekulárných metód sa používa PCR^(1,2).

Materiál a metodika

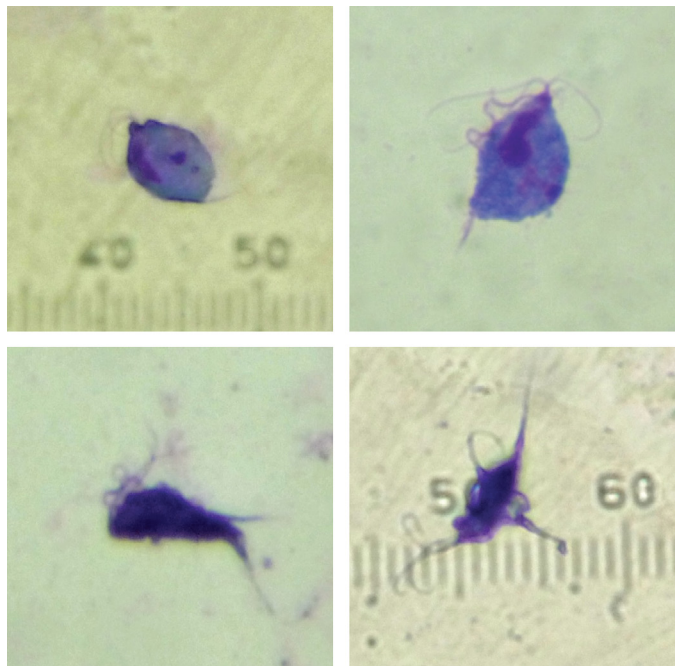
Spolu sme vyšetřili 17 295 pacientov suspektných na trichomonózu. Išlo o 13 973 (80,8 %) žien a 3 322 (19,2 %) mu-

žov. Z hľadiska bydliska 14 871 (86 %) pochádzalo zo západného, 1 789 (10,3 %) z východného a 635 (3,7 %) zo stredného Slovenska. Väčšina vzoriek (13 900, 80,4 %) pochádzala od pacientov s diagnózou choroby močovo pohlavnej sústavy a symptomatológiou prislúchajúcou trichomonóze. Na dosiahnutie stanovených cieľov sme pri patientskych vzorkách (výtery z urogenitálneho systému) použili kultivačné vyšetřenie (*Trichomonas* medium, Biolab, Inc., Budapešť, Maďarsko) a dôkaz DNA *T. vaginalis* pomocou real-time PCR (Real-Best DNA *Trichomonas vaginalis*).

Výsledky

Kultivačným dôkazom sme potvrdili, že so zvyšujúcim počiatočným inokulom *T. vaginalis* sa zvyšuje generačná doba (GD) a zvyšuje sa aj čas maxima pomnoženia (inokulum do 5 000 buniek – 12,9 h GD a maximum na 2,1 dňa; inoku-

Obrázok 1. Morfológia *T. vaginalis* po farbení podľa Giemsa; viditeľné bunkové štruktúry: bičičky, undulujúca membrána, axostyl, jadro, cytoplazma a hydrogenozómy; v spodnej časti sú znázornené bunky v procese binárneho delenia.



lum do 10 000 buniek – 17,3 h GD a maximum na 3,6 dňa; inokulum do 20 000 buniek – 25,8 h GD a maximum na 5,2 dňa) (**graf 1**). Počas štyroch rokov (2017 – 2020) sme pomocou kultivácie determinovali 1,7 % prevalenciu trichomonózy u 17 295 vyšetovaných pacientov. Vyhodnocovaním výsledkov sa nám potvrdilo, že týmto ochorením trpia viac ženy ako muži, pričom najvyššiu mieru pozitivity sme zaznamenali vo vekovej kategórii 41 – 60 rokov. Z hľadiska bydliska obyvateľstva sme zistili, že trichomonózou za dané obdobie bolo infikovaných najviac ľudí z východného Slovenska a následne

zo západného a stredného Slovenska. Tieto pozorované rozdiely boli aj štatisticky významné ($p \leq 0,05$). V porovnaní so zlatým štandardom – kultiváciou, real-time PCR nedosahuje takú detekčnú schopnosť, čo vyplýva z výsledkov, kde kultivácia dosiahla viac ako dvojnásobok prevalence v porovnaní s využitím PCR (1,7 % > 0,8 %).

Diskusia

V štúdiách z roku 2021 sa celosvetový počet prípadov trichomonózy odhadoval na 142 mil. Najvyšší počet hlásených prípadov je v Afrike a najnižší v Európe. V SR dokumentujeme 1,7 % prevalenciu trichomonózy. Prevalencia trichomonózy v Poľsku je relatívne na nízkej úrovni. Nízke prevalence boli hlásené aj v iných európskych krajinách vrátane Holandska (0,4 %), Talianska (3,86 %), Veľkej Británie (0,3 %) alebo Islandu (0 %) ⁽³⁻⁶⁾. Výskyt trichomonózy vo Francúzsku je rovnaký ako u nás ⁽⁷⁾. Na Ukrajine je výskyt trichomonózy pomerne bežný, v rokoch 1994 až 2000 sa eviduje približne 300 infikovaných jedincov na 100 000 obyvateľov ⁽⁸⁾.

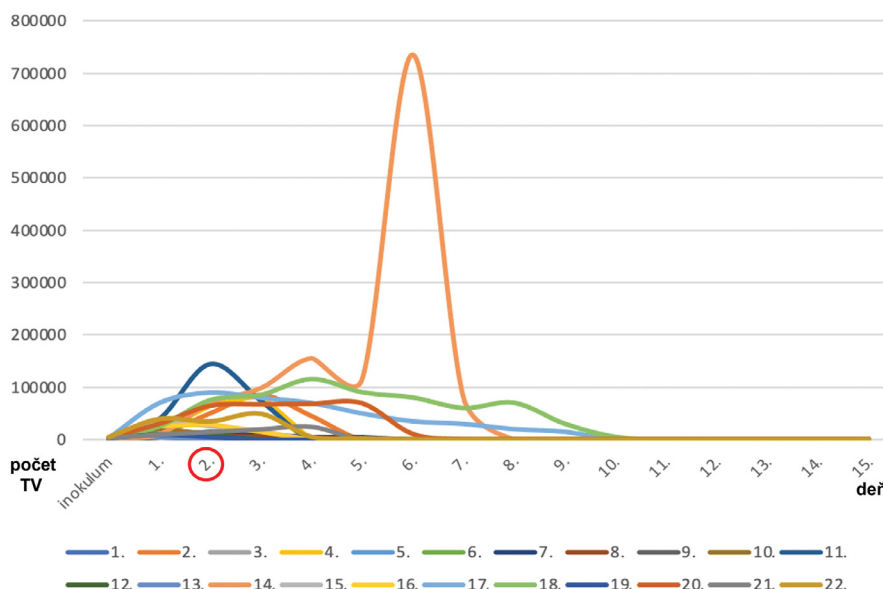
V našej práci sme zistili štatisticky významné rozdiely v súvislosti s trichomonózou v rámci pohlavia, vekových skupín, bydliska a predikovanej diagnózy. Rozdiely v prevalencii trichomonózy medzi pohlaviami môžu byť spôsobené aj anatomickými rozdielmi močovej trubice u mužov, v ktorej je nedostatok živín pre prvky a taktiež trichomonády sú vyplavené prúdom moču v porovnaní s vaginálnym prostredím u žien. Ďalším faktorom je, že v reprodukčnom veku žien prítomnosť železa a ženských pohlavných hormónov môžu podporovať trichomonádovú infekciu ⁽⁹⁾.

Naša práca odhalila niektoré dôležité prvky dynamiky rastu testovaných kmeňov *T. vaginalis* a potvrdila vhodnosť použitého rastového média na kultiváciu trichomonád.

Záver

Kultivačný dôkaz je diagnostickou metódou, ktorá je plne postačujúcou k diagnostike trichomonádovej infekcie a možno ju považovať stále za zlatý štandard.

Graf 1. Rastové krivky *T. vaginalis* kultúr s počiatočným inokulom 1 – 5 000 buniek, priemer maxima pomnoženia 2,1 dňa



LITERATÚRA

1. Ondriska F. Lexikón lekárskej parazitológie. Bratislava: HPL spol. s.r.o., 2012: 81 s.
2. Leitsch D. Recent advances in the molecular biology of the protist parasite *Trichomonas vaginalis*. Faculty Opinions 2021; 10(26): 10-26.
3. Trevisan A, Mengoli C, Rossi L, et al. Epidemiology of reproductive tract infections in a symptomatic population of North-East of Italy. *Minerva Gynecology* 2008; 60(2): 135-142.
4. Field N, Clifton S, Alexander S, et al. *Trichomonas vaginalis* infection is uncommon in the British general population: implications for clinical testing and public health screening. *Sexually Transmitted Infections* 2018; 94(3): 226-229.
5. Hilmarsson I, Sigmundsdóttir E, Eiríksdóttir A, et al. *Trichomonas vaginalis* is rare among women in Iceland. *Acta dermatovenerologica* 2017; 97(10): 1258-1260.
6. Coul MLE, Peek D, Yolanda WM, et al. *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea*, and *Trichomonas vaginalis* infections among pregnant women and male partners in Dutch midwifery practices: prevalence, risk factors, and perinatal outcomes. *Reproductive Health* 2021; 18(1): 132.
7. Pereyre S, Nadalié LC, Bébéar C. *Mycoplasma genitalium* and *Trichomonas vaginalis* in France: a point prevalence study in people screened for sexually transmitted diseases. *Clinical Microbiology and Infection* 2017; 23(2): 122.
8. Mavrov IG, Bondarenko MG. The evolution of sexually transmitted infections in the Ukraine. *Sexually Transmitted Infections* 2002; 78(3): 219-221.
9. Figueroa-Angulo EE, Rendón-Gandarilla F, Puente-Rivera J, et al. The effects of environmental factors on the virulence of *Trichomonas vaginalis*. *Microbes and Infection* 2012; 14(15): 1363-1500.

RNDr. Vojtech Boldiš, PhD.

Medirex Group a.s., Úsek parazitológie
Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava
e-mail: vojtech.boldis@medirex.sk

Epidemiológia a zdravotné riziká *Toxoplasma gondii* u vybraných skupín obyvateľstva

Daniela Antolová¹, Miroslava Fecková^{1,2}, Júlia Jarošová¹, Viktória Dandárová¹, Katarína Šimeková³

¹Parazitologický ústav SAV, v. v. i., Košice

²Východoslovenský onkologický ústav, a. s., Košice

³Klinika infektológie a cestovnej medicíny JLF UK a UN Martin

Toxoplazmóza je kozmopolitne rozšírená parazitóza spôsobovaná jednobunkovým parazitom *Toxoplasma gondii*. Cieľom práce bolo zistiť séroprevalenciu toxoplazmózy u vybraných skupín obyvateľstva. Analýza 1 382 sér preukázala prítomnosť protilátok proti *T. gondii* u 21,0 % respondentov, pričom medzi analyzovanými skupinami boli zistené štatisticky významné rozdiely, ktoré umožnili identifikovať povolania a záľuby, ktoré zvyšujú riziko nakazenia.

Kľúčové slová: *Toxoplasma gondii*, toxoplazmóza, epidemiológia

Epidemiology and health risks of *Toxoplasma gondii* in selected population groups

Toxoplasmosis is a cosmopolitan zoonosis caused by the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. The study aimed to determine the seroprevalence of toxoplasmosis in selected population groups. Serological examination of 1382 sera revealed positivity in 21.0% of respondents, with significant differences detected among analysed groups. It allowed the identification of occupations or hobbies that can increase the risk of infection.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, epidemiology

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 69 – 70

Úvod

Toxoplazmóza je kozmopolitne rozšírená parazitóza spôsobovaná jednobunkovým parazitom *Toxoplasma gondii*. Infekcia sa u ľudí vyskytuje pomerne bežne a odhaduje sa, že asi tretina ľudskej populácie trpí latentnou toxoplazmózou⁽¹⁾. U imunokompetentných osôb prebieha toxoplazmóza vo väčšine prípadov bez príznakov alebo s miernymi prejavmi. Ochorenie ohrozuje predovšetkým tehotné ženy, keď pri primoinfekcii počas tehotenstva môže dôjsť k transplacentárnemu prenosu *T. gondii* na plod a spôsobiť jeho poškodenie, predčasný pôrod alebo až potrat⁽²⁾. Ďalšou ohrozenou skupinou sú imunokompromitované osoby (HIV pacienti, pacienti na imunosupresívnej terapii a pod.), u ktorých sa zvyšuje riziko rozvoja akútnej infekcie, ktorá môže prebiehať ako fatálne diseminované ochorenie, myokarditída, pneumónia alebo encefalitída⁽³⁾. Ľudia sa môžu nakaziť po požití infekčných oocýst z prostredia alebo vody, po požití tkanivových cýst v nedostatočne tepelne upravenom mäse z nakazených medzihostiteľov, napr. domácich zvierat či zveriny a bola potvrdená súvislosť medzi toxoplazmózou u ľudí a konzumáciou nepasterizovaného kozieho mlieka a syra^(3,4). Cieľom práce bolo zistiť séroprevalenciu toxoplazmózy u vybraných skupín obyvateľstva s rôznym rizikom nakazenia.

Materiál a metodika

V štúdiu boli použité krvné séra celkovo 1 382 dobrovoľných respondentov, ktorí neuvádzali žiadne klinické príznaky akútneho ochorenia. Vzorky boli odoberané v spolupráci s klinickými pracoviskami a každý respondent podpísal in-

formovaný súhlas, v ktorom súhlasil s vyšetrením a použitím výsledkov na vedecké účely. Na detekciu IgG protilátok proti *T. gondii* boli použité komerčné kity EIA *Toxoplasma* IgG (Test-Line Ltd., Clinical Diagnostics, Česká republika). Relatívne riziko infekcie (RR) bolo stanovené softvérom MedCalc, pričom riziko infekcie analyzovanej skupiny sa porovnávalo voči skupine „Bežná populácia“.

Výsledky

Sérologické vyšetrenie 1 382 vzoriek sér preukázalo prítomnosť IgG protilátok proti *T. gondii* v 290 prípadoch (21,0 %). Najvyššia séropozitivita bola zaznamenaná u poľnohospodárov 42,5 %, u ktorých bolo riziko infekcie 2,9-krát vyššie (RR 2,9) ako u bežnej populácie obyvateľov. U poľovníkov bola zistená 28,5 % pozitivita, pričom u oboch týchto skupín bola prevencia protilátok významne vyššia ako v bežnej populácii ($P \leq 0,001$). Pozitivita pacientov infikovaných vírusom HIV bola nižšia (13,6 %) ako u osôb zaradených do kategórie bežná populácia (14,5 %) a najnižšia miera séropozitivity (11,0 %) bola zistená u študentov vysokých škôl (tabuľka 1).

Diskusia a závery

Prieskum preukázal, že v priemere je na Slovensku parazitom *T. gondii* nakazená asi pätina populácie, avšak medzi analyzovanými skupinami boli identifikované štatisticky významné rozdiely, ktoré umožnili identifikovať povolania, resp. záľuby, ktoré zvyšujú riziko nakazenia. Najvyššie riziko infekcie sa zistilo u poľnohospodárov a následne u poľovníkov, teda u osôb, ktoré sú v pravidelnom kontakte s pôdou, prípadne

Tabuľka 1. Séropozitivita vybraných skupín populácie na *Toxoplasma gondii*

Skupina	Vyšetrení	Pozitívni (%)	RR (95 % CI)
Poľovníci	165	47 (28,5)	2,0 (1,3–2,9)
Veterinári a veterinárni asistenti	180	23 (12,8)	0,9 (0,5–1,4)
Pracovníci útulkov	31	7 (22,6)	1,6 (0,8–3,2)
Poľnohospodári	219	93 (42,5)	2,9 (2,1–4,1)
Vojaci	305	55 (18,0)	1,2 (0,8–1,9)
Študenti vysokých škôl	100	11 (11,0)	0,7 (0,4–1,4)
Bežná populácia	242	35 (14,5)	nc
HIV pacienti	140	19 (13,6)	0,9 (0,6–1,6)
SPOLU	1382	290 (21,0)	–

RR – Relatívne riziko; 95 % CI – 95 % Confidence Interval, nc – nepočítané

so zverinou a často majú v lese či na poli obmedzené možnosti dodržiavať hygienické opatrenia. Ako riziková aktivita sa ukázala byť aj práca v útulkoch, keďže prevalencia protilátok u ich zamestnancov presiahla 20 %. Najnižší výskyt protilátok bol zaznamenaný u študentov vysokých škôl, čo naznačuje aj vekovú závislosť séroprevallencie toxoplazmózy, ktorá je aj v prieskumoch iných autorov obvykle nižšia u mladších osôb^(5,6). Na druhej strane, pacienti trpiaci poruchami imunity (HIV pacienti) neboli infikovaní častejšie ako osoby z bežnej populácie, čo naznačuje, že v prípade adekvátnej terapie a pri dodržiavaní hygieny je možné u týchto ľudí zabrániť nakazeniu parazitom, ktorý pre nich môže znamenať závažnú hrozbu.

Podakovanie

Výskum bol finančne podporený projektom APVV-21-0166.

LITERATÚRA

1. Rostami A, Riahi SM, Gamble HR, et al. Systematic review Global prevalence of latent toxoplasmosis in pregnant women: a systematic review and meta-analysis. Clin Microbiol Infection 2020; 26: 673–683.
2. Bowen LN, Smith B, Reich D, et al. HIV-associated opportunistic CNS infections: pathophysiology, diagnosis and treatment. Nat Rev Neurol 2016; 12: 662–674.
3. Almeria S, Dubey JP. Foodborne transmission of *Toxoplasma gondii* infection in the last decade. An overview. Res Vet Sci 2021; 135: 371–385.
4. Dubey JP, Verma SK, Ferreira LR, et al. Detection and survival of *Toxoplasma gondii* in milk and cheese from experimentally infected goats. J Food Prot 2014; 77: 1747–1753.
5. Jones JL, Lopez A, Wilson M, et al. Congenital toxoplasmosis: a review. Obstet Gynecol Surv 2001; 56: 296–305.
6. Antolová D, Janičko M, Halánová M, et al. Exposure to *Toxoplasma Gondii* in the Roma and Non-Roma Inhabitants of Slovakia: A Cross-Sectional Seroprevalence Study. Int J Environ Res Public Health 2018; 15: 408.

MVDr. Daniela Antolová, DrSc.

Parazitologický ústav SAV, v. v. i.

Hlinkova 3, 040 01 Košice

e-mail: antolova@saske.sk

Fluorescenčný rozjasňovač Rylux – alternatíva ku Calcofluor White pre fluorescenčnú vizualizáciu cýst akantaméb

Martin Mrva, Mária Garajová

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra zoológie, Bratislava

Patogénne kmene amfizoických meňaviek rodu *Acanthamoeba* sú pôvodcami závažných ochorení – granulomatóznej amébovej encefalitídy (GAE) a akantamébovej keratitídy (AK). V napadnutých tkanivách zvyčajne encystujú. Pre rýchlu identifikáciu patogéna je vhodná detekcia cýst v odobratej vzorke alebo kultúre aplikáciou fluorescenčných rozjasňovačov (optických bieličov). Okrem štandardne používaného fluorochrómu Calcofluor White (CFW) možno využiť jeho analóg Rylux, ktorý sa rovnako nešpecificky viaže na polysacharidy v stene cýst akantaméb a jednoduchou aplikáciou poskytuje jej optimálnu vizualizáciu.

Kľúčové slová: *Acanthamoeba*, cysty, Rylux, fluorescenčný rozjasňovač

Fluorescent brightener Rylux – an alternative to Calcofluor White for fluorescent visualization of *Acanthamoeba* cysts

Pathogenic strains of amphizoic amoebae of the genus *Acanthamoeba* are the causative agents of serious diseases – granulomatous amoebic encephalitis (GAE) and *Acanthamoeba* keratitis (AK). *Acanthamoebae* usually encyst in the infected tissues. For rapid pathogen identification, detecting cysts in the collected sample or culture by applying fluorescent brighteners (fluorescent whitening agents) is suitable. In addition to the standardly used fluorochrome Calcofluor White (CFW), it is possible to use its analogue Rylux, which also non-specifically binds to polysaccharides in the *Acanthamoeba* cyst wall and provides its optimal visualization by simple application.

Keywords: *Acanthamoeba*, cysts, Rylux, fluorescent brightener

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 71 – 72

Úvod

Amfizoické meňavky rodu *Acanthamoeba* Volkonsky, 1931 sú pôvodcami závažných a ťažko liečiteľných ochorení človeka: zväčša fatálnej granulomatóznej amébovej encefalitídy (GAE), systémových a kožných infekcií u imunodeficitných pacientov a bolestivého progresívneho ochorenia rohovky u imunokompetentných osôb – akantamébovej keratitídy (AK)⁽¹⁾. Životný cyklus akantaméb pozostáva z pohyblivého štádia trofozoita a dormantnej cysty, ktorá sa vyznačuje dvojvrstvou stenou obsahujúcou celulózu v oboch vrstvách⁽²⁾. Súčasná klasifikácia rodu *Acanthamoeba* je založená na analýze 18S rDNA a zahŕňa 23 genotypov, pričom najčastejšie býva z klinických vzoriek izolovaný genotyp T4⁽³⁾. Pre základnú diagnostiku v klinickej praxi je však dôležitá najmä rýchla identifikácia patogéna priamo v odobratej vzorke alebo v kultúre, k čomu prispieva charakteristická morfológia cýst akantaméb definovaná dvojvrstvou stenou. Jednou z vhodných metód vizualizácie steny cýst je aplikácia fluorescenčných rozjasňovačov (optických bieličov). V prípade akantaméb sa využíva fluorochróm Calcofluor White (CFW), nešpecificky sa viažuci na celulózu a chitín⁽⁴⁾. K menej známym dostupným analógom CFW patrí aj Rylux, ktorý sa štandardne využíva pri vizualizácii spór mikrosporídií v klinických vzorkách⁽⁵⁾. V našej práci sme sa zamerali na jeho aplikáciu na cysty akantaméb.

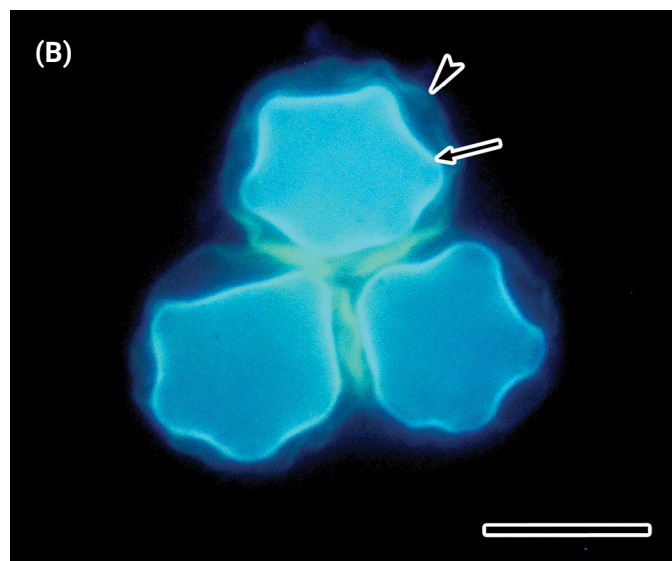
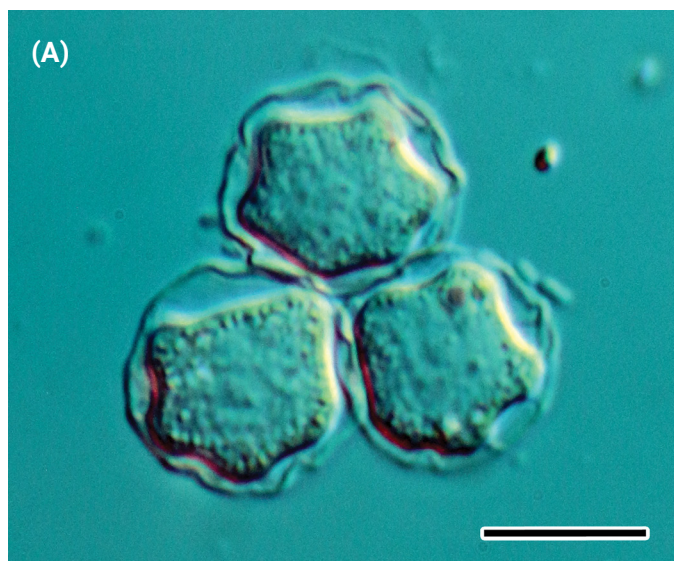
Materiál a metodika

Izolát *Acanthamoeba* sp. bol kultivovaný na beznutričnom agar s *Escherichia coli*. Vizualizácia dvojvrstvovej steny cýst izolátu bola zrealizovaná intravitálnym farbením s fluorescenčným rozjasňovačom Rylux (Ostacolor, Pardubice, Česká republika), ktorý je derivátom kyseliny diaminostilbendisulfónovej, na základe modifikácie metodiky Vávra et al.⁽⁶⁾. Zásobný roztok bol pripravený ako 10⁻² % koncentrácia Ryluxu v modifikovanom Neffovom roztoku (AS)⁽⁷⁾. Kvapka pripraveného roztoku bola zmiešaná so suspenziou kultúry akantaméb, obsahujúcej vitálne trofozoity a cysty, priamo na krycom sklíčku. Po príprave tzv. visiakej kvapky bola táto suspenzia okamžite mikroskopovaná pomocou epifluorescenčného mikroskopu Leica DM 2500 s filtrom DAPI (excitačné spektrum 300 – 400 nm, dichroické zrkadlo 400 nm, emisné spektrum 410 – 510 nm) a so snímaním záberov pomocou Canon EOS 600D.

Výsledky

Po aplikácii roztoku Ryluxu nedošlo k zafarbeniu trofozoitov, ktoré boli v suspenzii. Vitálne zrelé cysty však boli charakteristické výraznou modrou fluorescenciou dvojvrstvovej steny so zreteľnou separáciou endocysty a ektocysty, typickou pre druhy skupiny II. Endocysta bola typická intenzívnym fluorescenčným signálom, zatiaľ čo ektocysta prejavila slabú fluorescenciu (**obrázok 1**).

Obrázok 1. Farbenie cýst izolátu *Acanthamoeba* sp. intravitálnou aplikáciou fluorochrómu Rylux. (A) Cysty v interferenčnom kontraste. (B) Rovnaká skupina cýst vo fluorescenčnom zobrazení. Zvlnená ektocysta je typická slabou fluorescenciou (hrot šípky), polyedrická endocysta sa vyznačuje výraznou fluorescenciou (šípka). Mierka je 10 µm.



Diskusia

Pre rýchlu detekciu cýst akantaméb pomocou fluorescenčnej mikroskopie sa odporúča farbenie fluorescenčnými rozjasňovačmi⁽⁴⁾. Aplikovaný Rylux, ktorý je analógom Calcofluor White, sa viaže nešpecificky na polysacharidy obsiahnuté v oboch stenách cýst. Intenzívny fluorescenčný signál je charakteristický pre endocystu obsahujúcu vysoký podiel celulózy. V ektocyste je obsah celulózy nižší, z čoho vyplýva nižšia intenzita fluorescencie⁽²⁾. Získané výsledky sú v zhode s výsledkami po aplikácii CFW na cysty akantaméb⁽⁸⁾. Okrem diagnostického využitia možno využiť Rylux aj na detekciu pseudocýst pri experimentoch testovania potenciálne amebicídnych zlúčenín⁽⁹⁾. Pseudocysty, ktoré sú výsledkom rýchlej obrannej reakcie trofozoitov, sa vyznačujú odlišnou stavbou glykokalyxu než trofozoity a fluores-

cenčnými rozjasňovačmi ich možno zreteľne odlišiť od morfológicky podobných nezrelých cýst s už nasyntetizovanou ektocystou⁽¹⁰⁾.

Záver

V prípade vizualizácie cýst akantaméb predstavuje Rylux vhodnú a dostupnú alternatívu ku Calcofluor White. Výhodou je aj jednoduchšia a rýchlejšia metodika aplikácie, pri ktorej nie je potrebná predchádzajúca fixácia.

Pod'akovanie

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-19-0056.

LITERATÚRA

1. Cope JR, Ali IK, Visvesvara GS. Pathogenic and opportunistic free-living ameba infections. In: Ryan ET, Hill DR, Solomon T, et al. (Eds) Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases, 10th Ed. Elsevier Inc 2020: 814–820.
2. Garajová M, Mrva M, Vašková M, et al. Cellulose fibrils formation and organisation of cytoskeleton during encystment are essential for *Acanthamoeba* cyst wall architecture. Sci Rep 2019; 9: 4466.
3. Putaporntip C, Kuamsab N, Nuprasert W, et al. Analysis of *Acanthamoeba* genotypes from public freshwater sources in Thailand reveals a new genotype, T23 *Acanthamoeba bangkokensis* sp. nov. Sci Rep 2021; 11: 17290.
4. Lorenzo-Morales J, Khan NA, Walochnik J. An update on *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis, pathogenesis and treatment. Parasite 2015; 22: 10.
5. Valenčáková A, Sučík M. Alternatives in molecular diagnostics of *Encephalitozoon* and *Enterocytozoon* infections. J Fungi 2020; 6: 114.
6. Vávra J, Dahbiová R, Hollister WS, et al. Staining of microsporidian

- spores by optical brighteners with remarks on the use of brighteners for the diagnosis of AIDS associated human microsporidiosis. Folia Parasitol 1993; 40: 267–272.
7. Page FC. A new key to freshwater and soil gymnamoebae. Ambleside: Freshwater Biological Association 1988.
8. Lorenzo-Morales J, Kliescikova J, Martinez-Carretero E, et al. Glycogen phosphorylase in *Acanthamoeba* spp.: Determining the role of the enzyme during the encystment process using RNA interference. Eukaryot Cell 2008; 7: 509–517.
9. Garajová M, Mrva M, Timko L, et al. Cytomorphological changes and susceptibility of clinical isolates of *Acanthamoeba* spp. to heterocyclic alkylphosphocholines. Exp Parasitol 2014; 145: S102–S110.
10. Kliescikova J, Kulda J, Nohynkova E. Stress-induced pseudocyst formation – a newly identified mechanism of protection against organic solvents in acanthamoebae of the T4 genotype. Protist 2011; 162: 58–69.

doc. RNDr. Martin Mrva, PhD.

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra zoológie
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava
e-mail:martin.mrva@uniba.sk

Výskyt zoonotických hlístovcov *Anisakis* v baltických sledoch uvádzaných na trh na Slovensku

Mikuláš Oros¹, Daniel Barčák¹, Daniela Antolová¹, Miroslava Fecková¹, Tomáš Scholz²

¹Parazitologický ústav Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Košice, Slovenská republika

²Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR, v. v. i., České Budějovice, Česká republika

Anisakióza je zoonotické parazitické ochorenie, ktoré najčastejšie vyvoláva hlístovec, tzv. sled'ový červ *Anisakis*. V tejto práci prezentujeme údaje o silnej infekcii rýb a rybích produktov uvádzaných na slovenský trh larvami *Anisakis*. Larvy boli zaznamenané vo všetkých vyšetrených rybách (sled' baltický – *Clupea harengus*), získaných zo spracovateľského závodu rýb. Okrem toho sme v nakladaných sledoch kúpených v miestnych supermarketoch, určených na priamu konzumáciu, zaznamenali 21 lariev. Riziko nákazy človeka týmto morským druhom parazita aj vo vnútrozemskej krajine potvrdzuje pozitívny nález špecifických IgE protilátok proti anisakidnému alergénu t-Ani s7 v rámci pilotnej štúdie na 91 dobrovoľníkoch.

Kľúčové slová: zoonózy, *Anisakis*, IgE, sled', rybíe výrobky

Occurrence of zoonotic nematodes *Anisakis* in Baltic herrings marketed in Slovakia

Anisakiasis, a zoonotic disease, is caused by larvae of marine nematodes of the genus *Anisakis*. In this work, we present data on the heavy infection of fish products with *Anisakis* larvae in Slovakia. Larvae of *Anisakis* were found in all samples of Baltic herring (*Clupea harengus*) delivered to the fish processing facility. Moreover, in ready-to-eat pickled herrings bought in local supermarkets, 21 *Anisakis* larvae were found. The risk of human infection with this marine parasite in a landlocked country is supported by the positive result of a cross-sectional pilot study of IgE sensitisation with the anisakid allergen t-Ani s7 on 91 volunteers using an indirect ELISA.

Keywords: zoonoses, *Anisakis*, IgE, herring, fish product

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 73 – 75

Úvod

Dôležitú kategóriu zoonotických ochorení predstavujú parazitárne zoonózy prenášané sladkovodnými alebo morskými rybami, keď k nákaze človeka dochádza konzumáciou surového alebo tepelne nedostatočne spracovaného rybieho mäsa obsahujúceho infekčné vývinové štádiá parazita⁽¹⁾. Choroby spôsobené morskými druhmi parazitov sa väčšinou obmedzujú na pobrežné oblasti. Na Slovensku chýbajú komplexné údaje o parazitárnych ochoreniach prenášaných rybami. Globálny obchod, migrácia obyvateľstva a rastúca popularita konzumácie surových rýb však významne prispeli k šíreniu a častejšiemu výskytu týchto chorôb aj na miestach, kde sa predtým nevyskytovali.

Anisakióza je celosvetovo rozšírené ochorenie, avšak najviac prípadov bolo zaznamenaných v prímorských oblastiach Európy, USA, Kórey a Japonska. Hlístovce *Anisakis* spp. dospievajú u morských cicavcov (delfíny, veľryby a pod.). Larvy v treťom štádiu (L3), ktoré sa nachádzajú v telových dutinách, pohlavných orgánoch, pečeni a vo svalovine morských rýb, však môžu infikovať ľudí konzumujúcich ryby a rybíe produkty⁽²⁾. Hlístovce môžu spôsobovať sériu klinických prejavov postihujúcich predovšetkým gastrointestinálny trakt, no zvyčajne nepredstavujú pre človeka život ohrozujúce ochorenie. U niektorých pacientov však môžu tieto nematódy vyvolať alergické reakcie, dokonca aj anafylaktický šok⁽³⁾.

Materiál a metódy

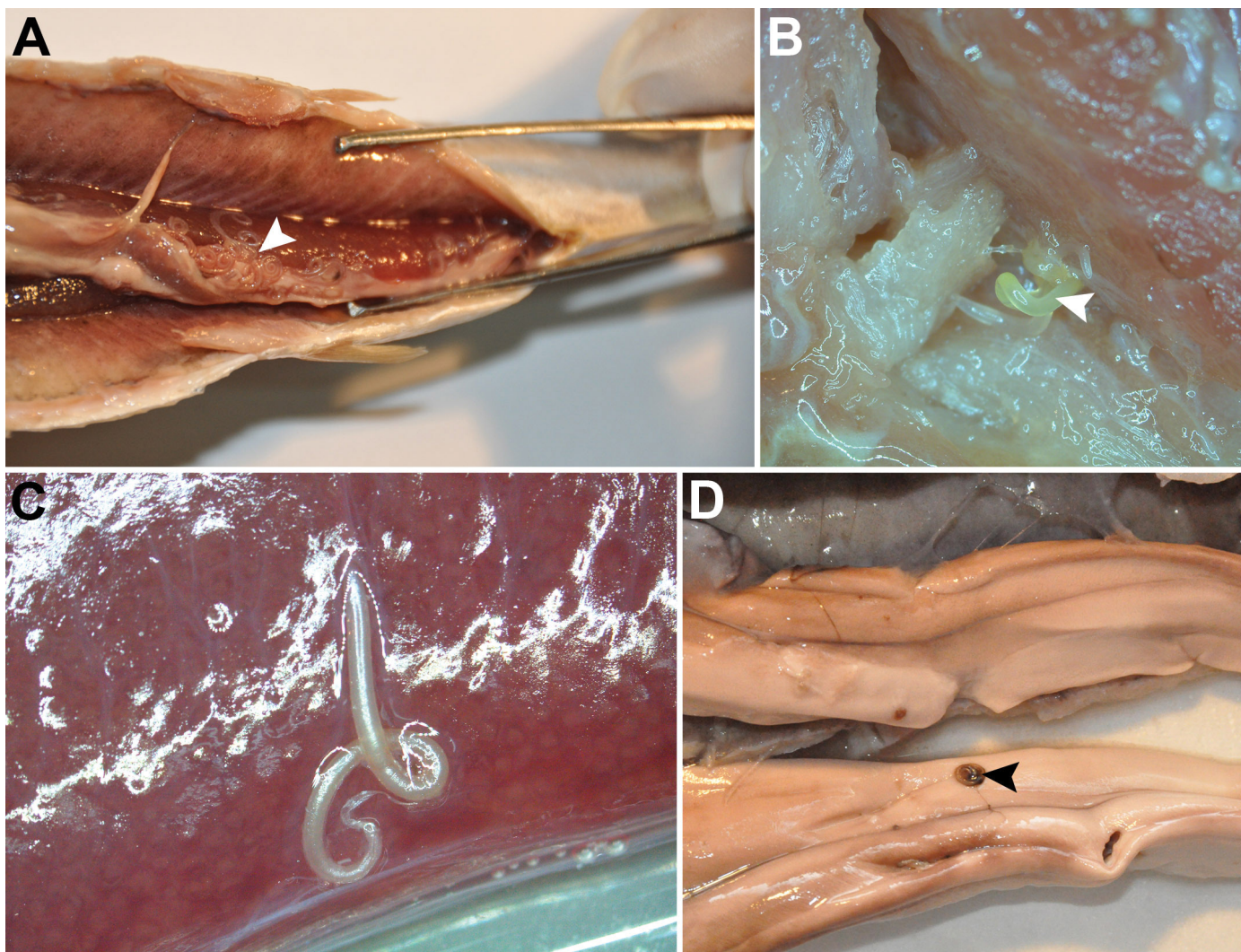
Sto nepitvaných zmrazených jedincov sled'a baltického poskytnutých závozom spracovávajúcim ryby a 18 balení nakladaných sled'ov (filety svaloviny naložené v kyslej marináde) zakúpených v supermarketoch bolo vyšetrených na prítomnosť lariev nematód rodu *Anisakis*. Telová dutina, pohlavné orgány a svalovina každej ryby boli vyšetrené pod stereomikroskopom a následne aj pod UV lampou. Nájdene larvy boli morfológicky identifikované ako rod *Anisakis*⁽⁴⁾ a časť z nich bola genotypizovaná na základe tzv. ITS (Internal Transcribed Spacer) oblasti jadrovej DNA⁽⁵⁾. Všetky geneticky identifikované larvy patrili do druhu *Anisakis simplex* sensu stricto, ktorý je považovaný za najdôležitejšieho pôvodcu ľudskej anisakiózy.

Na zistenie IgE senzibilizácie antigénmi *Anisakis* boli testované krvné séra 91 dobrovoľníkov (30 mužov a 61 žien; vek 19 – 79 rokov), ktorí uvádzali pravidelnú konzumáciu tepelne neupravených rýb a rybích produktov. Použitý bol kit Trisakis 170, A. *simplex* IgE-ELISA, ktorým bola stanovovaná prítomnosť špecifických IgE protilátok proti rekombinantným alergénom r-Ani s1 a t-Ani s7⁽⁶⁾. Prieskum bol vykonaný v súlade s Helsinskou deklaráciou z roku 1975 a schválený Etickou komisiou Parazitologického ústavu SAV.

Výsledky a diskusia

V skúmaných sledoch prevalencia bola 100 % a celkovo bolo zaznamenaných 4 163 lariev *Anisakis* spp. Priemerná intenzita infekcie sa pohybovala od 2 do 368 lariev na rybu.

Obrázok 1. Hlístovce *Anisakis simplex* v baltických sledoch – *Clupea harengus*. A – larvy v telovej dutine, B – larva vo svalovine, C – larva na samičích gonádach (ikry), D – larva na samčích gonádach (mlieč).



Hoci prevažná väčšina lariev bola lokalizovaná v telovej dutine (na pohlavných orgánoch a pečeni), v jednej tretine rýb boli nájdené larvy aj vo svalovine (**obrázok 1**). Všetky nájdené larvy boli mŕtve, avšak aj takéto parazity alebo ich zvyšky v kontaminovaných rybích produktoch môžu spôsobiť závažnú alergickú reakciu u senzibilizovaných jedincov⁽⁷⁾. Okrem toho sa larvy *Anisakis* našli v jednej tretine nakladaných sledov kúpených v supermarketoch (**obrázok 1**).

Z 91 analyzovaných sér bola senzibilizácia IgE na *Anisakis* zistená v dvoch (2,2 %) vzorkách. V oboch prípadoch boli detegované protilátky proti alergénu t-Ani s7. Pozitívni pacienti nemali v čase odberu krvi žiadne klinické príznaky, ale v minulosti niekoľkokrát trpeli príznakmi alergie. Toto je prvý záznam senzibilizácie parazitmi *Anisakis* na Slovensku, vo vnútrozemskej krajine, kde anisakióza nebola nikdy hlásená. Vzhľadom na to, že konzumácia surových rýb nie je na Slovensku až taká bežná, miera zistenej pozitivít (2,2 %) nie je nízka. V podobnej štúdii uskutočnenej v Nórsku nebol pozitívny žiadny z 993 darcov krvi a iba u jedného (0,2 %) zo 414 pacientov boli zistené vysoké hladiny celkových IgE protilátok⁽⁶⁾. V Chorvátsku sa použitím rovnakej ELISA metódy zistila pozitivita u 3,5 % ostrovej populácie, ale iba u 1,5 % mestskej pobrežnej populácie⁽⁸⁾.

Výsledky tejto práce poukázali na to, že morské parazity so zoonotickým potenciálom môžu ohrozovať zdravie obyvateľstva aj vo vnútrozemských krajinách. Výsledky tiež naznačujú, že bezpečnosti potravín vrátane prísnej kontroly rybích produktov určených na ľudskú spotrebu sa v súčasnosti nevenuje dostatočná pozornosť. Medzi najdôležitejšie preventívne opatrenia v boji proti nakazeniu hlavne u senzibilizovaných jedincov patrí (i) zvyšovanie povedomia o výskyte parazitov v rybách, (ii) výber tých druhov rýb na konzumáciu, ktoré sú menej vnímavé na parazity (niektoré druhy, napríklad baltické slede – *Clupea harengus*, môžu byť až 100 % nakazené), (iii) sledovanie geografického pôvodu (väčšie riziko Baltské more verzus Stredozemné more) a (iv) spôsobu chovu (voľný chov verzus menej rizikový farmový chov).

Podakovanie

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja, projekt č. APVV SK-CZ-RD-21-0078 a grantovou agentúrou Ministerstva školstva ČR, projekt č. LUASK22045.

LITERATÚRA

1. Chai JY, Murrell KD, Lymbery AJ. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. *International Journal for Parasitology* 2005; 35: 1233–1254.
2. Mattiucci S, Cipriani P, Paoletti M, et al. Reviewing biodiversity and epidemiological aspects of anisakid nematodes from the North-east Atlantic Ocean. *Journal of Helminthology* 2017; 91: 422–439.
3. Polimeno L, Lisanti MT, Rossini M, et al. *Anisakis* allergy: is aquacultured fish a safe and alternative food to wild-capture fisheries for *Anisakis simplex*-sensitized patients? *Biology* 2021; 10: 106.
4. Berland M. Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia* 1961; 2: 1–50.
5. Zhu X, Gasser RB, Podolska M, Chilton NB. Characterization of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. *International Journal of Parasitology* 1998; 28: 1911–1921.
6. Lin AH, Nepstad I, Florvaag E, et al. An extended study of seroprevalence of anti-*Anisakis simplex* IgE antibodies in Norwegian blood donors. *Scandinavian Journal of Immunology* 2014; 79: 61–67.
7. Nieuwenhuizen NE, Lopata AL. *Anisakis* – a food-borne parasite that triggers allergic host defences. *International Journal of Parasitology* 2013; 43: 1047–1057.
8. Mladineo I, Poljak V, Martínez-Sernández V, Ubeira FM. Anti-*Anisakis* IgE seroprevalence in healthy Croatian coastal population and associated risk factors. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2014; 8: e2673.

RNDr. Mikuláš Oros, PhD.

Parazitologický ústav SAV

Hlinkova 3, 040 01 Košice

e-mail: oros@saske.sk

Strongyloides infections in humans and other reservoir hosts in Dzanga-Sangha Protected Areas, Central African Republic

Eva Nosková^{1,2}, Klára Petrželková^{2,3}, Frédéric Stéphane Singa Niatou⁴, Laurent Dumas⁵, Vojtech Baláž⁶, David Modrý^{1,3,7}, and Barbora Pafčo²

¹Department of Botany and Zoology, Faculty of Science, Masaryk University, Czech Republic

²Institute of Vertebrate Biology, Czech Academy of Sciences, Czech Republic

³Institute of Parasitology, Biology Centre, Czech Academy of Sciences, Czech Republic

⁴WWF Central African Republic, Central African Republic

⁵Toulouse National School of Veterinarians, Toulouse, France

⁶Department of Ecology and Diseases of Zoo Animals, Game, Fish and Bees, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences Brno, Czech Republic

⁷Department of Veterinary Sciences, Faculty of Agrobiological Sciences, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Austria

Strongyloidiasis, a parasitic disease of humans caused by the *Strongyloides* nematode, was recently added to the list of neglected tropical diseases requiring control measures in endemic areas⁽¹⁾. According to the recent estimates, 614 million people are infected worldwide⁽²⁾. Metagenomic analysis of model parasite multihost systems is a key to uncovering the molecular diversity required to understand disease transmission. In our project, we confirmed the transmission of zoonotic *Strongyloides fuelleborni* haplotype between lowland gorillas and humans. In addition, we have detected *Strongyloides stercoralis* in both dogs and humans.

Key words: *Strongyloides*, zoonosis, human, dog

Genetická diverzita hlístic rodu *Strongyloides* u lidí a rezervoárových hostitelů v rezervaci Dzanga-Sangha ve Středoafričské republice

Strongyloidóza byla nedávno přidána na seznam opomíjených tropických chorob vyžadujících kontrolní opatření v endemických oblastech⁽¹⁾. Podle nedávných odhadů je celosvětově nakaženo 614 milionů lidí⁽²⁾. Metagenomická analýza modelových parazitárních multihostitelských systémů je klíčem k odhalení diverzity potřebné k pochopení přenosu onemocnění. V našem projektu jsme potvrdili přenos zoonotického haplotypu *Strongyloides fuelleborni* mezi gorilami nížinnými a lidmi. Kromě toho jsme detekovali *Strongyloides stercoralis* jak u psů, tak u lidí.

Klíčová slova: *Strongyloides*, zoonóza, člověk, pes

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 76 – 77

Introduction

Neglected parasites, such as rhabditid nematodes of the genus *Strongyloides* are among the most common soil-transmitted nematodes in both humans and non-human primates^(3,4). Two species, *S. stercoralis* and *S. fuelleborni* have been detected in humans; both are causative agents of strongyloidiasis. *Strongyloides stercoralis* is considered a generalist with a cosmopolitan distribution, infecting a wide range of hosts, including primates (humans and mainly captive NHPs) and carnivores⁽⁵⁾. Two lineages have been described within the genus *Strongyloides*: potentially zoonotic lineage A and the likely canine lineage B⁽⁶⁾. The specialist *S. fuelleborni* includes two subspecies: *S. fuelleborni fuelleborni* and *S. fuelleborni kellyi*. *Strongyloides f. fuelleborni* occurs in African and Asian NHPs, with occasional spread to humans, while *S. f. kellyi* appears to be endemic to humans in New Guinea^(5,7). In our project, we explored the genetic diversity of *Strongyloides* species in humans, lowland gorillas and dogs sharing the same habitat in the rainforest ecosystem of Dzanga-Sangha Protected Areas (DSPA), Central African Republic (CAR).

Material and methods

Individual samples from humans (N=50), lowland gorillas (N=100) and dogs (N=48) were collected in the Dzanga-Sangha Protected Areas in the Central African Republic. Total DNA was extracted and analyzed by qPCR for detection *Strongyloides*⁽⁸⁾. Selected positive samples for *Strongyloides* were amplified and high-throughput sequenced (HTS) on the Illumina MiSeq platform. The hypervariable region (HVR-IV) of the 18S rDNA gene and a portion of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 gene (*cox1*) were selected for *Strongyloides* amplification for samples processed by HTS⁽⁹⁾.

Results

The prevalence of *Strongyloides* based on qPCR was high in all species studied (76 %, 57 %, and 60 % in humans, gorillas and dogs, respectively). *Strongyloides stercoralis* was detected in both human and canine samples. In addition, haplotype L of *S. fuelleborni* was detected in humans and gorillas, confirming interspecies transmission.

Discussion

Regular surveillance of *Strongyloides* infections, including molecular identification and genotyping, should be an important component of health management. Close contact between humans, NHPs, and dogs poses a risk for transmission^(5,6,10). Based on our findings, we propose that dogs may be a reservoir of *Strongyloides stercoralis* to humans and potentially NHPs. However, NHPs may also be a source of *Strongyloides fuelleborni* infection to humans and vice versa.

Strongyloidiasis remains a major veterinary and human public health challenge globally and both dogs and NHPs should be recognised as a possible source of *Strongyloides* infections in *Strongyloides* control programs.

Conflict of interest statement

The authors declare no conflict of interest. The conference paper has not been published.

REFERENCES

1. World Health Organization. WHO Model List of Essential Medicines. 2019. Available online: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325771/WHO-MVP-EMP-IAU-2019.06-eng.pdf?ua=1> (accessed on 21 June 2023)
2. Buonfrate D, Bisanzio D, Giorli G, et al. The global prevalence of Burks, J.W. & Jung, R.C. (1960). A new type of water dermatitis in Louisiana. South Med J 2020; 53: 716–719.
3. Hasegawa H, Kalousova B, McLennan MR, et al. Parasitology International *Strongyloides* infections of humans and great apes in Dzanga-Sangha Protected Areas, Central African Republic and in degraded forest fragments in Bulindi, Uganda. *Parasitology International* 2016; 65(5): 367–370.
4. Pampiglione S, Nájera E, Ricciardi ML, et al. Parasitological survey on Pygmies in Central Africa. III. Bambuti group (Zaire). *Rivista Di Parasitologia* 1979; XL. N. 3.
5. Bradbury RS, Pafčo B, Nosková E, et al. *Strongyloides* genotyping: a review of methods and application in public health and population genetics. *International Journal for Parasitology* 2021; 51(13–14): 1153–1166.
6. Jaleta TG, Zhou S, Bemm FM, et al. Different but overlapping populations of *Strongyloides stercoralis* in dogs and humans-dogs as a possible source for zoonotic strongyloidiasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2017; 11(8): 1–21.
7. Ashford RW, Barnish G. & Viney ME. *Strongyloides fuelleborni* kellyi: infection and disease in Papua New Guinea. *Parasitology today* (Personal ed.) 1992; 8(9): 314–318.
8. Verweij JJ, Canales M, Polman K, et al. Molecular diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in faecal samples using real-time PCR. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2009; e103(4): 342–346.
9. Barratt JLN, Lane M, Talundzic E, et al. Correction: A global genotyping survey of *Strongyloides stercoralis* and *Strongyloides fuelleborni* using deep amplicon sequencing. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2019; 13(9), 1–26.
10. Nosková E, Modrý D, Baláž V, et al. Identification of potentially zoonotic parasites in captive orangutans and semi-captive mandrills: Phylogeny and morphological comparison. *American journal of primatology* 2023; 85(4): e23475.

Eva Nosková

Department of Botany and Zoology, Faculty of Science,
Masaryk University, Brno, Czech Republic
e-mail: ev.nosek@gmail.com

Prevalencia intestinálnych parazitov u detí hospitalizovaných v Detskej fakultnej nemocnici Košice

Michaela Kaduková¹, Andrea Schreiberová¹, Miroslava Petrášová², Gabriela Štrkolcová¹

¹Katedra epizootológie, parazitológie a ochrany spoločného zdravia, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

²Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Črevné parazitárne infekcie predstavujú celosvetový problém v oblasti verejného zdravia. Účinná prevencia a kontrola črevných parazitických infekcií je dôležitá najmä medzi vysokorizikovými skupinami. V našej štúdii sme sa venovali epidemiologickému výskumu parazitických infekcií u detí hospitalizovaných v Detskej fakultnej nemocnici v Košiciach. V období od septembra 2018 do apríla 2023 bolo do štúdie zaradených celkovo 420 vzoriek stolíc od detí predškolského a školského veku. Vzorky stolice boli vyšetrované základnou koprologickou flotačnou metódou na dôkaz cýst, oocýst, protozoí a vajčiek helmintov. Kryptosporídie sme detegovali farbiacou metódou podľa Kinyouna a ELISA testom. Tento príspevok sumarizuje prevalenciu intestinálnych parazitov u hospitalizovaných detí za posledných 5 rokov.

Kľúčové slová: endoparazity, deti, parazitické infekcie, protozoá, helminty

Prevalence of intestinal parasites in children hospitalized at the Children's Faculty Hospital in Košice

Intestinal parasitic infections represent a global public health problem. Effective prevention and control of intestinal parasitic infections is especially important among high risk groups. In our study, we focused on the epidemiological research of parasitic infections in children hospitalized at the Children's Faculty Hospital in Košice. In period from September 2018 to April 2023, a total of 420 stool samples from preschool and school age children were included in the study. The stool samples were examined using the basic coprological flotation method to detect cysts, oocysts of protozoa and helminth eggs. *Cryptosporidium* spp. was detected by the Kinyoun staining method and ELISA test. This contribution summarizes the prevalence of intestinal parasites in hospitalized children over the past 5 years.

Keywords: endoparasites, children, methods, protozoa, helminths

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 78 – 79

Úvod

Črevné parazitické infekcie sú rozšírené po celom svete a boli identifikované ako jedna z najvýznamnejších príčin chorôb v ľudskej populácii. Odhaduje sa, že na svete sú viac ako 3 miliardy ľudí, ktorí sú infikovaní črevnými parazitmi, a práve deti sú najčastejšie postihnutou populáciou^(3,4). V populácii detí môžu parazity spôsobiť malabsorpciu či chronickú stratu krvi s dlhodobými účinkami na fyzický a kognitívny vývoj detí. Najmä v znevýhodnených populáciách v dôsledku podvýživy sú deti náchylnejšie na tieto infekcie⁽¹⁾. Stále prevláda vyšší výskyt týchto ochorení v rozvojových krajinách, pretože v týchto oblastiach je hygienický štandard na nižšej úrovni, ale aj z dôvodu migrácie obyvateľov, cestovania, medzinárodného obchodu, predstavujú hrozbu aj v rozvinutých krajinách.

Materiál a metodika

Vzorky stolíc boli zozbierané od septembra 2018 do apríla 2023 od detí hospitalizovaných v Detskej fakultnej nemocnici v Košiciach. Vo väčšine prípadov pochádzali deti z marginalizovaných rómskych komunít. Všetky vzorky stolíc sme vyšetrili flotačnou metódou podľa Kozáka a Magrovej a Faustovho roztoku. Na detekciu kryptosporídií sme okrem farbiacej

metódy podľa Kinyouna, využili aj detekciu kryptosporídiového antigénu ELISA testom.

Výsledky

Použitím flotačnej metódy podľa Kozáka a Magrovej a Faustovho roztoku sme potvrdili 26 % prevalenciu intestinálnych parazitov u detí z Detskej fakultnej nemocnice v Košiciach. Zo 420 vzoriek boli najčastejšou príčinou parazitickej infekcie helminty *Ascaris lumbricoides* 16 % (420), *Trichuris trichiura* 5,71 % (420) a v 1 prípade sme potvrdili vajčka *Hymenolepis nana*. Z protozoí sme zaznamenali prítomnosť cýst *Giardia duodenalis* v 3,33 % (420) vzoriek. Farbiacou metódou podľa Kinyouna sme detegovali prítomnosť oocýst kryptosporídií v jednej vzorke, v ktorej sme potvrdili aj kryptosporídiový antigén ELISA testom.

Diskusia a záver

V súčasnosti bola prevalencia črevných parazitických infekcií najčastejšie študovaná v afrických či ázijských regiónoch a existuje málo štúdií skúmaných prevalenciu, ako aj rizikové faktory vplývajúce na šírenie parazitov u detí v Európe. Naším výskumom sme potvrdili najvyššiu incidenciu parazitov *Ascaris lumbricoides* (16 %) a *Trichuris trichiura* (5,71 %).

Kantzanou et al. 2021 spracovali metaanalýzu zameranú na detekciu parazitických infekcií v Európe od roku 2015 do roku 2021⁽²⁾. Najčastejšie detegovaným parazitom s mierou prevalence 10,7 % bol *Blastocystis hominis*. Medzi ďalšie detegované parazity patrili *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Enterobius vermicularis*, *Strongyloides stercoralis*, *Dientamoeba fragilis*, *Giardia duodenalis* a *Cryptosporidium* spp.

Prevalencia črevných parazitov vo všeobecnosti súvisí so životnými podmienkami, s hygienou životného prostredia, nedostatkom pitnej vody či nedostatkom bezpečných a neškodných potravín vrátane vody. Epidemiologické informácie o prevalencii parazitov, identifikácia rizikových faktorov v rôznych regiónoch a správna diagnostika sú dôležité z hľadiska

diskontroly parazitických ochorení nielen na našom území, ale aj vo svete.

Konflikt záujmov

Autori vyhlasujú, že nemajú žiadny konflikt záujmov. Čestné vyhlásenie: Práca je originálna, nebola publikovaná a ani zadaná na publikovanie v inom časopise.

Podakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore vedeckej grantovej agentúry VEGA č. 1/0709/23.

LITERATÚRA

1. Jourdan PM, Poppy H, Lamberton L, et al. Soil-transmitted helminth infections. *The Lancet*, 2018, 252-265.
2. Kantzanou M, Karalexi MA, Vrioni G, et al. Prevalence of intestinal parasitic infections among children in Europe over the last five years. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 2021, 160.
3. Légeret C, Rutimann C, Fankhauser H, et al. Parasitic infections in Swiss children: Are we overtesting?. *BMC gastroenterology*, 2021, 1-6.
4. Ngui R, Ishak S, Chuen Ch S, Mahmud R, et al. Prevalence and risk factors of intestinal parasitism in rural and remote West Malaysia. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2011, 974.

MVDr. Michaela Kaduková

Katedra epizootológie, parazitológie a ochrany spoločného zdravia,
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 041 81 Košice
e-mail: Michaela.kadukova@student.uvlf.sk

Kliešťami prenášané infekcie na Slovensku v rokoch 2021 – 2023

Eva Špitalská¹, Katarína Palkovičová¹, Eva Boldišová¹, Jana Kerlik², Ľudovít Škultéty¹

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

²Odbor epidemiológie, RÚVZ Banská Bystrica

Kliešťami prenášané ochorenia predstavujú v súčasnosti celosvetový problém so stúpajúcou tendenciou. Kliešť *Ixodes ricinus* je hlavným vektorom patogénov spôsobujúcich kliešťami prenášané infekcie u ľudí. Menej známymi, a teda aj sledovanými ochoreniami, sú anaplazmóza, rickettsiáza, Q horúčka a babezióza. Cieľom práce bolo sledovať ochorenia spôsobené najmä patogénmi, *Rickettsia species*, *Coxiella burnetii* a *Anaplasma phagocytophilum*. Podľa EPISu bolo na Slovensku za roky 2021 – 2023 hlásených 18 prípadov rickettsií, Q horúčka u 2 pacientov a anaplazmóza u 8 pacientov.

Kľúčové slová: rickettsiázy, Q horúčka, anaplazma, ELISA, PCR

Tick-borne infection in Slovakia in 2021 – 2023 years

Tick-borne diseases are a global problem with an increasing tendency. The *Ixodes ricinus* tick is the main vector of pathogens causing human tick-borne infections. Less well-known and therefore monitored diseases are anaplasmosis, rickettsiosis, Q fever, and babesiosis. The work aimed to monitor diseases caused mainly by pathogens *Rickettsia species*, *Coxiella burnetii*, and *Anaplasma phagocytophilum*. According to EPIS, 18 cases of rickettsiosis, 2 of Q fever, and 8 cases of anaplasmosis were reported in Slovakia for 2021-2023.

Keywords: rickettsiosis, Q fever, anaplasmosis, ELISA, PCR

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 80 – 81

Úvod

Kliešťami prenášané ochorenia predstavujú v súčasnosti celosvetový problém so stúpajúcou tendenciou. Kliešť *Ixodes ricinus* je hlavným vektorom patogénov spôsobujúcich kliešťami prenášané infekcie u ľudí. Najznámejšími ochoreniami sú Lymeská borelióza a kliešťová encefalitída spôsobené baktériou *Borrelia burgdorferi* sensu lato a vírusom kliešťovej encefalitídy. Menej známymi, a teda aj sledovanými, sú anaplazmózy, rickettsiázy, Q horúčka a babeziózy vyvolané patogénmi *Anaplasma phagocytophilum*, *Neorhlichia mikurensis*, *Rickettsia slovaca*, *Rickettsia helvetica*, *Borrelia miyamotoi*, *Coxiella burnetii* a *Babesia species*⁽¹⁾. Vplyv týchto mikróbov na verejné zdravie ľudí nie je úplne jasný, sú často nediagnostikované. Pravdepodobnosť ochorenia po tom, ako kliešť cical na človeka, závisí od niekoľkých faktorov, ako sú riziko uhryznutia kliešťom obsahujúceho patogén, schopnosť patogéna byť prenesený na človeka a jeho potenciál spôsobiť ochorenie⁽¹⁾.

Národné referenčné centrum pre surveillance a laboratórnu diagnostiku rickettsií pri Regionálnom úrade verejného zdravotníctva v Banskej Bystrici od roku 2011 uskutočňuje sérologickú a molekulárnu diagnostiku infekcií spôsobených rickettsiami, *C. burnetii* a ďalšími kliešťami prenášanými patogénmi v spolupráci s lekármi.

Cieľom tejto práce je sledovať ochorenia spôsobené patogénmi *Rickettsia* spp., *C. burnetii* a *A. phagocytophilum* sérologickými a molekulárnymi metódami u ľudí na Slovensku v rokoch 2021-2023.

Materiál a metódy

V období január 2021 – marec 2023 sme obdržali vzorky (sérum a/alebo krv) od 458 pacientov, ktoré boli odoslané ošetrojúcimi lekármi z celého Slovenska. Na detekciu IgG protilátok voči rickettsiám zo skupiny purpurových horúčok (SFGR) v ELISA teste sme použili antigén *R. akari* pripravený na našom oddelení a/alebo komerčný ELISA kit *Rickettsia conorii* ELISA IgG/IgM (Vircell). Na detekciu IgG a IgM protilátok voči *C. burnetii* sme použili antigén *C. burnetii* pripravený na našom oddelení. Prítomnosť DNA patogénov v krvi sme určili na základe PCR amplifikácie špecifických génov, hypotetický proteín RC0338 pre rickettsie, *msp2* pre *A. phagocytophilum* a 18S rRNA pre babezie⁽²⁾.

Výsledky

Prítomnosť IgG protilátok proti SFGR bola zistená u 34 pacientov, IgM protilátok u 7 pacientov. Hodnoty prítomnosti protilátok voči *C. burnetii* fáza II naznačili prítomnosť akútnej Q horúčky u 6 pacientov a prekonanej Q horúčky u 1 testovaného pacienta.

Priamym dôkazom v krvi pacientov nebola dokázaná prítomnosť *Babesia* spp., u 3 pacientov sa potvrdila prítomnosť DNA *A. phagocytophilum* a u 3 pacientov *R. slovaca*.

V epidemiologickom informačnom systéme je hlásených 18 prípadov s diagnózou inej škvrnité horúčky (A77.8) a nešpecifikovaná škvrnitá horúčka (A77.9), u 9 žien a 9 mužov. Najviac prípadov bolo vo vekovej kategórii 25 – 34: 8, a v ostatných vekových kategóriách 1 – 3 prípady. Pacienti boli

z okresov Bratislava, Malacky, Senec, Dunajská Streda, Košice a 1 prípad bol po návšteve v Senegale. Ochorenia boli zaznamenané počas celého roka, najviac v mesiacoch jún a júl (10). Ako prameň nákazy 11 pacientov uviedlo kliešťa alebo iný hmyz. Dominantná klinická forma ochorenia bola febrilná (12), ostatné formy: neurologická (3), cefalea (1), kožná (1) a uzlinová (1). Podľa EPISu Q horúčka (A78) bola diagnostikovaná u 1 ženy a 1 muža z okresu Malacky, vekovej kategórie 25 – 34, klinická forma: febrilná a cefalea, zdroj nákazy bol kliešť a zviera. Prípady ochorenia sa vyskytli v januári a v novembri. Anaplazmóza bola spôsobená *A. phagocytophilum* (5), *Ehrlichia sennetsu* (1), *E. chaffeensis* (2) u 7 mužov a 1 ženy, vekových kategórií 20 – 25 (2), 45 – 54 (3) a 65+ (3), z okresov Malacky, Pezinok, Žilina, Banská Bystrica a Poprad. Klinické formy ochorenia boli: febrilná (3), neurologická (2) a meningeálna (3). V troch prípadoch bol zdrojom kliešť alebo iný hmyz.

Všetky sledované ochorenia majú tendenciu rastu počtu prípadov (obrázok 1).

Diskusia

Sérologickému sledovaniu cirkulácie rickettsií a *C. burnetii* u ľudí na Slovensku sa venuje pozornosť minimálne od roku 1998⁽³⁾. Vznikom NRC sa rozšírili analýzy o metódy priameho dôkazu patogéna v krvi a cicajúcich klieštoch. Použitie metód založených na PCR je vhodné v skorých štádiách ochorenia, keď je prítomné veľké množstvo patogéna. *A. phagocytophilum* sa vyskytuje v neutrofilných granulocytoch, *Babesia* infikuje červené krvinky, *N. mikurensis* a *Rickettsia* endotelové bunky. Naopak, špecifické protilátky, ako odpoveď na infekciu, sa vyvíjajú niekoľko týždňov. Sérologia je dôležitým prostriedkom pre sledovanie poskytujúce informácie vystavenia populácie určitému patogénu. Zintenzívnenie monitorovania týchto ochorení zrejme prispieva k zvýšenej tendencii rastu počtu prípadov.

Záver

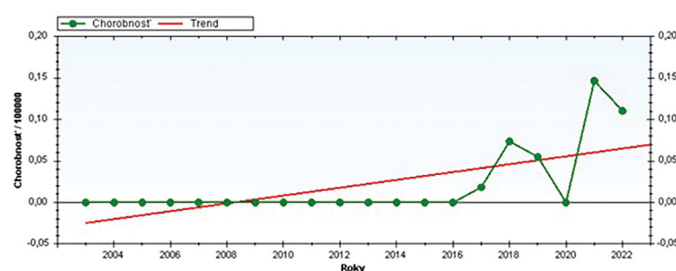
Mnohé kliešťami prenášané infekcie sú asymptomatické alebo s miernym priebehom, a teda ich diagnostika je náročná. Ich rastúci trend výskytu je zrejme vďaka zvyšovaniu pozornosti aj takýmto ochoreniam. Každé novo diagnostikované kliešťami prenášané ochorenie poskytuje hodnotné epidemiologické údaje incidence a prevalence a zvyšuje dôležitosť porozumenia klinických prejavov.

LITERATÚRA

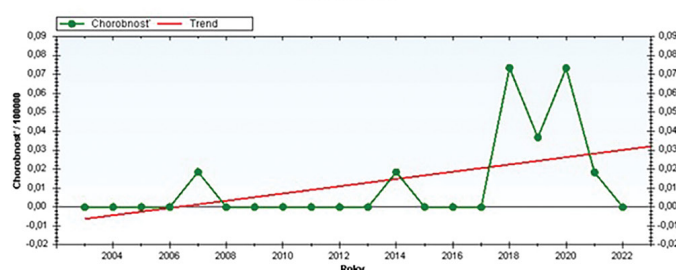
1. Sprong H, Azagi T, Hootnstra D, et al. Control of Lyme borreliosis and other *Ixodes ricinus*-borne diseases. *Parasites Vectors* 2018; 11: 145. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2744-5>
2. Ševčík M, Špitalská E, Kabát P, et al. *Reticulinasus salahi* (Acarina: Argasidae), a tick bats and man in the Palaearctic and Afrotropics: review

Obrázok 1.

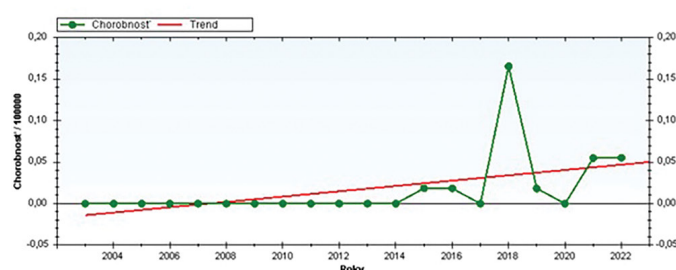
Zvolená diagnóza 'A779'. Trend za 20 rokov. Rok 2022, SR.



Zvolená diagnóza 'A78'. Trend za 20 rokov. Rok 2022, SR.



Zvolená diagnóza 'A798'. Trend za 20 rokov. Rok 2022, SR.



Konflikt záujmov

Autori vyhlasujú, že nemajú žiadny konflikt záujmov.

Podakovanie

Práca bola podporená projektmi Vega 2/0021/21 a AP-VV-19-0066.

of records with the first pathogen detected. *Parasitol Res* 2023; <https://doi.org/10.1007/s00436-023-07826-2>

3. Kováčová E, Kazár J, Šimková A. Clinical and serological analysis of a Q fever outbreak in western Slovakia with four-year follow-up. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17: 867-869.

Mgr. Eva Špitalská, PhD.

Národné referenčné centrum pre surveillance a laboratórnu diagnostiku
rickettsióz RÚVZ Banská Bystrica pri Virologickom ústave,
Biomedicínske centrum SAV
Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava
e-mail: eva.spitalska@savba.sk

Rozdielny trend ochorení na kliešťovú encefalitídu a lymskú boreliózu na Slovensku v prvých dvoch dekádach 21. storočia

Branislav Petko, Blažena Vargová, Zuzana Cellengová

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Centrum aplikovaného výskumu, Košice

Distribúcia ohnisk i trendy incidencie kliešťovej encefalitídy (KE) a lymskej boreliózy (LB) v krajoch Slovenska počas prvých dvoch dekád 21. storočia napriek spoločnému vektorovi kliešťovi *Ixodes ricinus* sa výrazne odlišujú. Kým KE má viac ohniskový charakter prevažne na západnom Slovensku a juhu stredného Slovenska a mierne rozptýlenie na východnom Slovensku, LB je rozšírená s rôznou incidenciou po celom Slovensku. Trend incidencie KE je výrazne stúpajúci v krajoch ležiacich v chladnejších a vlhkejších horských oblastiach a mierne klesajúci v nížinných krajoch. Trend incidencie LB je len v jednom kraji v súlade s trendom KE, v ostatných 7 krajoch rozdielny, resp. aj opačný. Výsledky poukazujú na rôzne pôsobenie biotických i abiotických faktorov na pôvodcu KE, ktorým sú vírusy rodu flavivirus, ako na pôvodcu LB, ktorým je komplex baktérií *Borrelia burgdorferi* sensu lato. **Kľúčové slová:** trendy, kliešťová encefalitída, lymská borelióza, kraje, Slovensko

Different trends of tick-borne encephalitis and Lyme disease in Slovakia in the first two decades of the 21st century

The distribution of outbreaks and trends of tick-borne encephalitis (TBE) and Lyme borreliosis (LB) incidence in the regions of Slovakia during the first two decades of the 21st century, despite a common vector, the *Ixodes ricinus* tick, differ markedly. While TBE is more focal, mainly in western and southern central Slovakia and slightly dispersed in eastern Slovakia, LB is widespread with varying incidence throughout Slovakia. The trend of TBE incidence is significantly increasing in counties located in colder and more humid mountainous areas and slightly decreasing in lowland counties. The trend in LB incidence is in line with the TBE trend in only one region and different or opposite in the other 7 regions. The results indicate different effects of biotic and abiotic factors on the causative agent of TBE, viruses of the genus flavivirus, than on the causative agent of LB, which is the *Borrelia burgdorferi* sensu lato bacterial complex.

Keywords: Trends, tick-borne encephalitis, Lyme borreliosis, dynamics, regions, Slovakia

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 82 – 84

Úvod

Kliešťová encefalitída (KE) a lymská borelióza (LB) patria medzi najzávažnejšie zoonózne ochorenia prenášané kliešťom obyčajným *Ixodes ricinus* na Slovensku i v Európe. Počet ochorení v dlhšom časovom horizonte má rastúci trend, v rámci ktorého prebiehajú viac alebo menej výrazné fluktuácie, a to aj v rámci menších regiónov v rôznych klimatických oblastiach⁽¹⁾. V ostatných 20 rokoch je pozorovaný výrazný nárast priemernej teploty vzduchu i zrážok, čo má vplyv na mikroklimatické podmienky a prežívanie i šírenie kliešťov do vyšších nadmorských výšok^(2,3). Cieľom práce bolo porovnať dynamiku incidencie KE a LB v krajoch Slovenska v prvých dvoch dekádach 21. storočia s dôrazom na klimatickú oblasť.

Materiál a metodika

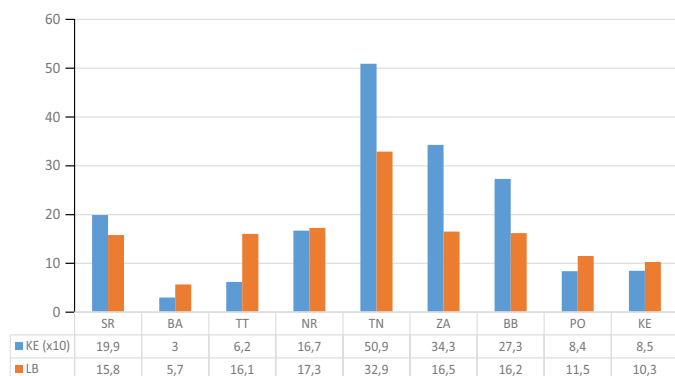
Materiál predstavujú dostupné údaje o incidencii KE a LB v krajoch Slovenska (SK) v rokoch 2001 – 2020 z Epidemiologického informačného systému Úradu verejného zdravotníctva SR⁽⁴⁾. Trend incidencie KE a LB je hodnotený v trojročných priemeroch, okrem dvojročného priemeru 2019 – 2020. V najteplejšej nížinnej oblasti Slovenska s teplou a suchou

klímou sú kraje Trnavský (TT) a Nitriansky (NR), v prevažne teplej, ale mierne vlhkej oblasti aj Bratislavský kraj (BA), naopak, v mierne teplej až chladnej vlhkej oblasti leží Žilinský kraj (ZA). Ostatné kraje Slovenska ležia v oblastiach s prechodnou klímou od teplej a mierne suchej cez mierne teplú, mierne vlhkú po mierne chladnú vlhkú horskú klímu, na západe je to Trenčiansky (TN), na juhu stredného Slovenska Banskobystrický (BB) kraj a na východe Košický (KE) i Prešovský (PO) kraj.

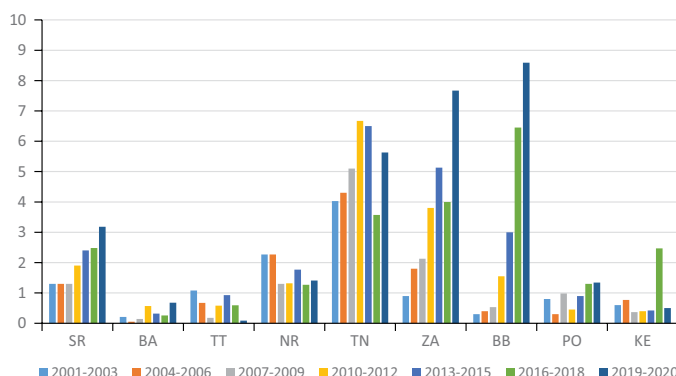
Výsledky

Distribúcia ohnisk i trendy incidencie KE a LB v krajoch Slovenska počas prvých dvoch dekád sa výrazne odlišujú. Kým KE má viac ohniskový charakter prevažne na západnom Slovensku a juhu stredného Slovenska a len sporadicky rozptýlené ohniská na východnom Slovensku, LB je rozšírená po celom Slovensku, ale viac na Považí a Pohroní a na východe Slovenska viac v severných okresoch (graf 1). Blízko 20-ročnému celoslovenskému priemeru LB (15,8 ochorení na 100-tisíc obyvateľov) bola incidencia LB v TT, NR, BB a ZA kraji od 16,1 po 17,3, výrazne vyššia v TN (32,9), naopak, nižšia v KE a PO a (10,3 a 11,5) a BA kraji (5,7).

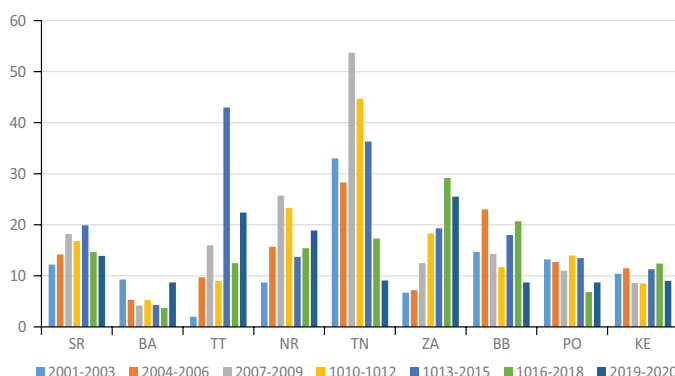
Graf 1. Priemerná incidencia kliešťovej encefalitídy (KE) a lymskej boreliózy (LB) v krajoch Slovenska v rokoch 2001-2020 (hodnoty KE sú x10 pre lepšie porovnanie s LB)



Graf 2. Incidencia kliešťovej encefalitídy v krajoch Slovenska v 2001-2020 v 3-ročných cykloch (2019-2020 je dvojročný priemer)



Graf 3. Incidencia lymskej boreliózy v krajoch Slovenska v 2001-2020 v 3-ročných cykloch (2019-2020 je dvojročný priemer)



Ochorenia na KE boli zaznamenané predovšetkým v TN (5,09), nad slovenským priemerom (1,99) aj v ZA a BB kraji (3,43 a 2,73), mierne pod priemerom v NR (1,67), v ostatných krajoch (BA, TT, PO, KE) výrazne pod 20-ročným priemerom (od 0,30 po 0,85) (**graf 1**).

Rozdielny bol aj trend ochorení na LB a KE v priebehu prvých dvoch dekád na Slovensku. V prvej dekáde (2001 – 2009) sa incidencia KE udržiavala na rovnakej hodnote 1,3 ochorení na 100-tisíc obyvateľov, v priebehu druhej dekady narástla dvaaplnásobne na 3,2 v dvojročnom priemere 2019 – 2020 (**graf 2, SR**). Pri LB bol tento trend opačný, v prvej dekáde až do polovice druhej postupne narastala (od 12,2 po 19,9) a následne postupne poklesla na 13,9 (**graf 3, SR**).

Veľké zmeny však boli zaznamenané v dynamike incidence v krajoch počas 20 rokov. Pri KE (**graf 2**) prudko rástla v chladnejšom ZA kraji, kde v trojročných priemeroch stúpala 8,5-násobne, v BB kraji dokonca 29-násobne, z 0,3 na 8,6. No hneď v susedných krajoch východného Slovenska len mierne a nerovnomerne stúpala v PO a bez veľkých zmien sa udržala v KE kraji. Naopak, mierne poklesla v najteplejších krajoch Slovenska, v TT a NR kraji. Prekvapivo v TN kraji s dlhodobou

najvyššou incidenciou KE po výraznom náraste počas prvej dekady (zo 4,0 na 6,7) následne poklesla.

Prekvapenie priniesla dynamika incidence LB v krajoch v trojročných cykloch (**graf 3**). Postupne narastala len v chladnejšom ZA kraji, z počiatočných 6,7 na 25,5, ale v BB kraji bol trend nerovnomerne klesajúci. Podobne celkovo klesajúci trend bol na rozdiel od trendu KE zaznamenaný v BA a PO kraji, naopak, stúpajúci na rozdiel od poklesu KE bol v TT a NR kraji. Výrazný pokles po počiatočnom náraste bol zaznamenaný aj v TN kraji, s dlhodobou najvyššou incidenciou na Slovensku.

Diskusia

Klimatická zmena spôsobuje aj na Slovensku zmeny v rozšírení kliešťov. Stúpa hustota populácie kliešťa obyčajného (*Ixodes ricinus*) vo vyšších horských polohách nad 1 000 m n. m. so sprievodným nárastom počtu ohnisk KE vo vyšších a poklesom v najnižších polohách Slovenska^(5,6). Tomuto trendu zodpovedá aj dynamika KE v prvých dvoch dekádach 21. storočia. Otvorenou otázkou ostáva rozdielna distribúcia ohnisk LB a KE aj ich trendov, hoci obe choroby majú rovnakého prenášača pôvodcov, kliešťa obyčajného, a rovnakých majú aj rezervoárov pôvodcov ochorenia v ohniskách, ktorým sú najmä drobné hlodavce. Rozdiel je v pôvodcovi, v prípade KE flavivírus, v prípade LB baktéria *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

Záver

Výsledky otvárajú viacero nových otázok, prečo na takom malom priestore, ako je Slovensko, môžu byť biotické i abiotické faktory, ktoré rozdielnym spôsobom ovplyvňujú prežívanie a šírenie vírusu KE a baktérie LB, ktoré majú spoločného prenášača kliešťa *Ixodes ricinus*, aj ich rezervoárov.

Podakovanie

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-19-0440.

LITERATÚRA

1. Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, et al. 2013. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasites Vectors* 2013; 6(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-1>
2. Bullová E, Lukáš M, Peťko B. Zmeny rozšírenia kliešťa obyčajného *Ixodes ricinus* v Západných Karpatoch Slovenska pod vplyvom klimatických zmien. *Ecology and Veterinary medicine VII. 7th International Scientific Conference*. 2008, Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach, 82-88.
3. Bona M, Blaňárová L, Stanko M, et al. Impact of climate factors on the seasonal activity of ticks and temporal dynamics of tick-borne pathogens in an area with a large tick species diversity in Slovakia, Central Europe. *Biologia* 2021; 77: 1619-1631. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00902-x>
4. <https://www.epis.sk/>, Regionálny úrad verejného zdravotníctva Banská Bystrica.
5. Lukáš M, Bullová E, Peťko B. Climate warming and tick-borne encephalitis, Slovakia. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16(3): 524-526. doi: 10.3201/eid1603.081364
6. Zeman P, Benes C. A tick-borne encephalitis ceiling in Central Europe has moved upwards during the last 30 years: Possible impact of global warming?. *Int J Med Microbiol.* 2004; 293 (Supplement 37): 48-54.

doc. MVDr. Branislav Peťko, DrSc.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach,
Centrum aplikovaného výskumu
Komenského 73, 041 81 Košice
e-mail: branislav.petko@uvlf.sk

Derivatizácia zlúčenín do formy fosfóniových solí – nová perspektívna stratégia eliminácie patogénnych akantaméb

Martin Mrva¹, Mária Garajová¹, Aneta Dušeková¹, Silvia Bittner Fialová², Miloš Lukáč³

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra zoológie, Bratislava

²Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakognózie a botaniky, Bratislava

³Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra chemickej teórie liečiv, Bratislava

Pre závažné infekcie človeka spôsobované amfizoickými meňavkami rodu *Acanthamoeba* – granulomatóznou amébovou encefalitídou (GAE) a akantamébovou keratitídou (AK) doposiaľ nebola vyvinutá spoľahlivá a štandardizovaná terapia, čo je spôsobené najmä variabilnou citlivosťou patogénov a vysokorezistentnými cystami. Experimenty dokazujú, že deriváty známych zlúčenín a fytochemikálií vo forme amfifilných fosfóniových solí sa vyznačujú účinnejšou penetráciou cez cytoplazmatickú membránu akantaméb a akumuláciou v membránových systémoch, ktoré poškodzujú. Dosahujú tak niekoľkonásobne vyšší amebicídny účinok a predstavujú novú potenciálnu stratégiu eliminácie patogénnych kmeňov týchto amfizoických meňaviek.

Kľúčové slová: *Acanthamoeba*, klinické izoláty, amebicídny efekt, fosfóniové soli

Derivatization of compounds into the form of phosphonium salts – a new perspective strategy for the elimination of pathogenic acanthamoebae

For severe human infections caused by amphizoic amoebae of the genus *Acanthamoeba* – granulomatous amoebic encephalitis (GAE) and *Acanthamoeba* keratitis (AK), a reliable and standardized therapy has not yet been developed. It is mainly due to the variable sensitivity of pathogens and highly resistant cysts. Experiments prove that derivatives of known compounds and phytochemicals in the form of amphiphilic phosphonium salts are characterized by more effective penetration of the cytoplasmic membrane of acanthamoebae and by accumulation in the membrane systems that they damage. They thus achieve a several times higher amoebicidal effect and represent a new potential strategy for eliminating pathogenic strains of these amphizoic amoebae.

Keywords: *Acanthamoeba*; clinical isolates; amoebicidal effect, phosphonium salts

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 85 – 86

Úvod

Patogénne kmene voľne žijúcich akantaméb spôsobujú závažné infekcie človeka aj zvierat: granulomatóznou amébovou encefalitídou (GAE), systémové a kožné infekcie a progresívne, zrak ohrozujúce ochorenie rohovky – akantamébovou keratitídou (AK)⁽¹⁾. Terapeutické možnosti sú obmedzené, pretože dosiaľ nie je k dispozícii žiadna spoľahlivá a štandardizovaná terapia. Kombinácie známych chemoterapeutík, antimykotík a antibiotík majú množstvo vedľajších účinkov, liečba je nejednotná, dlhodobá a vzhľadom na variabilnú citlivosť akantaméb na terapeutiká a rezistentné cysty je často neúčinná⁽²⁾. Problematická liečba vedie k vývoju nových potenciálnych terapeutík.

Fosfóniové soli – perspektívna stratégia eliminácie patogénnych akantaméb

V poslednom období sa do centra záujmu dostáva výskum fosfóniových solí. Sú to kationové tenzidy, pričom ich molekula pozostáva z lipofilnej a hydrofilnej časti⁽³⁾. Sú schopné penetrovať cez cytoplazmatickú membránu a akumulovať sa v membránových organelách, najmä mitochondriách pato-

génov, kde poškadzujú komplexy dýchacieho reťazca, membránový potenciál a syntézu ATP⁽⁴⁾. Dokázaný už bol ich antibakteriálny⁽⁵⁾ a antifungálny⁽⁶⁾ účinok. Napriek vysokému potenciálu biologickej aktivity doposiaľ bolo publikovaných iba niekoľko prác o ich antiprotozoálnej aktivite. Ich cytotoxický účinok bol úspešne skúšaný proti kmeňom *Trypanosoma brucei*⁽⁷⁾.

Prvé práce o citlivosti akantaméb na fosfóniové soli boli publikované pomerne nedávno. Bolo zistené, že derivatizácia známych zlúčenín a fytochemikálií do formy fosfóniových solí má výrazný efekt na zosilnenie amebicídneho účinku. Dôležitou obsahovou látkou mnohých rastlinných extraktov (najmä v čeľadi Lamiaceae) je fenolová zlúčenina kyselina rozmarínová, známa antioxidačnými, protizápalovými a antimikrobiálnymi účinkami. Amebicídny účinok jej dvoch fosfóniových derivátov s lepšou schopnosťou prieniku cez cytoplazmatickú membránu bol preskúmaný na dvoch klinických izolátoch rodu *Acanthamoeba* z prípadov AK. Hodnoty EC₅₀ (koncentrácia, pri ktorej je eliminovaných 50 % trofozoitov) dosahovali 1,14 – 5,6 mM po 24 h, čo je troj- až osemnásobne vyšší účinok, než dosahovala samotná kyselina rozmarín-

nová⁽⁹⁾. Ďalšou významnou fenolovou zlúčeninou je kyselina kávová, vyznačujúca sa antimikrobiálnymi účinkami, ale iba nízkou amebicídnu aktivitou. Jej derivatizácia na semisyntetickú fosfóniovú soľ výrazne prispela k zvýšeniu aktivity, pričom pri dvoch klinických izolátoch akantaméb zistená minimálna trofocídna koncentrácia (MTC) so 100 % trofocídnym účinkom, dosahovala 125 – 250 μM po 48 h. Pri samotnej kyseline kávovej MTC dosahovali hodnoty > 500 μM ⁽⁹⁾.

Metronidazol je liečivom so známymi antimikrobiálnymi účinkami, ktorý sa využíva pri terapii trichomonózy, giardiózy a amebózy, spôsobovanej *Entamoeba histolytica*. Jeho schopnosť eliminácie patogénnych kmeňov akantaméb je však nízka. Novosyntetizovaný fosfóniový amfifilný derivát metronidazolu prejavil vysokú amebicídnu aktivitu proti klinickým izolátom akantaméb s hodnotami EC_{50} 72 – 144 μM po 24 h⁽³⁾, ktorá pokračovala v podobných hodnotách aj po 48 h⁽¹⁰⁾. Po aplikácii zlúčeniny boli pozorované viaceré cytomorfologické zmeny zahŕňajúce uvoľnenie buniek z podkladu, zaguľatenie buniek, resorpciu akantopódií, narušenie integ-

rity cytoplazmatickej membrány spojené s únikom cytoplazmy, ale aj „blebbing“ cytoplazmatickej membrány, čo je znak, často asociovaný s apoptózou eukaryotických buniek⁽¹⁰⁾.

Záver

Zo spomínaných výsledkov vyplýva, že derivatizácia známych zlúčenín do formy semisyntetických amfifilných fosfóniových solí so zvýšenou schopnosťou prieniku cez cytoplazmatickú membránu patogéna predstavuje novú perspektívu v nových stratégiách eliminácie patogénnych kmeňov akantaméb.

Podakovanie

Práca vznikla s podporou grantu VEGA 1/0284/20. Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-15-0123 a APVV-19-0056.

LITERATÚRA

1. Garajová M, Mrva M. Meňavky rodu *Acanthamoeba* – pôvodcovia infekcií človeka. *Epidemiol Mikrobiol Immunol* 2011; 60: 121–130.
2. Cope JR, Ali IK, Visvesvara GS. Pathogenic and opportunistic free-living ameba infections. In: Ryan ET, Hill DR, Solomon T, et al. (Eds) *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*, 10th Ed. Elsevier Inc 2020: 814–820.
3. Lukáč M, Pisárčik M, Garajová M, et al. Synthesis, surface activity, and biological activities of phosphonium and metronidazole salts. *J Surfactants Deterg* 2020; 23: 1025–1032.
4. Zielonka J, Joseph J, Sikora A, et al. Mitochondria-targeted triphenylphosphonium-based compounds: syntheses, mechanisms of action, and therapeutic and diagnostic applications. *Chem Rev* 2017; 117: 10043–10120.
5. Kanazawa A, Ikeda T, Endo T. Synthesis and antimicrobial activity of dimethyl- and trimethyl-substituted phosphonium salts with alkyl chains of various lengths. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 945–952.
6. Tan W, Li Q, Wei L, et al. Synthesis, characterization, and antifungal property of starch derivatives modified with quaternary phosphonium salts. *Mater Sci Eng C* 2017; 76: 1048–1056.
7. Taladriz A, Healy A, Flores Pérez EJ, et al. Synthesis and structure-activity analysis of new phosphonium salts with potent activity against African trypanosomes. *J Med Chem* 2012; 55: 2606–2622.
8. Bittner Fialová S, Kello M, Čoma M, et al. Derivatization of rosmarinic acid enhances its in vitro antitumor, antimicrobial and antiprotozoal properties. *Molecules* 2019; 24(6): 1078.
9. Dušeková A, Mrva M, Garajová M, et al. Cytotoxický efekt nového derivátu kyseliny kávovej na patogénne kmene akantaméb. In: *Študentská vedecká konferencia PríF UK 2020. Zborník recenzovaných príspevkov*. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave. 2020: 120–124.
10. Dušeková A, Garajová M, Lukáč M, et al. Derivatization of metronidazole enhances cytotoxic effect against *Acanthamoeba* genotype T4 isolates and leads to cytomorphological changes in trophozoites. *Acta Trop* 2021; 216: 105830.

doc. RNDr. Martin Mrva, PhD.

Univerzita Komenského v Bratislave,
Prírodovedecká fakulta, Katedra zoológie
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava
e-mail: martin.mrva@uniba.sk

Hepatálna kapilarióza – zabudnutá zoonóza?

Martina Miterpáková¹, Zuzana Hurníková¹, Grzegorz Zalesny²

¹Parazitologický ústav Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Košice

²Wrocław University of Environmental and Life Sciences; Wrocław, Poland

Pečeňová nematóda *Capillaria hepatica*, považovaná za najpatogénnejšieho parazita potkanov a iných hlodavcov, patrí vzhľadom na svoj špecifický životný cyklus a spôsob prenosu, celosvetovo k najmenej preštudovaným helmintom. Jediné publikované nálezy *C. hepatica* zo Slovenska (Československa) pochádzajú zo 60. a 70. rokov 20. storočia, keď bolo *post mortem* zaznamenaných aj 9 humánnych prípadov tejto infekcie. V súčasnosti sa na Parazitologickom ústave SAV, v. v. i. začal epidemiologický výskum, ktorého cieľom je priniesť aktuálne informácie o rozšírení tohto parazita v intenzívne sa urbanizujúcom prostredí.

Kľúčové slová: *Capillaria hepatica*, hepatálna kapilarióza, zoonózy, parazitárne infekcie

HEPATIC CAPILLARIOSIS – A NEGLECTED ZOONOSIS?

Due to its specific life cycle and transmission pattern, the hepatic nematode, *Capillaria hepatica*, considered the most pathogenic parasite of rats and other rodents, is one of the least studied helminths in the world. The only published findings of *C. hepatica* from Slovakia (Czechoslovakia) come from the 60 s and 70 s of the 20th century when also 9 human cases of the infection were reported *post-mortem*. At the Institute of Parasitology SAS, epidemiological research has been initiated to bring up day-to-day information concerning *C. hepatica* distribution in an intensively urbanised environment.

Key words: *Capillaria hepatica*, Hepatic capillariosis, Zoonoses, Parasitic infections

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 87 – 88

Capillaria hepatica – pôvodca hepatálnej kapilariózy

Capillaria hepatica (syn. *Calodium hepaticum*) je nematóda s vysokou afinitou k pečeňovému parenchýmu vyznačujúca sa veľmi nízkou hostiteľskou špecifickosťou. Najčastejším hostiteľom tohto parazita sú potkany a ostatné hlodavce z čeľadi Murinae a Arvicolinae. Dospelé štádiá týchto helmintov žijú v pečeni, kde samice kladú vajíčka. Neembryonované vajíčka sa v parenchýme pečene nachádzajú v kapsulovanej forme a pre ich premenu na embryonované infekčné štádium treba pasážovanie cez vonkajšie prostredie, kde dosahujú infekčnú zrelosť v priebehu 5 až 8 týždňov. Z pečene sa vajíčka môžu uvoľniť do vonkajšieho prostredia dvoma cestami: buď posmrtným rozkladom hostiteľského organizmu alebo procesom ingescie, trávenia a vylúčenia v truse predátorov a saprofágov⁽¹⁾.

Hepatálna kapilarióza u ľudí

Capillaria hepatica patrí medzi parazity so zoonóznym charakterom. Človek sa môže nakaziť perorálne embryonovanými vajíčkami kontaminujúcimi prostredie; požitím neembryonovaných vajíčok dochádza k ich prepasážovaniu cez organizmus a tzv. nepravej infekcii. Z embryonovaných vajíčok sa v tenkom čreve uvoľnia larvy, ktoré cez *vena portae* migrujú do pečene, kde v priebehu jedného mesiaca dozrievajú do dospelého štádia (2). Patologický obraz hepatálnej kapilariózy súvisí s procesom kladenia vajíčok parazita do parenchýmu pečene. Rozvíja sa nekróza parenchýmu a ako následok fibrózy sa formujú granulómy. Ochorenie je manifestované triádou symptómov – perzistujúca horúčka, hepatomegália a leukocytóza s hypereozinofíliou. Laboratórne vyšetrenie

nia zväčša odhalia hypergamaglobulinémiu a zvýšené hladiny alanínaminotransferázy (ALT), aspartátaminotransferázy (AST) a laktátdehydrogenázy (LDH)⁽¹⁾. Stanovenie diagnózy je v prípade hepatálnej kapilariózy veľmi zložitá, keďže vajíčka nie sú vylučované stolicou. Diagnóza je jednoznačne stanovená až po biopsii pečene a mnohých prípadoch až *post mortem*⁽³⁾. Z pohľadu humánnej medicíny a verejného zdravia, nehygienické podmienky a premnožené hlodavce v prostredí výraznou mierou zvyšujú riziko nakazenia. Navyše, ako špecifický rizikový faktor u detí, ktoré predstavujú až 60 % zo všetkých doteraz hlásených infikovaných pacientov, bola identifikovaná geofágia⁽¹⁾. Na základe publikovaných údajov je prevalencia hepatálnej kapilariózy u ľudí nízka, avšak vzhľadom na neexistujúce *in vivo* diagnostické metódy uplatniteľné v praktickej medicíne, reálna situácia týkajúca sa rozšírenia tohto druhu v ľudskej populácii zostáva nejasná.

Capillaria hepatica na Slovensku – história a súčasný výskum

Jediné publikované nálezy *C. hepatica* zo Slovenska pochádzajú zo 60. a 70. rokov 20. storočia, keď bol parazit detegovaný v pečeni mačky⁽⁴⁾ a niekoľkých druhov hlodavcov⁽⁵⁾. V rámci aktuálne prebiehajúceho výskumu bolo na Parazitologickom ústave SAV, v.v.i. vyšetrených na prítomnosť *C. hepatica* vyše 300 potenciálnych definitívnych hostiteľov (hlodavcov a hmyzožravcov), s priemernou prevalenciou identifikovanou na úrovni okolo 3,0 %. Jediné známe humánne prípady pečeňovej kapilariózy na území bývalého Československa boli diagnostikované v rokoch 1960 a 1970. Išlo o 9 prípadov infekcie potvrdených *post mortem*, pričom tieto

prípady predstavovali zároveň prvý záchyt parazita u ľudí na území celej Európy⁽⁶⁾. Od tohto obdobia nebol na území Slovenska vykonaný žiadny systematický výskum zameraný na rozšírenie a epidemiológiu tohto druhu.

Vyhlasenie

Autori príspevku vyhlasujú, že si nie sú vedomí žiadneho konfliktu záujmu. Práca v prezentovanej forme nebola publikovaná v inom periodiku.

Podakovanie

Výskum bol podporený finančnými prostriedkami projektu APVV-21-0166 a APVV-SK-PL-21-0026.

LITERATÚRA

1. Fuehrer HP, Igel P, Auer H. *Capillaria hepatica* in man—an overview of hepatic capillariosis and spurious infections. *Parasitol Res* 2011; 109: 969–979.
2. Miyazaki I. Capillariasis. In *Helminthic zoonoses*. Tokyo: International Medical Foundation of Japan, 1991. pp. 447-452
3. Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. *Capillaria hepatica*. In *Clinical Parasitology*. Philadelphia: Lea&Febiger, 1984. pp. 245-246.
4. Mituch J. Helminths of the domestic cat (*Felis domestica* L.) in Slovakia (ČSSR). *Folia Vet* 1968; 2: 165.
5. Fuehrer HP. An overview of the host spectrum and distribution of *Capillaria hepatica* (syn. *Capillaria hepatica*): part 1—Muroidea. *Parasitol Res* 2014; 113: 619–640.
6. Šlais J. The finding and identification of solitary *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) in man from Europe. *Folia Parasitol (Praha)* 1973; 20: 149-161.

MVDr. Martina Miterpáková, DrSc.

Parazitologický ústav Slovenskej akadémie vied, v. v. i.

Hlinkova 3, 040 01 Košice

e-mail: miterpak@saske.sk

Záchyty parazitárních agens nebo protilátek proti nim v plzeňském regionu v létech 1981 – 2020

Karel Fajfrlík¹, Kristína Farkašová², Dominika Jadroňová³

¹Mikrobiologický ústav LF a FN v Plzni

²Biopoptická laboratoř Medicyt, Košice

³Oddelenie klinické biochemie nemocnice Agel, Levoča

Byla analyzována data z plzeňského regionu za čtyřicetileté období. Ve studii byl zaznamenán sestupný trend výskytu parazitárních infekcí. K největším změnám došlo v 90. letech minulého století, kdy se v ČR transformovalo zdravotnictví, hygienická služba a také docházelo ke změnám geografického uspořádání. To vše mohlo analýzu ovlivňovat. Vedle kvalitní diagnostiky je velmi důležité dodržovat nastavený systém hlášení kompetentním orgánům a z dlouhodobého hlediska i uchovávání relevantních dat.

Klíčová slova: parazitární infekce, systém hlášení, dostupnost dat

The Captures of Parasitic Agents or Their Antibodies in Plzeň Region in 1981-2020

The data from the Plzeň Region for 40 years were analysed. The study recorded a decreasing trend of parasitosis occurrence. The most significant changes occurred in the 90 s of the last century when the health care and public health care service were transformed together with the changes in geographical arrangement. All this was possibly able to influence the analysis. Apart from high-quality diagnostics, it is essential to abide by the set reporting system to competent bodies and also preserve relevant data in the long term.

Keywords: parasitosis, reporting system, data availability

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 89 – 90

Ve studii jsou zpracována data z parazitologických vyšetření za období 1981 – 2020 z plzeňského regionu. Pro zvýraznění úbytku pozitivních záchytů jsou srovnávána dvě dvacetiletá období: 1981 – 2000 a 2001 – 2020. Data jsou zatížena určitou chybou, protože za tak dlouhé období nebylo možné čerpat z jednoho zdroje. Rovněž došlo v roce 2000 k rozdělení původně Západočeského kraje na dva samostatné – Plzeňský a Karlovarský, proto uvádíme jako geografickou oblast plzeňský region. Z toho vyplynulo i rozdělení hlášení na dvě hygienické stanice. V některých letech došlo k výraznému navýšení počtu záchytů, které souvisely s momentální geopolitickou situací (např. povinnost vyšetřovat určité skupiny obyvatelstva).

Záchyt parazitárních infekcí v České republice má dlouhodobě sestupnou tendenci. Všechny podléhají povinnému hlášení hygienické službě. Každým rokem je hlášeno stále méně infekcí s protozoární i helmintární etiologií. Podobná situace je pravděpodobně ve všech zemích mírného podnebného pásu s podobnými hygienickými a protiepidemickými opatřeními. Jediná parazitóza, která si dlouhodobě udržuje svůj početní standard je svrab.

Diagnostiku a hlášení této infekce nezajišťují parazitologická pracoviště, ale většinou dermatologická nebo dermatovenerologická. Největší problémy jsou detekovány v domovech důchodců, léčebnách dlouhodobě nemocných a v ostatních zdravotnických zařízeních (tabulka 1).

Nejobtížnější v této studii bylo shromáždění relevantních dat. Během sledovaných 40 let došlo několikrát ke změně systému hlášení včetně médií, na kterých jsou data ucho-

vávána. Do roku 1992 data pochází z výročních zpráv KHS (Krajská hygienická stanice v Plzni), v letech 1993 – 2020 z dat EpiDatu a ISINu (Informační systém infekčních nemocí). Vše bylo srovnáváno s dostupnými čísly v jednotlivých laboratořích a někdy s daty NRL (Národní referenční laboratoře). Shromážděné údaje pocházejí ze standardních parazitologických vyšetřovacích metod na přímý průkaz parazitárních agens nebo jejich částí a na detekci protilátek proti nim (*Toxoplasma gondii*). Během sledovaného období nedošlo v tomto regionu k žádným personálním změnám v obsazení laboratoří nebo jen minimálním. Diagnostika po celou dobu byla standardní a řídila se pokyny NRL a nejnovějšími poznatky v procesech laboratorní diagnostiky. V žádném případě se nemůže jednat o chybnou diagnostiku, jak by se mohlo v některých letech zdát. Problémy nutno hledat na straně hlášení jednotlivých záchytů laboratořemi a jejich transformaci do celostátních statistik. Jedinou velkou změnou bylo rozdělení krajů a nově povinnost hlášení na HS Plzeňského a Karlovarského kraje. Pravdou je, že v Karlovarském kraji na přelomu tisíciletí některé laboratoře zanikly.

V letech 1981 – 2000 bylo detekováno z humánních vzorků celkem 8 360 helmintů nebo jejich částí a 7 934 protozoí nebo „akutních protilátek“ proti nim. V letech 2001 – 2020 to bylo pouze 1 018 záchytů helmintů nebo jejich částí a 389 protozoí. Ve statistice se objevují jen kontinuálně dohledatelné agens od roku 1981 až do současnosti.

Sledovaná protozoa: *Toxoplasma gondii*, *Trichomonas vaginalis*, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Plasmodium spp.* a *Cryptosporidium spp.*

Tabulka 1. Počet hlásených záchytů svrabu v ČR v letech 2012 – 2021 (SZÚ Praha)

Kód	Diagnóza	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
B86	Svrab	3 336	3 960	4 202	4 277	4 590	3 711	3 483	3 570	2 382	3 310

Tabulka 2. Hlášené agens ve sledovaných obdobích. Prostřední sloupec demonstuje záchyty do roku 1995, téměř shodné s prvním sledovaným obdobím. Po tomto roce je úbytek markantní

Agens	1981 – 2000	1981 – 1995	2001 – 2020
<i>Ancylostoma duodenale</i>	546	541	78
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1 073	1 008	79
<i>Trichuris trichiura</i>	1 604	1 500	113
<i>Enterobius vermicularis</i>	4 651	úbytek kontinuální	402
<i>Taenia saginata</i>	411	383	22
<i>Plasmodium spp.</i>	22	úbytek kontinuální	10
<i>Entamoeba hist./disp.</i>	23	18	6
<i>Giardia intestinalis</i>	2 527	2 419	58
<i>Toxoplasma gondii</i>	1 053	úbytek kontinuální	283
<i>Trichomonas vaginalis</i>	4 309	4 281	29
<i>Cryptosporidium spp.</i>	0	0	3

Sledování helminti: *Enterobius vermicularis*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale*, a *Taenia saginata*

U všech parazitóz se dá shrnout, že zlomovým obdobím byly roky 1995 a 1996. Pravděpodobně to souvisí s transformací zdravotnického systému a s nástupem zdravotních pojišťoven na trh. Nejmarkantnější je to u záchytů *T. vaginalis* (vyšetření MOP), kdy ve sledovaném období až do roku 1995 bylo hlášeno 200 – 300 případů ročně, v roce 1996 jen 15 a v roce 1997 pouze jeden případ. Tato pohlavně přenosná infekce ale rozhodně nezmizela. Co konkrétně výsledky záchytů ovlivnilo, není dohledatelné. Byla to totiž doba, kdy se ve velkém rozmáhal i sexuální průmysl a všechny příhraniční oblasti směrem na západ byly doslova rájem tohoto byznysu.

Velký vliv na počet záchytů má vyšetřovaná klientela. V našem regionu byla do roku 1989 povinnost vyšetřovat cizí státní příslušníky vietnamské a kubánské národnosti, kteří pracovali ve Škodových závodech. Po roce 1989 tato povinnost skončila a počet záchytů se zvyšoval pouze nárazově při mimořádných vyšetřovacích akcích (běženecské tábory).

Tato studie tedy ukazuje, že je, samozřejmě, důležitá kvalitní laboratorní diagnostika infekčních agens, stejně jako důsledné hlášení všech záchytů a jejich standardní uchovávání. Trend úbytku je nezastavitelný, přesto na parazitární agens musíme stále myslet, musíme je umět diagnostikovat a tyto nálezy správně interpretovat a hlásit příslušným HS.

LITERATÚRA:

1. Výroční zprávy Protiepidemického odboru Krajské hygienické stanice v Plzni
2. Epidemiologická databáze EPIDAT
3. Informační systém infekčních nemocí ISIN
4. Data Národní referenční laboratoře pro diagnostiku střevních parazitóz v Praze
5. Materiály oddělení parazitologie FN v Plzni

RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Révová 12, 301 00 Plzeň, ČR
e-mail: FAJFRLIK@fnplzen.cz

Ovplyvnia klimatické zmeny výskyt machovcov na Slovensku?

Gabriela Štrkolcová¹, Michaela Kaduková¹, Andrea Schreiberová¹, Miroslava Petrášová²

¹Katedra epizootológie, parazitológie a ochrany spoločného zdravia, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

²Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Machovce sú celosvetovo rozšírené endoparazity, ktoré postihujú gastrointestinálny trakt zvierat a ľudí. Rody *Ancylostoma* a *Uncinaria* patria do čeľade Ancylostomatidae a majú zoonotický potenciál. V našej práci sme sa zaoberali výskytom a prevalenciou parazitov z čeľade Ancylostomatidae v rôznych skupinách mäsožravcov. Naše výsledky sú prvotnou molekulárnou a morfometrickou evidenciou výskytu *Uncinaria stenocephala* u psov a líšok na Slovensku aj v Európe. Výskyt tohto druhu je špecifický práve pre oblasti mierneho pásma, zatiaľ čo výskyt druhov rodu *Ancylostoma* je obmedzený predovšetkým na tropické a subtropické oblasti. Klimatické zmeny by mohli ovplyvniť výskyt nových druhov machovcov na Slovensku, ktoré by predstavovali zdravotné riziko nielen u mäsožravcov, ale aj v ľudskej populácii.

Kľúčové slová: mäsožravce, *Uncinaria stenocephala*, čeľaď Ancylostomatidae, vajíčka, koprokultúra

Will climate changes affect the occurrence of hookworms in Slovakia?

Hookworms are globally spread endoparasites afflicting the gastrointestinal tract not only in animals but also in humans. The *Ancylostoma* and *Uncinaria* genera belong to the Ancylostomatidae family, referred to as hookworms with zoonotic potential. The present paper deals with the occurrence and prevalence of parasites of the Ancylostomatidae family in different groups of carnivores. Our results also represent the first molecular and morphometric identification of *Uncinaria stenocephala* in dogs and foxes in Slovakia and Europe. *U. stenocephala* occurs specifically in regions with a moderate climate, whereas the occurrence of the *Ancylostoma* spp. species is limited primarily to tropical and subtropical regions. Climate changes might affect newly emerging hookworm species in Slovakia, particularly the *Ancylostoma* spp., which impose risk to the health of animals and humans.

Keywords: carnivores, *Uncinaria stenocephala*, family Ancylostomatidae, eggs, coproculture

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 91 – 92

Úvod

Infekcie spôsobené machovcami sú celosvetovo rozšírené v populácii psov, mačiek, voľne žijúcich zvierat a predstavujú zdravotné riziko pre verejné zdravie. Najvýznamnejšími zástupcami u ľudí sú *Necator americanus* a *Ancylostoma duodenale*, spôsobujúci anemické ochorenie tenkého čreva v tropických a subtropických oblastiach s vlhkým počasím. Medzi významné antropozoonózne druhy patrí aj *A. ceylanicum*, *A. braziliense*. U mäsožravcov sú najviac zastúpené druhy *Ancylostoma caninum* s výskytom u psa, líšky a iných Canidae a *U. stenocephala* s výskytom u psa, mačky, líšky. *U. stenocephala* je pôvodcom najrozšírenejšej ankylostomózy mierneho pásma a je známy pod názvom machovec líščí. Z pohľadu klimatických podmienok druhu *Ancylostoma* spp. preferujú pre svoj vývin teplejšie prostredie ako *U. stenocephala*^(1,2). Podľa Garcia – Rodrigo et al. 2017⁽³⁾ globálne otepľovanie spojené s vysokými teplotami a vlhkosťou môže podporiť v Európe vytvorenie priaznivých podmienok na šírenie tropických druhov ako *A. duodenale*, *A. braziliense*, ako aj *A. caninum*. Druhy rodu *Ancylostoma* a *U. stenocephala* majú zoonotický potenciál a tieto druhy ohrozujú zdravie človeka postihnutím gastrointestinálneho aparátu alebo pri per cutis infekcii dochádza k vzniku *larva migrans cutanea* (LMC).

Materiál a metodika

Počas obdobia skúmania (2017 – apríl 2023) sme vyšetřili 833 vzoriek trusu s cieľom diagnostikovať vajíčka z čeľade Ancylostomatidae u psov z útulkov, psov z rómskej segregovanej osady, psov chovaných v domácom prostredí, poľovne upotrebitelných psov a u líšok. Vykonali sme základné koprologické vyšetrenie flotačnou metódou s cieľom potvrdenia vajíčok. Na potvrdenie druhu *U. stenocephala* sme použili koprokultúru, pitvu čriev a PCR metódu. Larvy rôznych štádií sme morfologicky identifikovali podľa dostupného kľúča Gibbs 1961^(4,5). Koprokultúrou sme vykuľtivovali a následne identifikovali rabditiformné a filariformné larvy *U. stenocephala*. Pre presnú identifikáciu druhu sme použili jednokrokovú nested PCR analýzu kódujúcu gén cytochróm c oxidázu podjednotku I (cox1).

Výsledky a diskusia

Potvrdili sme prevalenciu vajíčok z č. Ancylostomatidae od 12,1 – 30,6 % v truse vyšetřovaných skupín psov. U líšok sme vykonali parazitologickú pitvu gastrointestinálneho traktu, kde sme detegovali u jednej z nich 5 adultných jedincov *U. stenocephala*, ktorých prítomnosť sme potvrdili aj na základe koprokultúry a taktiež PCR diagnostiky. Z hľadiska výskytu ankylostomózy spôsobenej zoonotickými druhmi v Euró-

pe je uvádzaných viacero prípadov autochtónneho ochorenia *larva migrans cutanea* (LMC). V mnohých prípadoch LMC syndrómu u ľudí v Európe neboli konkrétne druhy identifikované⁽⁶⁾. Globálne otepľovanie, meniac sa klíma v miernom pásme Európy či cestovanie do tropických krajín môže mať vplyv na šírenie zoonotických druhov machovcov aj do neendemických oblastí sveta.

Záver

Naše výsledky priniesli prvý európsky záznam molekulárneho a morfometrického potvrdenia druhu *U. stenocephala* u psov, ako aj dospelcov *U. stenocephala* od voľne žijúcich líšok.

Konflikt záujmov

Autori vyhlasujú, že nemajú žiadny konflikt záujmov.

Čestné vyhlásenie

Práca je originálna, nebola publikovaná a ani zadaná na publikovanie v inom časopise.

Podakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore vedeckej grantovej agentúry VEGA č. 1/0709/23.

LITERATÚRA

1. Hawdon JM, Wise KA. *Ancylostoma caninum* and other canine hookworms. Dog parasites endangering human health, 2021; 147-193.
2. Okulewicz A. The impact of global climate change on the spread of parasitic nematodes. *Annals of parasitology*, 2017; 63: 15-20.
3. Garcia-Rodrigo CG, Romero FT, Olivo CZ. Cutaneous larva migrans, welcome to a warmer Europe. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 2017; 31: 33-35.
4. Gibbs, HC. Studies on the life cycle and developmental morphology of *Dochmoides stenocephala* (Railliet 1884) (Ancylostomatidae: Nematoda). *Canadian Journal of Zoology*, 1961; 39: 325-348.
5. Štrkolcová G, Mravcová K, Mucha R, et al. Occurrence of Hookworm and the First Molecular and Morphometric Identification of *Uncinaria stenocephala* in Dogs in Central Europe. *Acta Parasitologica*, 2022; 67: 764-772.
6. Del Giudice P. et al. Autochthonous cutaneous larva migrans in France and Europe. *Acta dermato-venereologica*, 2019; 99: 805-808.

doc. MVDr. Gabriela Štrkolcová, PhD.

Katedra epizootológie, parazitológie a ochrany spoločného zdravia,
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 041 81 Košice
e-mail: Gabriela.Strkolcova@uvlf.sk

newslab – recenzovaný časopis laboratórnej medicíny ponúka autorom priestor na uverejnenie výsledkov ich vedecko-výskumnej práce formou prehľadových článkov, pôvodných prác, novínok v odbore alebo kazuistík.

newslab už štrnásť rokov prináša čitateľom najnovšie poznatky z oblasti vedy a výskumu. Jeho hlavnou cieľovou skupinou sú lekári, vedecko-výskumní pracovníci na univerzitách a laboratórni pracovníci. Je distribuovaný aj do všetkých dôležitých vedeckých knižníc.

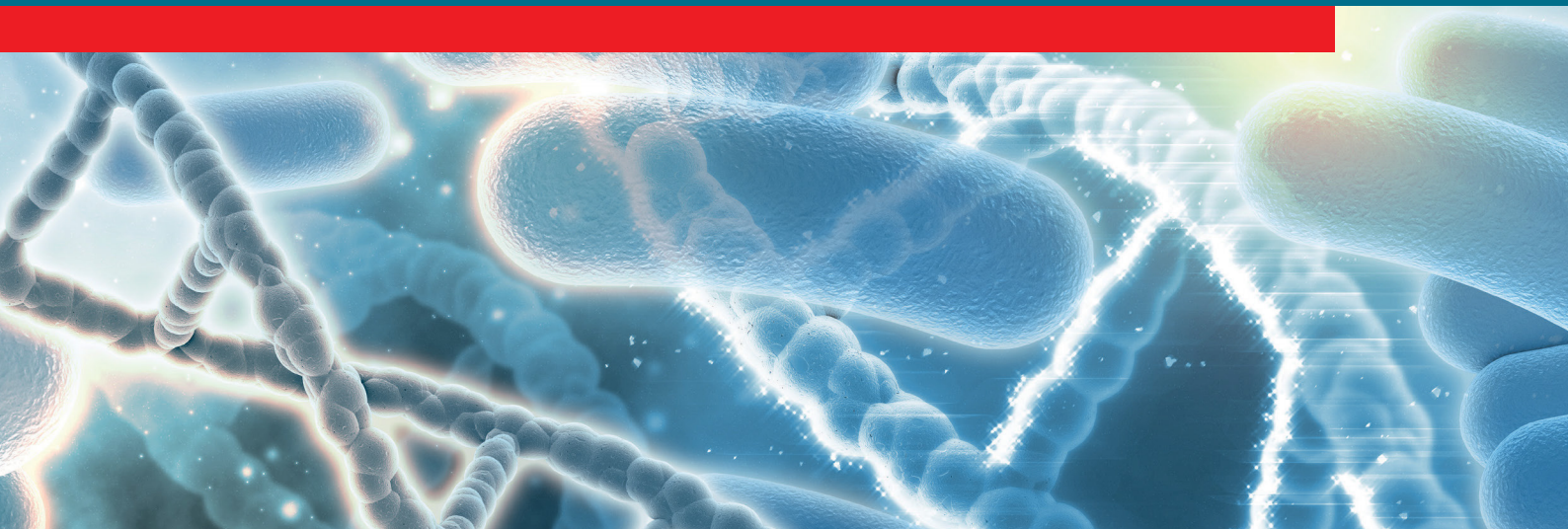
Časopis má pridelenú citačnú skratku, čo v praxi znamená, že autorom sa ich príspevky započítavajú do publikačnej činnosti. Zároveň je indexovaný v Bibliographia Medica Slovaca (BMS) a citácie sú spracované v CiBaMed.

Všetky uverejnené príspevky autorov sú recenzované.

Vydavateľ:	MEDIREX GROUP ACADEMY n. o.
Redakcia:	MEDIREX GROUP ACADEMY n. o.
Periodicita:	2x ročne
Počet strán:	70 – 100
Náklad:	5 000 ks

Aktuálne vydanie nájdete na stránke www.newslab.sk.

V prípade záujmu o publikovanie nás kontaktujte na e-mailovej adrese: redakcia@newslab.sk.



www.newslab.sk
www.medirexgroupacademy.sk

