

Małgorzata Smoguła

**Prewalencja chorób wywoływanych przez pierwotniaki pasożytnicze
oraz wpływ wybranych czynników na ich przeżywalność i wykrywanie
na przykładzie *Giardia intestinalis* i *Toxoplasma gondii***

STRESZCZENIE

Giardia intestinalis należy do najczęściej spotykanych pierwotniaków pasożytniczych człowieka. Źródłem zarażenia tym pasożytem są głównie zanieczyszczona żywność oraz woda. Pasożyty, takie jak *G. intestinalis*, zaliczane są obecnie do jednych z ważniejszych zagrożeń bezpieczeństwa żywności, a zatem istotna jest ich skuteczna eliminacja, a także systematyczna i efektywna kontrola żywności. Ocena wrażliwości patogenów na czynniki fizyczne i chemiczne może być podstawą do opracowania skutecznych działań zwiększających bezpieczeństwo żywności i ograniczających występowanie zarażeń pasożytniczych wśród ludzi.

Toksoplazmoza jest chorobą wywoływaną przez pasożytniczego pierwotniaka *Toxoplasma gondii*. Przebieg toksoplazmozy jest zwykle łagodny lub bezobjawowy u osób immunokompetentnych, ale może mieć poważne konsekwencje, jeśli występuje u osób z niedoborem odporności. Wczesne rozpoznanie zarażenia *Toxoplasma gondii* jest bardzo ważne u wszystkich osób zakażonych HIV, gdyż pozwala zapobiegać ciężkim postaciom choroby, w tym powikłaniom toksoplazmozy ośrodkowego układu nerwowego.

Celem pracy było określenie prewalencji chorób wywoływanych przez pierwotniaki pasożytnicze oraz ocena wpływu wybranych czynników fizycznych, chemicznych oraz biologicznych na przeżywalność i wykrywanie pasożytów na przykładzie *Giardia intestinalis* i *Toxoplasma gondii*.

Analizę prewalencji *Giardia intestinalis* przeprowadzono z wykorzystaniem danych z badań parazytologicznych prowadzonych w latach 2000-2020 w Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Bydgoszczy. W przypadku oceny wpływu wybranych czynników biologicznych i chemicznych na przeżywalność i wykrywalność cyst pierwotniaków *Giardia intestinalis* z zastosowaniem metody mikroskopowej oraz immunoenzymatycznej, materiał do badań stanowiło 20 archiwizowanych próbek kału, w których potwierdzono obecność *Giardia intestinalis*. Z kolei ocenę wpływu wybranych czynników fizycznych

i chemicznych na wykrywalność *Giardia intestinalis* metodą mikroskopową oraz metodą real-time PCR wykonano z zastosowaniem pasożytów pochodzących z hodowli aksecyjnej.

Ocenę miana przeciwciał przeciwko *Toxoplasma gondii* w surowicy osób badanych w kierunku wirusa HIV, z powodu podejrzenia zakażenia tym wirusem, wśród mieszkańców województwa kujawsko-pomorskiego wykonano z wykorzystaniem 43 próbek krwi pobranych od osób zgłaszających się do Punktu Konsultacyjno-Diagnostycznego HIV w Bydgoszczy. Próbkę badano w kierunku obecności przeciwciał anty-HIV-1/HIV-2 i antygenu p24 oraz przeciwciał w klasie IgM i IgG przeciwko *Toxoplasma* z wykorzystaniem metody enzymoimmunofluorescencyjnej (ELFA).

Prewalencja *Giardia intestinalis* w latach 2000-2018 w populacji osób będących mieszkańcami województwa kujawsko-pomorskiego wynosiła 0,16% - 0,85%. W latach 2019-2020 nie odnotowano żadnego dodatniego wyniku na obecność tego pierwotniaka.

W przeprowadzonych badaniach dotyczących wpływu wybranych czynników biologicznych i chemicznych na przeżywalność i wykrywalność cyst pierwotniaków *Giardia intestinalis*, w teście ELISA wykrywającym antygen tego pasożyta, wynik pozytywny otrzymano w 20 próbkach po dodaniu *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Shigella sonnei* (ATCC 9290), *Yersinia enterocolitica* (ATCC 23715) oraz po dodaniu norowirusów do próbek kału. Analiza wyników w przypadku substancji dodawanych do żywności, wykazała, iż po dodaniu sorbinianu potasu wykryto antygen *Giardia intestinalis* w 90% próbek. W przypadku gumy guar oraz glutaminianu monosodowego we wszystkich próbkach odnotowano dodatni wynik testu immunoenzymatycznego. Z kolei dodanie kwasu cytrynowego pozwoliło na wykrycie antygenu pierwotniaka tylko w 25% próbek. *G. intestinalis* wykrywano metodą mikroskopową i immunoenzymatyczną z taką samą czułością.

Analizując wpływ wybranych czynników fizycznych i chemicznych na przeżywalność trofozycytów *Giardia intestinalis* zaobserwowano, że 5 substancji, tj.: maltodekstryna, cytrynian sodu E331, mleczan wapnia E327, glikol propylenowy i wodorowęglan sodu nie miało wpływu na wynik badania metodą mikroskopową. Z kolei oceniając wpływ tych samych czynników fizycznych i chemicznych na wykrywanie DNA *Giardia intestinalis* metodą real-time PCR stwierdzono, że wpływ na wynik badania miały jedynie 3 substancje. Dodanie podchlorynu sodu, formaliny i wodorowęglanu sodu spowodowało, że nie wykazano obecności DNA *Giardia*.

Badania seroprewalecji *Toxoplasma gondii* wykazały, że w badanej populacji stwierdzono występowanie przeciwciał IgG przeciwko *Toxoplasma* z częstością 53,5%, natomiast badanie w kierunku swoistych przeciwciał IgM było ujemne. Wysoki wskaźnik awidności przeciwciał IgG uzyskano w 18 próbkach seropozytywnych. 30 próbek pochodziło od kobiet, natomiast 13 od mężczyzn. Wśród mężczyzn wirus HIV został wykryty w 1 próbce, a przeciwciała przeciwko *T. gondii* w klasie IgG w 7 próbkach. U 16 kobiet stwierdzono obecność przeciwciał przeciwko *T. gondii* w klasie IgG.

W niniejszej pracy wykazano, że metoda mikroskopowa i immunoenzymatyczna mogą być w równej mierze stosowane w diagnostyce klinicznej do wykrywania obecności *Giardia intestinalis* w próbkach kału. Większość badanych czynników biologicznych i chemicznych wpłynęła na przeżywalność *Giardia intestinalis* w materiale biologicznym diagnozowanym metodą mikroskopową. Na tej podstawie można wnioskować, że standardowe metody dezynfekcji przy użyciu UV, etanolu lub różnych środków dezynfekujących są wystarczające do zmniejszenia przeżywalności *G. intestinalis*. Przyczyniać się do tego może również używanie konserwantów, takich jak kwas cytrynowy. Zmniejsza on wykrywalność *Giardia intestinalis* metodą mikroskopową i immunoenzymatyczną, co sugeruje, że zmniejsza przeżywalność pasożyta i po dodaniu do żywności może zwiększać jej bezpieczeństwo. Wybrane czynniki fizyczne i chemiczne zmniejszają przeżywalność *Giardia intestinalis* ocenianą za pomocą metody mikroskopowej, ale nie zmniejszają wykrywalności DNA pasożyta metodą real-time PCR, co potwierdza, że stosowanie molekularnych metod diagnostycznych, opartych na wykrywaniu materiału genetycznego, zwiększa czułość detekcji pasożytów.

U osób badanych w kierunku obecności wirusa HIV, z powodu podejrzenia zakażenia tym wirusem, wykryto przeciwciała przeciwko *Toxoplasma gondii* wyłącznie w klasie IgG, co świadczy o braku aktywnych zarażeń tym pasożytniczym pierwotniakiem w badanej grupie osób będących mieszkańcami województwa kujawsko-pomorskiego. Podobnie, jak w przypadku *G. intestinalis*, w diagnostyce *Toxoplasma gondii* konieczne może być stosowanie metod molekularnych ze względu na ich wysoką czułość. Wczesne wykrycie zarażenia *T. gondii*, zwłaszcza u osób immunoniekompetentnych, w tym zakażonych HIV, może zapobiegać rozwojowi ciężkiej postaci toksoplazmozy u tych chorych.

Słowa kluczowe: *Giardia intestinalis*, metody diagnostyczne, *Toxoplasma gondii*