

Natalia Wnukowska¹, Ruslan Salamatina^{1,2}, Elżbieta Gołqb¹

WYSTĘPOWANIE BĄBLOWICY U LUDZI W POLSCE W LATACH 2003–2010 W ŚWIETLE WYNIKÓW BADAŃ SEROLOGICZNYCH WYKONANYCH W NIZP-PZH

HUMAN ECHINOCOCCOSIS IN POLAND IN 2003–2010 ACCORDING TO THE SEROLOGICAL TESTS RESULTS OF NIPH-NIH

¹Zakład Parazytologii Lekarskiej Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

²Katedra Biologii Ogólnej i Parazytologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

STRESZCZENIE

W latach 2003–2010 w Zakładzie Parazytologii Lekarskiej NIZP-PZH wykonano badania serologiczne 5 483 osób podejrzanych o bąbłowicę. Zastosowano test przesiewowy ELISA (Bordier Affinity Products S. A.) oraz testy potwierdzenia: Western-blot (LDBIO Diagnostics, Lyon-France) i ELISA Em2 plus (Bordier Affinity Products S.A.). Wykryto bąbłowicę u 235 osób, w tym jednojamową – zarażenie *Echinococcus granulosus* – u 162 i wielojamową – zarażenie *E. multilocularis* – u 33 osób. W 40 przypadkach nie udało się określić gatunku bąbłowca. W okresie 2006–2010 zaobserwowano liniowy spadek odsetka dodatnich wyników badań. Jednak doniesienia o stałym wzroście populacji lisów w Polsce, w tym odsetka osobników zarażonych *E. multilocularis*, mogą wskazywać na potrzebę stałego monitoringu alweokokozy ludzi.

Słowa kluczowe: *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, bąbłowica jednojamowa, bąbłowica wielojamowa, występowanie w Polsce, diagnostyka laboratoryjna

ABSTRACT

In 2003–2010 5483 persons suspected of echinococcosis were examined for *Echinococcus granulosus* and *Echinococcus multilocularis* infections using serological tests in the Department of Medical Parasitology National Institute of Public Health – National Institute of Hygiene. The screening test ELISA (Bordier Affinity Products S. A.), confirmation tests Western-blot (LDBIO Diagnostics, Lyon-France) and ELISA Em2 plus (Bordier Affinity Products S.A.) were applied. Within 235 persons positive for in screening test, 162 were confirmed with *Echinococcus granulosus* and 33 – *E. multilocularis*. In 40 cases the tests failed to determine the *Echinococcus* species. In the period of 2006–2010 the linear decrease of percentage of positive results was observed. However, the information about the continuously growing population of red fox in Poland, together with the growing percentage of the animals infected with *E. multilocularis*, suggests the need for continuous monitoring of human alveococcosis.

Key words: *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, human hydatidosis, human alveococcosis, laboratory diagnostics, Poland

WSTĘP

W Europie bąbłowicę u ludzi wywołują larwalne postaci tasiemców należących do dwóch gatunków *Echinococcus granulosus* oraz *E. multilocularis*.

E. granulosus wywołuje w organizmie człowieka bąbłowicę jednojamową (hydatidozę), która najczęściej dotyczy wątroby, rzadziej płuc, mózgu oraz innych narządów. Z uwagi na powolny wzrost torbiele *E. granulosus* nie wywołują początkowo objawów chorobowych i są wykrywane przypadkowo, przy wykonywaniu

badań obrazowych. Objawy związane są z wielkością larwy i jej usytuowaniem w narządzie, mają charakter uciskowy. W przypadkach mechanicznego uszkodzenia torbiele, kiedy materiał zarodkowy tasiemca wydostaje się do jamy pierśiowej lub brzusznej, może dochodzić do szoku anafilaktycznego oraz rozwoju rozsianych torbiele wtórnych.

E. multilocularis wywołuje bąbłowicę wielojamową (alweokokozę). Postać larwalna tasiemca rozwija się głównie w wątrobie. Larwa wzrasta w postaci wypustek i pęcherzyków wnikających w tkanki narządu.

Niektóre pęcherzyki po oderwaniu się od zrębu torbieli mogą przemieszczać się drogą naczyń krwionośnych i chłonnych i tworzyć przerzuty, nawet w tak odległych narządach, jak ośrodkowy układ nerwowy. Naciekowy wzrost pasożyta i zdolność do metastazy upodabnia bąblowicę wielojamową do choroby nowotworowej.

Kryteriami pozwalającymi na rozpoznanie bąblowicy są: 1) obecność typowych zmian narządowych w badaniu obrazowym oraz potwierdzenie ich etiologii testem serologicznym; 2) wykrycie obecności swoistych przeciwciał przeciw *Echinococcus* spp. w surowicy krwi za pomocą testu serologicznego o wysokiej czułości, a następnie potwierdzenie ich występowania testem serologicznym o wysokiej swoistości.

Celem niniejszej pracy była ocena częstości występowania przypadków zarażenia tasiemcami *E. granulosus* i *E. multilocularis* w Polsce w latach 2003–2010 na podstawie wyników badań serologicznych przeprowadzonych w Zakładzie Parazytologii Lekarskiej NIZP-PZH.

MATEIAŁ I METODY

W latach 2003–2010 w NIZP-PZH zbadano 5 483 próbki surowic pochodzących od osób z całej Polski, z podejrzeniem o zarażenie tasiemcami *Echinococcus*. Badanie serologiczne obejmowało test przesiewowy i test potwierdzenia.

Testem przesiewowym był test ELISA na obecność przeciwciał klasy IgG przeciwko antygenom formy larwalnej *Echinococcus* (Bordier Affinity Products S. A.). Wyniki dodatnie ELISA były potwierdzane metodą Western-blot (WB) (LDBIO Diagnostics, Lyon-France). Metoda WB, w większości przypadków, umożliwia rozróżnienie zarażeń *E. granulosus* i *E. multilocularis* na podstawie wzoru reakcji przeciwciał IgG z różnymi frakcjami antygenowymi tasiemców. Probki, dla których niemożliwe było zróżnicowanie gatunków, zbadano testem ELISA Em2 plus wykrywającym przeciwciała IgG swoiste dla *E. multilocularis* (Bordier Affinity Products S.A.). Ten ostatni test zastosowany był w latach 2006–2010.

Interpretacja wyników badań. Na zarażenie *E. multilocularis* wskazuje dodatni wynik testu Em2 plus lub testu WB dla frakcji charakterystycznych dla *E. multilocularis*.

Na zarażenie *E. granulosus* wskazują: dodatni wynik WB dla frakcji charakterystycznych dla *E. granulosus*, lub dodatni wynik WB dla frakcji nie pozwalającej na rozróżnienie tasiemców i ujemny wynik testu Em2 plus.

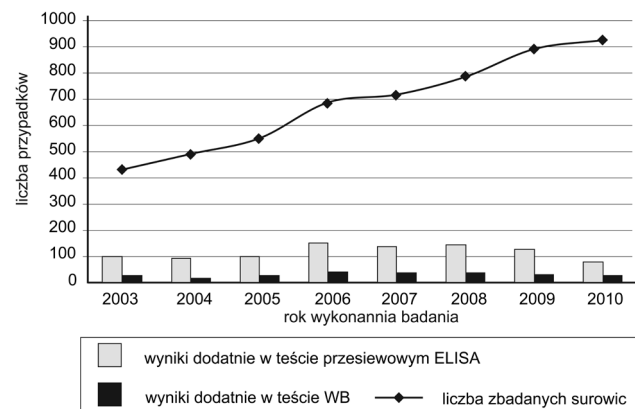
Ocena statystyczna. Częstość występowania wyników dodatnich w badanym okresie określano na kilka sposobów: 1) przy pomocy testu χ^2 testowano

hipotezę o niezależności częstości wyników dodatnich od roku badania; 2) badano liniowość zależności odsetka wyników dodatnich od roku badania przy pomocy współczynnika korelacji liniowej Pearsona, którego istotność badano testem t-Studenta; 3) różnice częstości występowania wyników dodatnich między poszczególnymi latami badania (parami) testowano korzystając ze statystyki opartej na rozkładzie Gaussa (normalnym).

WYNIKI

U 924 (16,9%) spośród 5 483 zbadanych osób stwierdzono obecność swoistych przeciwciał klasy G. Częstość występowania wyników dodatnich w poszczególnych latach malała (współczynnik korelacji liniowej Pearsona $r = -0,79$; $p < 0,05$).

Po zastosowaniu testu potwierdzającego WB dla próbek dodatnich w teście przesiewowym odsetek wyników wskazujących na zarażenie *Echinococcus* wynosił 25,4% (235 próbek), przy czym nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy kolejnymi latami w odsetkach wyników dodatnich ($\chi^2 = 4,17$; $df = 7$; $p > 0,5$) (ryc. 1).



Ryc. 1. Częstość wykrywania przypadków zarażenia tasiemcami *Echinococcus* spp. w latach 2003–2010 w grupie osób zbadanych w NIZP-PZH

Fig. 1. Frequency of detection of the *Echinococcus* spp. infections in 2003–2010 in NIPH-NIH

Odsetek próbek dodatnich w teście WB w stosunku do wszystkich zbadanych próbek wynosił 4,3%. Przeprowadzono analizę różnic potwierdzonych serologicznie przypadków bąblowicy w stosunku do ogólnej liczby zbadanych surowic między poszczególnymi latami. Na podstawie testu opartego na rozkładzie normalnym stwierdzono statystycznie istotne różnice między poszczególnymi latami. Od 2006 roku obserwuje się liniowy spadek odsetka występujących zarażeń (współczynnik korelacji Pearsona $r = -0,997$; $p < 0,002$). Odsetek przypadków wykrytych w roku 2010 był statystycznie istotnie niższy niż w roku 2003 oraz w latach 2005–2008 (tab. I).

Tabela I. Wykrywalność zarażeń *Echinococcus* spp. w grupie osób zbadanych w NIZP-PZH testem WB w latach 2003–2010Table I. Detection rates of *Echinococcus* spp. infection within persons examined by WB test in NIPH-NIH in 2003–2010

	2003 (6,0%)						
2004 (3,0%)	← (*)	2004 (3,0%)					
2005 (4,7%)			2005 (4,7%)				
2006 (5,8%)		↑ (**)		2006 (5,8%)			
2007 (5,2%)		↑ (*)			2007 (5,2%)		
2008 (4,5%)						2008 (4,5%)	
2009 (3,5%)	← (*)			← (*)			2009 (3,5%)
2010 (2,7%)	← (**)		← (*)	← (**)	← (**)	← (*)	

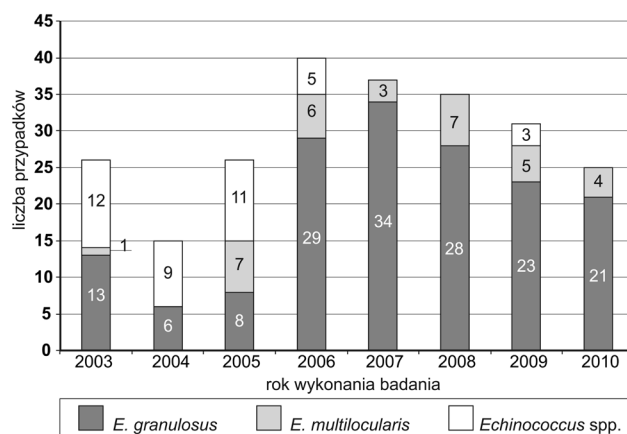
← ↑ pokazuje rok, dla którego odsetek stwierdzonych wyników jest mniejszy.

(*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$.

Spośród 235 osób, u których testami potwierdzenia wykryto obecność przeciwciał klasy IgG przeciwko tasiemcom *Echinococcus*, zarażenie *E. granulosus* rozpoznano u 162 (69,0%), a *E. multilocularis* u 33 osób (14,0%). W pozostałych 40 przypadkach (17,0%) wzór prążków w metodzie WB nie pozwalał na określenie gatunku *Echinococcus*, a test ELISA Em2 plus nie został wykonany.

Wyniki analizy statystycznej częstości diagnozowania *E. granulosus* w grupie 235 osób z potwierdzonym rozpoznaniem bąblowicy (wariancja międzygrupowa siedmiokrotnie większa od wewnątrzgrupowej) uzasadniły podział okresu badania w latach 2003–2010 na dwa podokresy, tj. 2003–2005 i 2006–2010. Częstość diagnozowania zarażeń *E. granulosus* w podokresie 2006–2010 (80,3%) była istotnie wyższa niż w latach 2003–2005 (40,3%), (test oparty na rozkładzie normalnym, $p < 0,000001$). Wzrostowi częstości diagnozowania *E. granulosus* w latach 2006–2010 w stosunku do lat 2003–2005 towarzyszył prawie dziesięciokrotny spadek częstości dodatnich wyników, w których nie określono gatunku bąblowca. Odsetek takich wyników wynosił 47,8% w latach 2003–2005 oraz 4,8% w latach 2006–2010 (ryc. 2).

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic częstości wykrywania zarażenia *E. multilocularis* w obu wyróżnionych podokresach (odpowiednio 11,9% i 14,9%). Częstość wykrywania przypadków alveokokozy w poszczególnych latach 2003–2010 w odnie-

Ryc. 2. Liczba zarażeń poszczególnymi gatunkami *Echinococcus* stwierdzonych w NIZP-PZH w latach 2003–2010. Wyniki obejmują badania metodą WB (lata 2003–2010) oraz ELISA Em2 plus (lata 2006–2010)Fig. 2. The numbers of infections with *E. granulosus* and *E. multilocularis* in NIPH-NIH in 2003–2010. The data includes results obtained with WB (2003–2010) and ELISA Em2 plus (2006–2010) tests

sieniu do częstości wykrywania bąblowicy łącznie nie uległa istotnemu wzrostowi ($\chi^2 = 10,5$; $df = 7$; $p > 0,1$).

OMÓWIENIE

W latach 2003–2010 w NIZP-PZH wykonano badania serologiczne 5 483 osób z podejrzeniem bąblowicy. W wyniku badań przesiewowych 16,9% osób zaklasyfikowano do badań testami potwierdzenia. Po weryfikacji przeprowadzonej za pomocą testu Western-blot wyeliminowano z tej grupy aż 74,6% osób podejrzanych o chorobę. Zaskakująco niski odsetek potwierdzonych wyników dodatnich w stosunku do ogólnej liczby zbadanych (4,3%) może wskazywać, że *Echinococcus* należy do rzadkich czynników etiologicznych torbieli wątroby w naszym kraju. Jednak na wysokość odsetka wykrytych zarażeń mogły też wpłynąć wyniki badań wykonywanych przez pacjentów, którzy nie mieli objawów klinicznych. W analizowanym okresie wiele osób wykonywało testy serologiczne pod wpływem rozpowszechnianych przez media informacji o zachorowaniach na alveokokozę w wyniku spożycia jagód. W takich przypadkach, nawet przy istniejącym zarażeniu *Echinococcus*, wyniki ujemne mogły być efektem zbyt wczesnego wykonania badania (efekt tzw. okienka immunologicznego).

Z danych epidemiologicznych opublikowanych przez European Food Safety Authority (1) wynika, że w latach 2005–2009 w Unii Europejskiej odnotowano 3 827 przypadków bąblowicy u ludzi. W Polsce w tym

okresie zarejestrowano 192 przypadki, możemy więc przypuszczać, że serologiczna diagnostyka bąblowicy w dużej części była przeprowadzona w Zakładzie Parazytologii Lekarskiej NIZP-PZH, gdzie wykryto 169 serologicznie potwierdzonych przypadków zarażenia.

Wprowadzenie do diagnostyki serologicznej testu o wysokiej swoistości spowodowało spadek liczby przypadków, dla których nie dokonano różnicowania gatunku tasiemca, co umożliwiło określenie częstości występowania poszczególnych gatunków *Echinococcus* w Polsce w ostatnich latach (2006–2010). Stwierdzono, że dominującym czynnikiem etiologicznym zachorowań na bąblowicę jest *E. granulosus* (80,3%), zarażenie *E. multilocularis* wykryto tylko u 14,9% zbadanych osób.

Z danych opublikowanych przez EFSA za rok 2009 wynika, że dla ponad połowy przypadków zarejestrowanych w krajach europejskich nie przeprowadzono oznaczenia gatunku *Echinococcus* (1). Brak różnicowania gatunkowego i, wskutek tego, zgłaszanie bąblowicy pod mało informatywnym określeniem „echinokoza”, może mieć negatywny wpływ na kontrolę bąblowicy wielojamowej (2). Dla przypadków, w których oznaczono gatunek bąblowca, dominującym czynnikiem etiologicznym był *E. granulosus* (76,8%) (1).

W obrębie gatunku *E. granulosus* wyróżnia się obecnie kilka genotypów, a największe znaczenie epidemiologiczne w Europie mają genotypy G1 (tzw. szczep owczy) oraz G7 (tzw. szczep świński) (3), których żywicielami ostatecznymi są, głównie, psy. Największej liczby zachorowań na bąblowicę jednojamową można spodziewać się na terenach intensywnej hodowli owiec i trzody chlewnej. W Polsce, która jest jednym z największych producentów wieprzowiny, często jeszcze prowadzi się przydomową hodowlę świń przy jednoczesnej obecności psów, odgrywających istotną rolę w transmisji *E. granulosus*. Prawdopodobnie z tych powodów większość zachorowań ludzi w Polsce spowodowana jest przez świński szczep G7 (4).

Zarażenia *E. multilocularis* u ludzi w Europie rejestrowane są znacząco rzadziej niż *E. granulosus*. Istotną rolę w transmisji *E. multilocularis* odgrywają lisy, które są żywicielami ostatecznymi tego tasiemca. Na podstawie wyników badań serologicznych przeprowadzonych w latach 2003–2010 w Polsce, nie stwierdzono wzrostu liczby przypadków alweokokozy u ludzi. Jednak w naszym kraju obserwuje się stały wzrost populacji lisów i stopnia ich zarażenia *E. multilocularis* (5, 6). Jak wynika z analizy danych epidemiologicznych ze Szwaj-

carii zanotowano tam znaczący wzrost przypadków alweokokozy u ludzi (7), który według autorów badania może być wynikiem zwiększającej się populacji lisów.

WNIOSKI

1. Liczba wykrywanych przypadków zarażeń *E. granulosus* i *E. multilocularis* u ludzi w Polsce latach 2003–2010 nie wykazywała tendencji wzrastającej.
2. Na potrzebę stałego monitoringu alweokokozy ludzi w Polsce mogą wskazywać doniesienia o stałym wzroście populacji lisów, w tym odsetka osobników zarażonych *E. multilocularis*.

PIŚMIENNICTWO

1. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. EFSA Journal 2011;9(3):2090. <http://www.efsa.europa.eu/efsajournal>
2. Pawłowski ZS. Terminology and practice in control of some parasitic zoonoses. Wiad Parazyt 2011; 57(2): 83–5.
3. Thompson RCA. The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. Exp Parasitol 2008; 119: 439–46.
4. Dybicz M, Cielecka D, Gierczak A, i in. Diagnostyka molekularna przypadków bąblowicy wątroby. Wiad Parazyt 2010; 56(3): 220.
5. Gawor J, Malczewski A, Stefaniak J, i in. Zagrożenie bąblowicą wielojamową (alweokokoza) dla ludzi w Polsce. Przegl Epidemiol 2004; 58 (3): 459-65.
6. Karamon J, Sroka J, Cencek T. Występowanie tasiemców *Echinococcus multilocularis* u lisów w zachodniej części Polski. Wiad Parazyt 2010; 56(3): 222.
7. Schweiger A, Ammann RW, Candinas D, i in. Human alveolar echinococcosis after fox population increase, Switzerland. Emerg Infect Dis. 2007;13(6):878–82.

Otrzymano: 31.05.2011 r.

Zakwalifikowano do druku: 13.06.2011 r.

Adres do korespondencji:

Dr hab. n. med. lek. wet. Elżbieta Gołąb
Zakład Parazytologii Lekarskiej
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego
– Państwowy Zakład Higieny
ul. Chocimska 24,
00-791 Warszawa
Tel. 0 22 5421220
e-mail: egolab@pzh.gov.pl