

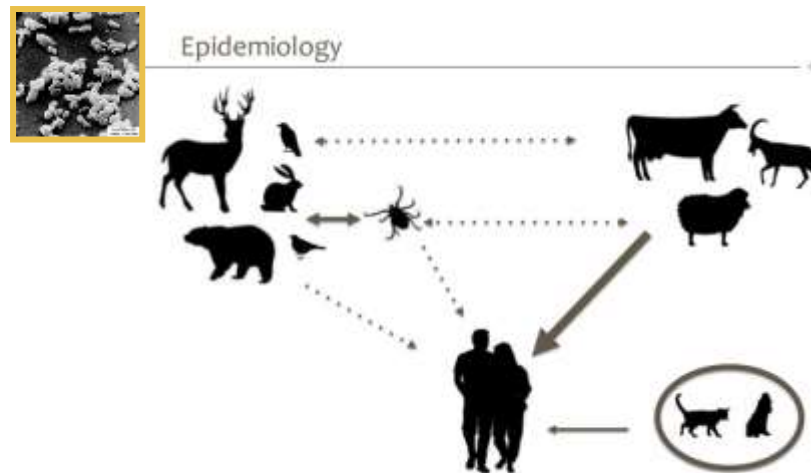


Сероепидемично и молекулярно-биологично проучване на разпространението на причинителя на Ку-треска в клинични проби на пациенти за периода 2018 – 2019 година

Петя Генова-Калу¹, Константин Симеонов², Радослав Маринов¹, Радостина Стефанова¹,
Ивона Андонова¹, Стефка Крумова¹

¹Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, Отдел „Вирусология“, Бул. “Ген. Столетов” 44А, 1233 София, България

²Централен Ветеринарен Институт, Лаборатория по Рикетсии и хламидии, Българска Агенция по Безопасност на Храните (БАБХ), Бул. “Пенчо Славейков” 15, София, България





Цел

Да се извърши сероепидемиологично и молекулярно-биологично проучване на разпространението на *Coxiella burnetii* в клинични проби на пациенти с различни клинични синдроми за две годишен период (2018 – 2019 г.) чрез комбинация/набор от съвременни лабораторни методи (имуноензимни и PCR техники).



Материали и методи



Клинични проби

В периода 2018 – 2019 г. са изследвани в НРЛ „Клетъчни култури, рикетсии и онкогенни вируси”, НЦЗПБ общо 616 клинични проби (серуми и пълна кръв) от амбулаторни и хоспитализирани пациенти, в различни клиники на страната.

Серологични методи

Индиректен имуноензимен анализ (ELISA) за диагностика на IgM/IgG Ph. II и IgG Ph. I антитела срещу *C. burnetii* в човешки серум (*ELISA C. burnetii Phase I/II IgG/IgM, Virion/Serion, Germany*)

Клинична диагноза	Брой изследвани лица	
	2018 г.	2019 г.
Пациенти с фебрилен синдром, с неясен етиологичен произход	132	114
Пациенти с атипична пневмония	72	95
Пациенти със сърдечно-съдови оплаквания	30	34
Пациенти с хепатит с неуточнена етиология	9	8
Пациенти с грипоподобни оплаквания	36	47
Пациенти с неврологични оплаквания	21	18

Молекулярно-биологични методи

- Екстракция на инфекциозна ДНК (QIAamp DNA Mini kit)

- Амплификация (конвенционален PCR, *AmpliTaq Gold PCR Master Mix Kits*) с консенсусни праймери за доказване на специфичен ДНК регион

- Детекция на PCR продуктите - електрофоретичен анализ в 2% агарозен гел

*Специфични праймери (CB1/CB2) за генетичната област *sodB*, кодираща ензима супероксид дисмутаза на *C. burnetii* (Stein A & Raoult D, 1992)

*Специфични праймери (QpH11/QpH12) за консервативен участък от ДНК на плазмида *QpH1* (Spyridakis *et al.*, 1998).





Резултати

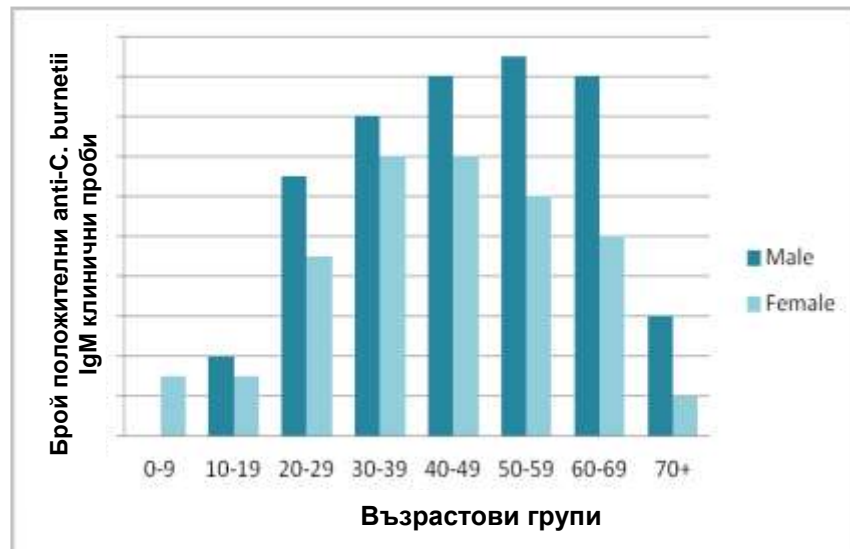
Обобщение на лабораторните и епидемиологични данни за заболяемостта от Ку-треска в България за периода 2018 – 2019 г. въз основа на различни диагностични показатели

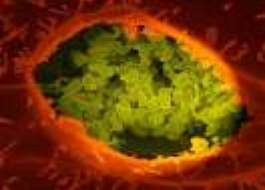
Година	Лабораторни данни				Епидемиологични данни			
	Брой тествани клинични проби	Брой anti- <i>C. burnetii</i> IgM Ph. II (+)/ %	<i>C. burnetii</i> (+) ДНК / %	Брой anti- <i>C. burnetii</i> IgG Ph. II (+)/ %	Брой нотифицирани случаи за България	Честота на заболяемостта/ 100 000 души	Потвърдени случаи в ЕС	Честота на заболяемостта/ 100 000 души
2018	373	38/10.2	36/94.7	51/13.7	30	0.42	28	0.39
2019	243	26/7.39	25/96.2	47/13.3	22	0.32	27	0.36

Средна годишна регионална честота на лабораторно потвърдените случаи на Ку-треска за периода 2018 – 2019 г. (n = 64)

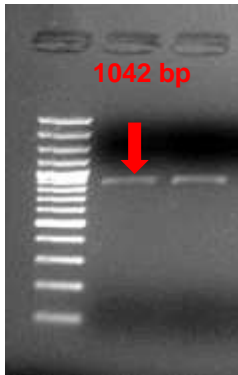


Разпределение на пациентите по възрастови групи и пол с доказано положителен *C. burnetii* IgM Ph. II лабораторен диагностичен маркер

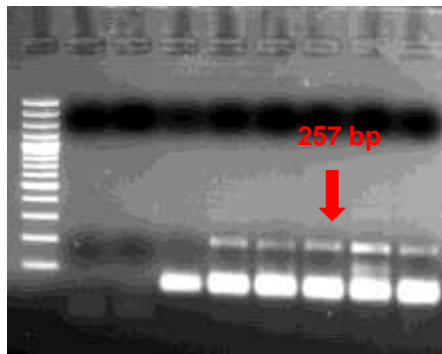




Резултати



Електрофоретичен анализ (2% агарозен гел) за вируализация на ДНК от плаزمида QpH1 на *C. burnetii* (1042 bp).



Електрофоретичен анализ (2% агарозен гел) за вируализация на *C. burnetii* PCR ампликони (257 bp).

Доказване на *C. burnetii* ДНК (*QpH1* плазмид и *sodB* регион) посредством конвенционален PCR в кръвни проби

Праимери	Секвенция (5' → 3')	Концентрация (pmol/μl)	Дължина а (бази)	Дължина на ампликона
*Специфични праимери за консервативен участък от ДНК на плаزمида QpH1 (Spyridakiis et al., 1998).				
<i>QpH11</i>	5' TGA CAA ATA GAA TTT CTT CAT TTT GAT 3'	100	27	1042 bp
<i>QpH12</i>	5' GCT TAT TTT CTT CCT CGA ATC TAT GAA T 3'	100	28	

Праимери	Секвенция (5' → 3')	Концентрация (pmol/μl)	Дължина а (бази)	Дължина на ампликона
*Специфични праимери за генетичната област <i>sodB</i> , кодираща ензима супероксид дисмутаза на <i>C. burnetii</i> (Stein A. and Raoult D., 1992)				
<i>CB1</i>	5' ACT CAA CGC ACT GGA ACG GC 3'	100	20	257 bp
<i>CB2</i>	5' TAG CTG AAG CCA ATT CGC C 3'	100	19	



✓ Анализът на данните показва, че България продължава да бъде ендемичен район за разпространението на *Coxiella burnetii*. За различните региони на страната серопозитивността варира значително в зависимост от климатичните условия, степента на развитие на животновъдството, природни резервоари и др. фактори.

✓ Първичният скрининг с прилагане на серологични методи за наличие на анти-*C. burnetii* IgM/IgG Ph. II антитела остават подходящи за лабораторна диагностика на остра Куинфекция.

✓ В резултат на натрупания опит в НРЛ „Клетъчни култури, рикетсии и онкогенни вируси” е разработена диагностична схема, включваща комплекс от методи за подобряване на ранната лабораторна диагностика на *C. burnetii*, позволяваща предприемането на навременно и адекватно лечение.