



**One  
health**

Eno  
zdravje

**Zbornik prispevkov**

**Univerza v Ljubljani  
Veterinarska fakulteta**

**Zbornik povzetkov**

Eno zdravje 2019

**Organizator**

Veterinarska fakulteta UL in Nacionalni inštitut za javno zdravje

**Uredniški in Organizacijski odbor**

Irena Zdovc, Eva Grilc

**Izdajatelj**

UL VF, Gerbičeva ul. 60, Ljubljana  
Ljubljana, november 2019

**Tisk**

Infokart d.o.o.

**Naklada**

150 izvodov

**CIP - Kataložni zapis o publikaciji**

Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

616.993(082)

ONE Health 2019 (konferenca) (2019 ; Ljubljana)

One Health 2019 = Eno zdravje [2019] : zbornik povzetkov / [organizator Veterinarska fakulteta UL in Nacionalni inštitut za javno zdravje ; uredniški odbor Irena Zdovc, Eva Grilc]. - Ljubljana : UL VF, 2019

ISBN 978-961-6199-95-7

1. Gl. stv. nasl. 2. Vzp. stv. nasl. 3. Zdovc, Irena

COBISS.SI-ID 302576640

# Kazalo

Baza podatkov o molekularnih tipizacijah kot pomembno orodje za raziskovanje izbruhov alimentarnih zoonoz	4
Bruceloza v Sloveniji, opis primerov 2019	8
Ektoparazitarne zoonoze	14
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	19
Hepatitis E v Sloveniji	23
Alzheimerjeva bolezen in kognitivna motnja psov – dva obraza iste bolezni?	31

# Baza podatkov o molekularnih tipizacijah kot pomembno orodje za raziskovanje izbruhov alimentarnih zoonoz

## Molecular typing database as an important tool for foodborne outbreaks investigation

**Mateja Pate<sup>1</sup>, Marija Trkov<sup>2</sup>, Irena Zdovc<sup>1</sup>, Jasna Mičunovič<sup>1</sup>, Majda Biasizzo<sup>1</sup>, Alenka Štorman<sup>2</sup>, Eva Grilc<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, <sup>2</sup>Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, <sup>3</sup>Nacionalni inštitut za javno zdravje

### Povzetek

Okužbe povezane s hrano in vodo tudi v modernem času niso redkost v evropskem prostoru. Za tri najpomembnejše bakterijske povzročitelje izbruhov alimentarnih okužb (*Salmonella*, *Escherichia coli*, ki proizvaja Šigove toksine in *Listeria monocytogenes*) je bila s sodelovanjem Evropske agencije za varnost hrane (EFSA) in Evropskega centra za preprečevanje in obvladovanje bolezni (ECDC) pred nekaj leti ustanovljena skupna podatkovna baza o izolatih omenjenih treh patogenov, analiziranih z metodama PFGE in/ali MLVA. Baza naj bi pripomogla k zgodnjemu odkrivanju in preiskovanju mednarodnih izbruhov alimentarnih zoonoz, raziskovanju virov okužb in razumevanju epidemiologije omenjenih bakterij. V zadnjem času postaja vse bolj razširjeno sekvenciranje celotnih genomov (WGS), ki ima v primerjavi z drugimi genotipizacijskimi metodami velik potencial ne le za epidemiološke raziskave izbruhov okužb s hrano in prepoznavanje porajajočih se nevarnosti za javno zdravje, temveč tudi za zanesljivo identifikacijo bakterijskih izolatov, ugotavljanje virulence in odpornosti proti protimikrobnim zdravilom. Zato so trenutna prizadevanja za vzpostavitev in poenotenje delotokov za sekvenciranje celotnih genomov salmonel, listerij in *E. coli* prvi korak k nadgradnji obstoječe baze. Vključitev WGS-podatkov bo analitikom tveganja omogočilo hiter odziv na sodobne izzive, ki jih zaradi globalizacije trga z živili predstavljajo mednarodni izbruhi.

### Abstract

Foodborne outbreaks are not a rarity in Europe. A few years ago, the European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) joined forces and established a joint molecular typing database containing the PFGE and/or MLVA data about the three most important causative agents of foodborne outbreaks, namely *Salmonella*, Shiga toxin producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. The database was created in order to facilitate early detection and investigation of multi-country foodborne outbreaks, to contribute to source attribution studies and to enhance better understanding of the epidemiology of foodborne pathogens. Whole genome sequencing (WGS) has developed rapidly in recent years and showed great potential not only to be used in epidemiological investigations of foodborne outbreaks and in identification of emerging health threats, but also in reliable identification of bacterial isolates, their virulence and antimicrobial resistance. Thus, the ongoing efforts to establish and harmonize the WGS pipelines for *Salmonella*, *E. coli* and *L. monocytogenes* represent the first step towards the upgrade of the existent joint database. The collection of WGS data will enable the risk managers to promptly respond to challenges linked to the globalization of food market and posed by multinational foodborne outbreaks.

### Uvod

V Evropski uniji (EU) poteka obvezno letno poročanje o izbruhih okužb, povezanih s hrano in vodo, že od leta 2003. Namen zbiranja in analize podatkov je pridobiti informacije o povzročiteljih in živilih, povezanih z izbruhi, ter o okoliščinah, dogodkih in morebitnih dejavnih tveganja, ki so privedli do kontaminacije živil in pojava izbruha. Leta 2017 je bilo v 27 državah članicah EU prijavljenih 5079 s

hrano in vodo povezanih izbruhov pri ljudeh, ki so prizadeli 43400 oseb; 4541 je bilo hospitaliziranih, 33 pa jih je umrlo (1).

Najpogostejše povzročiteljice izbruhov so bile bakterije iz rodu *Salmonella*, ki so imele tudi največji vpliv na zdravje ljudi, saj so bile odgovorne za 22,1% vseh izbruhov, 49,0% vseh hospitalizacij in 33,3% smrtnih primerov (1). Bakteriji *Escherichia coli*, ki proizvaja Šigove toksine (STEC), in *Listeria monocytogenes* sta bili vzrok za 37 oziroma 10 izbruhov v manjšem številu držav članic. Čeprav je število prijavljenih primerov listerioze pri ljudeh v EU sorazmerno majhno, gre za resno obolenje z najvišjim deležem smrtnih primerov med alimentarnimi zoonozami. V letu 2017 je bilo hospitaliziranih kar 99,8% vseh obolelih oseb. Število primerov invazivne listerioze narašča zlasti med starejšimi osebami (>64 let) vse od leta 2008, ko je bil vpeljan sistem nadzora v EU (1). Nasprotno so pri okužbah s STEC najpogosteje prizadeti otroci (<4 leta), pri katerih se pogosto pojavi zaplet v obliki hemolitičnega uremičnega sindroma (HUS); kar dve tretjini vseh bolnikov s HUS v letu 2017 so predstavljali otroci. Tudi delež hospitaliziranih oseb pri okužbah s STEC ni zanemarljiv, saj je predstavljal več kot tretjino bolnikov v letu 2017 (1).

Prav izbruh okužb s STEC O104:H4 leta 2011 je bil povod, da je Evropska komisija v sodelovanju z Evropsko agencijo za varnost hrane (EFSA), Evropskim centrom za preprečevanje in obvladovanje bolezni (ECDC) in Evropskimi referenčnimi laboratoriji (EURL) za bakterije *Salmonella*, *L. monocytogenes* in *E. coli* sprožila aktivnosti za oblikovanje skupne podatkovne baze za omenjene tri povzročitelje alimentarnih zoonoz. Z ustanovitvijo skupnega repozitorija, v katerem se zbirajo mikrobiološki podatki o izolatih iz ljudi in iz prehranske verige, je bil narejen korak naprej k zgodnjemu odkrivanju in preiskovanju mednarodnih izbruhov alimentarnih zoonoz, raziskovanju virusov okužb in razumevanju epidemiologije omenjenih patogenov.

## Oblikovanje molekularne podatkovne baze na področju veterinarske medicine

Na Veterinarski fakulteti (VF) segajo začetki oblikovanja baze podatkov v prva leta po prelomu tisočletja, ko smo v Laboratoriju za molekularno bakteriologijo začeli uporabljati BioNumerics, programsko orodje za analizo rezultatov molekularnih tipizacijskih metod. Sprva je baza podatkov služila raziskovalnim namenom; prvi podatki so se nanašali na raziskovanje molekularnih profilov izolatov mikobakterij, ki smo jih pridobili z zamudno in tehnično zahtevno metodo analize polimorfizmov dolžin restrikcijskih fragmentov (angl. restriction fragment length polymorphism, RFLP). Z uvedbo elektroforeze v pulzirajočem električnem polju (angl. pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) nekaj let pozneje smo začeli s preučevanjem genetskih značilnosti bakterij iz rodov *Salmonella*, *E. coli*, *Campylobacter*, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus* in *Clostridium*, in sicer v okviru raziskovalnih projektov ter magistrskih in doktorskih nalog. Tako smo oblikovali obsežno bazo podatkov o izolatih iz živali, živil, krme in okolja, ki jo izkoriščamo za primerjavo izolatov v preiskavah izbruhov alimentarnih zoonoz nacionalnega značaja. V zadnjih dveh letih smo po bazi večkrat brskali na poziv EURL za *L. monocytogenes* v okviru preiskovanja domnevnih izbruhov mednarodnih razsežnosti. Baza trenutno zajema podatke o več kot 1100 izolatih salmonel, več kot 500 izolatih *L. monocytogenes* ter več kot 70 izolatih *E. coli*. Vsi izolati so bili tipizirani z metodo PFGE, ki je do pred kratim veljala za zlati standard molekularne tipizacije povzročiteljev alimentarnih zoonoz, počasi pa v bazo dodajamo tudi podatke, pridobljene s sekvenciranjem celotnih genomov (angl. *whole genome sequencing*, WGS).

## Oblikovanje molekularne podatkovne baze na področju humane medicine

Oblikovanje baz podatkov za povzročitelje nalezljivih bolezni pri ljudeh se je začelo z uvedbo metode PFGE v podobnem časovnem obdobju kot na VF, vendar so bili sedanji laboratoriji Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano (NLZOH) takrat organizirani v okviru Inštituta za varovanje zdravja RS (IVZ) in Zavodov za zdravstveno varstvo (ZZV). Podatkovne baze, ki so obsegale tudi podatke drugih molekularnih tipizacij, so bile namenjene tako podpori epidemiologom pri obravnavi izbruhov kot raziskovanju genetskih značilnosti bakterij *Salmonella*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* in drugih povzročiteljev nalezljivih bolezni. Za zaznavanje in obravnavo mednarodnih izbruhov ter drugih nenavadnih dogodkov je v Evropi pristojen ECDC, ki pri svojem delu sodeluje z različnimi ustanovami v Evropi in svetu. Države članice EU preko pristojnih nacionalnih ustanov posredujejo v sistem TESSy (angl. *The European Surveillance System*) določene epidemiološke podatke o bolnikih in laboratorijske podatke o povzročiteljih bolezni. V Sloveniji so to Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ), NLZOH, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo (IMI) Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani ter medicinski laboratoriji nekaterih bolnišnic. Konec leta 2012 je ECDC ustanovil bazo TESSy MSS (angl.

*Molecular Surveillance Service*), ki je namenjena zbiranju podatkov molekularnih tipizacij salmonel, listerij, *E. coli* (zlasti STEC) in večkratno odpornih izolatov *Mycobacterium tuberculosis*. Eden od osnovnih pogojev uspešnega delovanja je bil dogovor o lastnostih izolatov, ki bodo spremljane in o naboru molekularnih metod za tipizacijo, standardizacija teh pa je omogočila primerljivost rezultatov med laboratoriji (2). V TESSy MSS za *E. coli*, salmonele in *L. monocytogenes* se je že ob nastanku baze vključil Oddelek za javnozdravstveno mikrobiologijo iz Ljubljane (OJM Ljubljana, NLZOH), saj je genotipizacija teh bakterij ena od naših pomembnih nalog. V sodelovanju z vsemi medicinskimi laboratoriji NLZOH in IMI tipiziramo izolate iz vse države, osamljene tudi v preteklih letih. Tako smo osnovali obsežno bazo podatkov predvsem izolatov iz ljudi, pa tudi nekaterih izolatov iz živil, ki so dragocena podlaga za njihovo spremljanje in nadaljnje primerjave ter obravnave. V začetku je bila PFGE široko sprejeta metoda tipizacije, tako za spremljanje teh povzročiteljev bolezni kakor tudi za obravnavo izbruhov. Pozneje se je za molekularno tipizacijo izolatov *S. Typhimurium* in *S. Enteritidis* začela uporabljati metoda MLVA (angl. *multiple locus variable-number of tandem repeats analysis*), ki omogoča boljše razlikovanje med izolati kot PFGE, v zadnjem času pa se v svetu vedno bolj uveljavlja metoda WGS (2). Danes obsega baza OJM Ljubljana podatke o: i) več kot 370 izolatih salmonel iz ljudi, tipiziranih z metodo PFGE, ii) več kot 520 izolatih *S. Typhimurium* in *S. Enteritidis*, tipiziranih z metodo MLVA, iii) več kot 80 izolatih salmonel, tipiziranih z WGS, iv) več kot 120 invazivnih izolatov *L. monocytogenes* iz ljudi, tipiziranih z WGS, po večini tudi s PFGE, v) okrog 300 izolatih STEC iz ljudi, tipiziranih z različnimi molekularnimi metodami, mnogo tudi s PFGE in nekateri z WGS. Ti podatki služijo spremljanju, obravnavi izbruhov in drugih nenavadnih dogodkov tako v Sloveniji kot tudi v Evropi in svetu.

## Sodelovanje veterinarske in medicinske stroke pri obravnavi izbruhov

Podatkovne baze seveda niso same sebi namen, temveč imajo pomembno vlogo pri zagotavljanju javnega zdravja. Skupna nacionalna baza podatkov o povzročiteljih alimentarnih zoonoz sicer uradno ni nikoli obstajala, vendar smo se strokovnjaki s področja veterinarske in humane mikrobiologije večkrat učinkovito povezali, ko je šlo za preiskave izbruhov okužb s hrano. Zahvaljujoč dobremu sodelovanju med laboratoriji smo v preteklosti samoiniciativno uskladili laboratorijske protokole za izvedbo metode PFGE, da so bili rezultati analiz primerljivi in smo tako lahko hitreje obravnavali dogodke. Sodelovali smo pri prvi molekularno-epidemiološki preiskavi izbruhov povzročenih s salmonelo serovara Enteritidis, ko smo obravnavali dva izbruha, povezana z zaužitjem kontaminiranih jajc (3).

Nekaj let pozneje smo združili moči pri raziskovanju izbruha okužb s *S. Enteritidis*, ko je v povezavi z uživanjem hrane v nekem gostinskem obratu zbolelo devet oseb. Skupaj smo opravili tudi primerjavo izolatov salmonel serovara Stanley iz jat in mesa puranov ter iz ljudi na nacionalni ravni, hkrati pa smo opravili tudi primerjavo izolatov iz puranov z izolatom iz dlje časa trajajočega mednarodnega izbruha. Obširna preiskava je pred nekaj leti potekala v primeru izbruha listerioze s smrtnim primerom v novomeški regiji, vendar z metodo PFGE nismo mogli potrditi epidemioloških povezav med izolati iz obolelih oseb in živil (4). Izbruh je neuradni epilog doživel šele nekaj let pozneje, ko smo značilnosti izolatov preučili z metodo WGS.

## Pogled v prihodnost

Sekvenciranje celotnih genomov ima v primerjavi z drugimi genotipizacijskimi metodami velik potencial ne le za epidemiološke raziskave izbruhov okužb s hrano in prepoznavanje porajajočih se nevarnosti za javno zdravje, temveč tudi za zanesljivo identifikacijo bakterijskih izolatov, ugotavljanje virulence, odpornosti proti protimikrobnim zdravilom in drugih relevantnih genov v kompleksnih vzorcih. Trenutno se v skupni bazi ECDC-EFSA zbirajo podatki o izolatih bakterij *Salmonella*, *L. monocytogenes* in STEC, tipiziranih z metodo PFGE ter MLVA-podatki o salmonelah serovarov Typhimurium in Enteritidis. Pomen analize WGS pri preiskovanju nedavnih mednarodnih izbruhov okužb s hrano in pri programih spremljanja oz. nadzora narašča, hkrati pa se izboljšujeta tudi opremljenost in sposobnost laboratorijev za izvajanje metode WGS. Zato je vključitev WGS-podatkov o povzročiteljih alimentarnih zoonoz v skupno bazo ECDC-EFSA naslednji korak za izboljšanje pripravljenosti na izredne dogodke na področju okužb s hrano. Zbiranje teh podatkov bo analitikom tveganja omogočilo hiter odziv na izzive kot so mednarodni izbruhi, ki so lahko posledica naključnih slabih praks v proizvodnji hrane ali pa morebitnih načrtnih bioterorističnih dejanj, ki lahko spodkopljejo visoko stopnjo zaščite potrošnika na evropskem trgu in zamajejo zaupanje v varnost celotnega sistema zagotavljanja javnega zdravja (5). Glavni izziv pri vpeljavi metode WGS kot metode izbora za zbiranje in analizo podatkov v skupni bazi na evropski ravni je priprava delotokov za sekvenciranje

celotnih genomov posameznih alimentarnih patogenov ter njihovo poenotenje med laboratoriji. Ob tehničnih vprašanjih pa ne gre pozabiti na pomembnost spremljajočih epidemioloških podatkov o izolatih, brez katerih je še tako napredna tipizacija brez pomena, saj brez zanesljivih podatkov o vrsti parametrov ni mogoče oblikovati nikakršnih verodostojnih zaključkov.

## Reference

1. EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal* 2018;16(12):5500, 262 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5500>.
2. Trkov M, Müller-Premru M, Pirš M, Berce I, Štorman A, Ravnik M, Paragi M, Grilc E, Žohar Čretnik T. Spremljanje salmonel, listerij in *E. coli*, ki povzročajo črevesne okužbe, z molekularnimi metodami = Molecular surveillance of salmonela, listeria and diarrheagenic *E. coli*. V: Petrovec M (ur.). *Mikrobiologija v javnem zdravstvu: [zbornik predavanj z recenzijo]*. Ljubljana: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD. 2018;161-170.
3. Pate M, Mićunović J, Bole-Hribovšek V, Biasizzo M, Bajt M, Krt Lah A, Ravnik M, Košir M, Harlander T, Žohar Čretnik T. Investigation of two *Salmonella* serovar Enteritidis outbreaks using the pulsed-field gel electrophoresis: a good example of collaboration at the national level. *Slov Vet Res* 2011; 48 (3/4): 99-105.
4. Košir M, Trkov M, Zdovc I. Epidemiološka in mikrobiološka preiskava listerijskih okužb v zdravstveni regiji Novo mesto v letu 2013. *eNBOZ*, julij-avgust 2014, 7-15.
5. EFSA and ECDC technical report on the collection and analysis of whole genome sequencing data from food-borne pathogens and other relevant microorganisms isolated from human, animal, food, feed and food/feed environmental samples in the joint ECDC-EFSA molecular typing database. EFSA supporting publication 2019:EN-1337. 92 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2019.EN-1337.

# Bruceloza v Sloveniji, opis primerov 2019

## Brucellosis in Slovenia, case reports 2019

**B. Krt<sup>1</sup>, A. Trop Skaza<sup>2</sup>, J. Avberšek<sup>1</sup>, M. Korva<sup>3</sup>, O. Kosar<sup>1</sup>, T. Avšič<sup>3</sup>, B. Zdolšek<sup>4</sup>, J. Svetičič Marinko<sup>2</sup>, Z. Simonovič<sup>2</sup>, M. Simoniti<sup>5</sup>, E. Grilc<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, <sup>2</sup>Nacionalni inštitut za javno zdravje  
<sup>3</sup>Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, <sup>4</sup>Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, <sup>5</sup>Splošna bolnica Celje

### Povzetek

Bruceloza je ena najpogostejših zoonoz na svetu. Globalno breme bolezni je težko oceniti zaradi različnih sistemov spremljanja bolezni po državah. Ocenjuje se, da je globalno breme bolezni pri ljudeh večje od 10/100.000 prebivalcev. V Sloveniji je redko prijavljena. V zadnjih letih beležimo do tri primere importirane okužbe letno. V letu 2019 smo do sredine oktobra zabeležili pet primerov. V prispevku predstavljamo tri primere, način okužbe in problem izpostavljenosti zdravstvenih delavcev na delovnem mestu.

### Abstract

Brucellosis is one of the most frequent zoonoses in the world. However, the real global incidence is not well-known due to the variation in surveillance systems used among different countries. It is believed to exceed 10/100.000 cases. In Slovenia it is a rare zoonosis. In last years up to three cases were notified yearly. In 2019 we notified five cases until mid-October. In the paper we present three cases, the mode of transmission of disease and problem of laboratory, surgical and clinical exposures.

### Uvod

Bruceloza je ena najpogostejših zoonoz v svetu. Povzročajo jo po Gramu negativni kokobacili. Ocenjuje se, da je globalno breme bolezni pri ljudeh večje od 10/100.000 prebivalcev (1). Evropski center za nalezljive bolezni, ECDC, v letu 2018 poroča o 361 prijavljenih primerih okužb in incidenci 0,08/100.000 prebivalcev v državah EU. Najvišja je bila incidenca na Portugalskem (0,18/100.000), v Italiji (0,16/100.000), na Švedskem (0,11/100.000; vendar so bili vsi primeri vnešeni) in v Grčiji (0,90/100.000). Od leta 2013 do 2018 je bila po ocenah ECDC incidenca bruceloze v državah EU stabilna.

V Sloveniji je redko prijavljena zoonoza. Incidenca prijavljenih primerov bolezni v Sloveniji je leta 2018 znašala 0,15/100.000 prebivalcev (2). Nizka incidenca bolezni pri nas je posledica izkoreninjenja bolezni pri drobnici in govedu. V Sloveniji je Stalni odbor za prehransko verigo in zdravje živali pri Evropski komisiji leta 2005 izglasoval odločbo, s katero je bil Sloveniji podeljen status države, ki je uradno prosta bruceloze ovac in koz, leta 2007 pa tudi bruceloze goveda.

**Tabela 1: Prijave bruceloze pri ljudeh v Sloveniji v obdobju 2007-2018**

LETO	ŠTEVILO PRIJAV	NAČIN OKUŽBE
2007	1	
2008	2	
2009	2	Okužba v Bosni. Za drugi primer način okužbe ni znan.
2010	0	
2011	1	Stik z ovcami v Bosni.
2012	0	
2013	0	



2014	0	
2015	0	
2016	0	
2017	1	Stik z ovcami v Bosni.
2018	3	Stik z ovcami v Bosni. Okužba v Moldaviji (sir). Za tretji primer način okužbe ni znan.
2019	5* (do sredine oktobra)	Stik z ovcami. Uživanje sira. Neznan vir oz. epidemiološka preiskava še poteka.

## Bruceloza pri živalih

Bruceloza je kužna bolezen živali in ljudi, ki jo povzročajo bakterije iz rodu *Brucella*. Je ena najbolj pogostih zoonoz, za katero vsako leto na novo zboli približno pol milijona ljudi. Pri domačih živalih je razširjena predvsem v Sredozemlju, Bližnjem in Srednjem Vzhodu, Aziji, Afriki in južni Ameriki, sporadično pa se pojavlja tudi v nekaterih zahodnoevropskih državah in drugje po svetu.

**Tabela 2: Število izbruhov bruceloze pri rejnih živalih v letu 2018 (3)**

	A	ITA	H	HR	BiH	SRB	ČG	SM	ALB	GR	ŠP	TUR	EGP	TUN	MAR
<i>B. abortus</i>	0	333	0	0	95	2	0	13	13	?	+	2078	?	≥ 5	≥ 4
<i>B. melitensis</i>	2	232	0	1	189	0	0	39	+	≥ 67	5	179	85	≥ 16	≥ 1
<i>B. suis</i>	0	0	1	7	0	34	0	0	0	0	0	?	?	0	?

Legenda: + = bolezen je prisotna, vendar ni podatkov o številu izbruhov; ? = ni podatkov o številu izbruhov

A=Avstrija; ITA=Italija; H=Madžarska; HR=Hrvaška; BiH=Bosna in Hercegovina; SRB=Srbija; ČG=Črna Gora; SM=Severna Makedonija; ALB=Albanija; GR=Grčija; ŠP=Španija; TUR=Turčija; EGP=Egipt; TUN=Tunizija; MAR=Maroko

Slovenija je izkoreninila brucelozo (okužbe z *B. melitensis*, *B. abortus* in *B. suis*) pri farmskih živalih že v 50-ih in 60-ih letih prejšnjega stoletja. *B. suis* se občasno pojavlja pri zajcih, bolj pogosto pa pri divjih prašičih. Vendar pa gre pri omenjenih primerih za biovar 2, ki praviloma ni patogen za človeka. *B. canis* v Sloveniji še ni bila dokazana. Nepoznano je stanje glede morebitne prisotnosti brucel pri morskih sesalcih (*B. ceti*, *B. pinnipedialis*), prav tako tudi ne glede drugih atipičnih brucel, za katere se ne ve, ali so nevarne tudi človeku (ponekod v svetu so jih izolirali pri žabah).

Pri domačih živalih se bruceloza najbolj pogosto kaže z abortusi, orhitis in epididimitisi, pri prašičih pa tudi z artritis. Brucele se pogosto izločajo tudi z mlekom. Prenašajo se z neposrednim stikom z okuženo živaljo ali njenimi izločki. Za bolezen so dovzetne številne živalske vrste. V rejah goveda, ovc, koz in prašičev povzroča znatno ekonomsko škodo. Posredna škoda je še veliko večja, ker je bruceloza nevarna zoonoza in so zato ukrepi za zatiranje bolezni zelo strogi. Ljudje se okužujejo predvsem s toplotno neobdelanim mlekom in mlečnimi izdelki, pa tudi z neposrednim stikom z živalmi, zlasti ob abortusih, ki so najbolj značilen znak bolezni. Bruceloza spada tudi med najpogostejše laboratorijske okužbe. Za človeka so patogene *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* in *B. canis*, v zadnjem času pa med zoonotične prištevajo tudi *B. ceti* in *B. pinnipedialis*. *B. abortus* povzroča brucelozo predvsem pri govedu (goveja bruceloza). Bolezni (avtohtonih primerov) v Sloveniji ni; nazadnje je bila ugotovljena leta 1961. Značilni za bolezen so abortusi, ki se pojavljajo v drugi polovici brejosti. Najbolj so dovzetne spolno zrele živali. Do infekcije pride z okuženo krmo ali ob pripustu. Ob abortusu, pa tudi ob normalnem porodu bolnih živali, se sprosti veliko klic, ki so predvsem v plodovih vodah, placenti in v plodu samem. Brucele se pogosto izločajo z mlekom, tudi če v samem vimenu ni patoloških sprememb. *B. melitensis* povzroča brucelozo predvsem pri ovcah in kozah (melitokokoz). Pojavljajo se abortusi, drugih simptomov pa ni. *B. melitensis* je med vsemi brucelami najbolj nevarna človeku. Vir okužbe je najpogosteje mleko in mlečni izdelki. Bolezni v Sloveniji ni od leta 1951. *B. suis* je patogena predvsem za prašiče. Povzroča abortuse, pri merjascih pa vnetje mod in obmodkov in večkrat tudi artritis. V Sloveniji je bil zadnji primer zabeležen leta 1954. Pri divjih živalih (predvsem divjih prašičih, občasno pa tudi pri zajcih) pa se pojavlja biovar 2, ki pa za razliko od ostalih biovarov *B. suis*, praviloma ni patogen za človeka. *B. canis* povzroča abortuse in epididimitise pri psih, pa tudi druge simptome, kot so diskospondilitis, uveitis in glomerulonefritis. V Sloveniji bruceloza pri psih še ni bila

ugotovljena. Zaradi relativne odpornosti je okužba z *B. canis* v primerjavi z ostalimi brucelami (*B. melitensis*, *B. abortus* in *B. suis*) pri človeku zelo redka in blaga.

Pri laboratorijski diagnostiki oz. spremljanju bruceloze pri živalih se v največji meri uporabljajo serološke metode (predvsem hitra aglutinacija, RVK in ELISA). Za definitivno diagnozo bolezni pa je potreben dokaz povzročitelja. V ta namen se v zadnjem času veliko uporablja molekularna diagnostika, poleg nje pa še vedno tudi bakteriološka preiskava, ki poleg determinacije vrste omogoča tudi določanje biovara. Vendar pa je klasična bakteriološka preiskava precej težavna (večkrat tudi neuspešna), kompleksna in dolgotrajna.

Pri farmskih živalih se bruceloza ne zdravi, ampak se živali izločijo. Pri psih je zdravljenje kljub intenzivni in relativno dolgi (vsaj 4 tedne) antibiotični terapiji pogosto neuspešno, še posebej, če bolezen diagnosticiramo pozno, v kronični fazi. V vsakem primeru je okužene živali obvezno kastrirati oziroma sterilizirati. Tudi lokalizirana okužba očesa pogosto zahteva kirurško odstranitev prizadetega organa.

Za zaščito prežvekovalcev so na voljo cepiva. Cepljenje se praviloma izvaja le v državah, kjer je bolezen endemsko prisotna, saj je to pogosto edini način za njeno zatiranje.

Za preprečevanje bruceloze pri živalih in posledično pri ljudeh je odločilnega pomena učinkovit veterinarski nadzor. Ta pa običajno šepa v manj razvitih državah, zato je tam bruceloza bolj razširjena.

Bruceloze pri živalih, ki bi ogrožala tudi ljudi, v Sloveniji torej že dolgo časa ni več. Seveda pa se situacija lahko zelo hitro spremeni, saj trgovanje z živalmi kljub strogi regulativi predstavlja grožnjo za vnos bolezni. Ukrepi za preprečevanje vnosa bolezni z uvozom živali temeljijo predvsem na kontroli zdravstvenih certifikatov, ki spremljajo živali. Uvoznih karanten, kakršne so bile pred vstopom Slovenije v EU, pa praktično ni več, razen pri uvozu živali iz tretjih držav. To pa lahko predstavlja določeno tveganje za (ponovni) vnos bolezni v državo. Grožnjo za zdravje ljudi lahko predstavljajo tudi (nelegalno) uvoženi mlečni izdelki. Jansen in sodelavci (4) npr. poročajo, da so pri vzorcih sira, odvzetih na tedenskih tržnicah, v supermarketih in pri uličnih prodajalcih v Berlinu, z metodo PCR v realnem času našli več kot 20 % pozitivnih na brucele, vendar pa jim brucel ni uspelo izolirati. Potencialno nevarnost za okužbo domačih živali lahko predstavljajo divje živali, kjer pa je stanje glede bruceloze precej manj poznano. Največ poročil o tem se nanaša na primere prenosa *B. suis* z divjih na domače prašiče, izjemoma pa tudi na druge živali (npr. na govedo). Vendar pa se glede na do sedaj opravljene preiskave divjih prašičev na brucelozo pri nas pojavlja samo *B. suis* biovar 2.

## Bruceloza pri ljudeh

Klinično se bruceloza kaže kot sistemska vročinska bolezen z nenadnim, akutnim začetkom, možen pa je tudi počasnejši začetek z manj značilno klinično sliko, ki lahko predstavlja pomemben diagnostični izziv. Za bolezen je značilna vročina, ki lahko nastane postopoma in je navadno visoka in ondulirajoča (majhna dnevna nihanja telesne temperature), lahko pa je nižja in remitentna (obdobja z in brez vročine). Vročino lahko spremlja mrzlica, predvsem pri akutno potekajoči bolezni. Ostali bolezenski simptomi so navadno neznačilni: izrazito potenje, hujšanje, bolečine v sklepih in križu, glavobol, omotice, neješčnost, bolečine v trebuhu, bruhanje, kašelj in motnje razpoloženja, npr. depresije. Pri telesnem pregledu lahko najdemo povečana jetra in vranico, možne so tudi povečane bezgavke, navadno pa je telesni pregled neznačilen.

Bolezen lahko prizadene tudi specifične organe ali organske sisteme. V tem primeru poleg sistemskih znakov okužbe najdemo tudi simptome in znake prizadetosti določenega organa ali organskega sistema. Najpogostejša fokalna oblika bolezni je okužba kosti in/ali sklepov, najpogosteje v smislu sakroileitisa ali spondilitisa. Bolezen lahko prizadene spolovila in sečila, centralni in periferni živčni sistem (npr. meningitis, encefalitis, lahko absces), srce in ožilje (najpogosteje endokarditis, ki je tudi najpogostejši vzrok smrti pri brucelozi), pljuča, trebušne organe, oči in kožo.

Bolezen lahko poteka tudi kronično – o njej govorimo, ko so bolezenski znaki (sistemski in/ali fokalni) prisotni več kot eno leto in ko so prisotni objektivni dokazi okužbe (visoki titri protiteles ali izolacija brucele iz krvi ali tkiv). Bolezen se lahko tudi ponovi kljub ustreznemu zdravljenju, najpogosteje znotraj šestih mesecev, lahko pa tudi kasneje.

Laboratorijski izvidi krvi so pri brucelozi neznačilni. Navadno najdemo povišane transaminaze, levkopenijo ali levkocitozo z relativno limfocitozo, anemijo in trombocitopenijo, pospešena je sedimentacija. V primeru okužbe specifičnega organskega sistema lahko najdemo tam laboratorijske znake okužbe – piurija, pleocitoza v likvorju, povišani limfociti v sinovijski tekočini.

Za zdravljenje akutne bruceloze brez fokalne okužbe v smislu spondilitisa, nevrobruceloze ali endokarditisa, uporabljamo kombinacijo antibiotikov. Najpogostejša je kombinacija doksiciklina z gentamicinom, namesto gentamicina se lahko uporabi tudi streptomycin. Kombinacija doksiciklina z rifampicinom je možna, vendar slabše učinkovita. Otroke, stare nad 8 let, zdravimo na enak način, mlajše pa navadno s kombinacijo trimetoprim-sulfametoksazola in rifampicina. Pri nosečnicah je stanje bolj zapleteno in optimalen režim zdravljenja ni jasen – pred 36-tim tednom nosečnosti uporabljamo kombinacijo rifampicina in trimetoprim-sulfametoksazola, po 36-tem tednu pa rifampicin do poroda. Po porodu bolezen zdravimo enako kot pri ostalih odraslih. Zdravljenje akutne bruceloze s peroralnimi zdravili traja 6 tednov, gentamicin uporabljamo prvih 7-10 dni, streptomycin pa prvih 14-21 dni. Alternativne možnosti zdravljenja so s fluorokinoloni in trimetoprim-sulfametoksazolom.

Zdravljenje fokalnih okužb (spondilitis, nevrobruceloza, endokarditis) je dolgotrajno, vsaj 12 tednov, velikokrat pa tudi dlje, od 4 do 6 mesecev. Uporabljajo se kombinacije antibiotikov – aminoglikozid, doksiciklin in rifampicin, pri nosečnicah ceftriakson in trimetoprim-sulfametoksazol namesto aminoglikozidov in doksiciklina. Optimalni pristop k zdravljenju je negotov zaradi pomanjkanja dobrih, prospektivnih študij.

Osebe, ki so bile izpostavljene okužbi, prejmejo kemoprofilakso. Antibiotika izbora za kemoprofilakso v skladu z navodili CDC (Center for Disease Control) sta doksiciklin in rifampicin. Kemoprofilaksa traja 21 dni. Serološko sledenje traja 24 tednov. Izvaja se ga na šest tednov – 0, 6, 12, 18 in 24 tednov po zadnji izpostavitvi okužbi.

Zaradi nespecifičnih kliničnih znakov in laboratorijskih krvnih izvidov lahko diagnozo bruceloze potrdimo samo z ustreznim mikrobiološkim dokazom. Brucele lahko neposredno dokažemo v krvi bolnika (hemokultura) ali z izolacijo iz prizadetih tkiv (punktati kostnega mozga, bezgavk, sinovialne ali plevralne tekočine, tkivnih biopsij, itd.) (5). Brucele so znotrajcelične bakterije, ki počasi rastejo na kompleksno sestavljenih in obogatenih gojiščih. Prav zato moramo ob sumu na brucelozo čas kultivacije podaljšati tudi za 2 tedna (6). Brucele je eden izmed najpogostejših povzročiteljev laboratorijskih okužb, zato moramo z izoliranimi kulturami brucel ravnati previdno in delo izvajati v laboratoriju 3. stopnje biološke varnosti. Poleg kultivacije lahko z metodo PCR v realnem času dokažemo tudi genetski material bakterije neposredno v kliničnih vzorcih, vendar je lahko zaradi nizke količine bakterij tovrstno dokazovanje premalo občutljivo (5). Pri kroničnih oblikah bruceloze pogosto ni mogoče dobiti primernih kužnin za neposredni dokaz povzročitelja, takrat za potrditev diagnoze uporabimo metode za dokazovanje specifičnih protiteles. Koncentracije specifičnih protiteles IgM, IgG in IgA se v serumu povečujejo prve tri tedne akutne bolezni, vrh pa dosežejo po približno 3 mesecih. Za serološki dokaz bruceloze potrebujemo parne vzorce serumov, v katerih ugotavljamo štirikratni porast titra protiteles. Za dokazovanje protiteles uporabljamo encimsko-immunske metode (ELISA), imunofluorescenčne teste (IFA) ali aglutinacijski test. Aglutinacijski testi še vedno veljajo za zlati standard in so primerni predvsem za diagnostiko enostavnih, akutnih oblik bruceloze v okoljih z visoko pojavnostjo bolezni. Pri kronični brucelozi so bolj uporabne metode ELISA ali IFA, ki so bolj specifične in redkeje zaznamo lažno pozitivne rezultate (6).

## **Primer bruceloze v Ljubljani in izpostavljenost v zdravstveni službi ter v domačem okolju**

66-letna bolnica, doma iz Bosne in z začasnim bivališčem v Ljubljani, je bila 1. 4. 2019 na kliniki v Ljubljani operirana na hrbtnici. Pooperativna rana se dalj časa ni zacelila, prisoten je bil obilen izcedek. Rano so zato operativno revidirali in odvzeli kužnine. V tkivu rane je bila potrjena *Brucella melitensis*. Bolnica je prejela terapijo pri infektologu, ki je o primeru 21. 5. 2019 obvestil epidemiološko službo NIJZ OE Ljubljana.

Z epidemiološkim poizvedovanjem je bilo ugotovljeno, da je bolnica imela podobne težave s sklepi že leta 2017. V juliju leta 2017 je bila prav tako operirana na kliniki v Ljubljani. Tudi takrat se je rana slabo celila, prisoten je bil obilen izcedek. V letu 2017 je bila v Bosni v stiku z drobnico. Obe operaciji, julija 2017 in aprila 2019, je izvedel isti kirurg.

Kirurg, ki jo je operiral, je zbolel septembra 2017, imel je povišano telesno temperaturo, mrzlico, otekanje in bolečine v sklepih. Aprila 2018, ko je imel ponovni zagon bolezni, so v vzorcu krvi, ki mu je bila odvzeta septembra 2017, potrdili protitelesa IgM na brucelo. Ker je kirurg v avgustu 2017 potoval po Moldaviji in tam užival sveže sire v ruralnem okolju, je bil aprila 2018, ko je bila diagnosticirana bruceloza, postavljen sum na okužbo z brucelo v Moldaviji.

Vendar pa na podlagi navedenih podatkov, zbranih maja 2019, obstaja verjetnost, da sta primera epidemiološko povezana.

Identificiranih je bilo 36 kontaktov: 20 zdravstvenih delavcev, ki so bili potencialno izpostavljeni bruceli v pripravi na operacijo (anestezija), v postopku operacije (kirurgi, inštrumentarji) in po operaciji (nega, čiščenje), 8 laboratorijskih delavcev in 8 kontaktov v domačem okolju, ki so bili v stiku z izcedkom iz rane (patronažna sestra in 7 družinskih članov). 21 oseb je bilo opredeljenih kot visoko tvegani kontakti in so prejeli tritedensko kemoprofilakso in serološko sledenje, ki se bo zaključilo konec novembra 2019.

### **Primer bruceloze v Celju, povezan z uživanjem kontaminiranega živila**

Bolnik, star 23 let, je bil 13. maja 2019 napoten na ambulantni specialistični pregled k infektologu zaradi splošne oslabelosti, driske, bruhanja in povišane telesne temperature. V sklopu klinične obravnave so mu odvzeli kri za hemokulturo ter indicirali zdravljenje s širokospektralnim antibiotikom.

V mikrobiološkem laboratoriju Nacionalnega laboratoriju za zdravje, okolje in hrano v Celju (NLZOH), so kot povzročitelja bolnikovih težav slab teden dni kasneje identificirali bakterijo *Brucella melitensis* (aerobna hemokultura). O ugotovitvi so takoj obvestili epidemiologinjo; po prejemu izvidov je bil bolnik za kratek čas hospitaliziran.

Ob epidemiološki raziskavi se je izkazalo, da bolnik živi v skupnem gospodinjstvu s starši in štirimi sorojenci; ves čas inkubacije so bili doma, oktobra 2018 sta bila oče in bolnik v Severni Makedoniji.

V sklopu možne identifikacije, glede na negativno potovalno anamnezo v smislu importirane bruceloze, smo kot možen vir okužbe identificirali ovčji sir v slanici, ki jim ga je »ilegalno« tri mesece prej iz Severne Makedonije pripeljal prijatelj. Sir naj bi jedli vsi. Kljub večkratnemu trudu glede identifikacije proizvajalca, podatkov o izvoru živila nismo dobili; uspelo nam je izvedeti le, da gre za kraj Toplice v zahodnem delu države. Nihče od preostalih članov družine ni navajal nobenih težav v smislu bruceloze, edino oče je tožil zaradi bolečin v predelu križa.

Družina se je strinjala, da ostanek živila pošljemo na mikrobiološko analizo. Vzorec je bil odvzet 22. maja in transportiran v Nacionalni referenčni laboratorij za brucelozo na Nacionalnem veterinarskem inštitutu Veterinarske fakultete. Paralelno s tem smo identificirali in s kemoprofilakso v skladu s smernicami (5) zaščitili izpostavljene okužbi (21 laboratorijskih delavcev NLZOH ter šest družinskih članov). Pred 21-dnevno kemoprofilakso smo pričeli s serološkim sledenjem izpostavljenih (Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo MF Ljubljana), ki se bo končalo v decembru ob stalnem monitoringu spremljanja zdravstvenega stanja.

Iz ovčjega sira je bila izolirana brucela in z metodo PCR potrjena *Brucella melitensis*. Z metodo PCR v realnem času je bila dokazana DNA brucele tudi direktno v siru. V NLZOH so nato s tipizacijo izolatov bakterije z metodo sekvenciranja celotnih genomov in analizo podatkov 18. junija ugotovili, da sta testirana izolata genetsko ozko sorodna (pripadata istemu sevu).

S tem smo potrdili epidemiološko povezavo z najverjetnejšim virom okužbe. Do sedaj so serološke preiskave izpostavljenih na markerje okužbe negativne, monitoring zdravstvenega stanja je brez posebnosti, bolnik je popolnoma okreval.

### **Primer bruceloze v Mariboru in izpostavljenost zdravstvenih delavcev**

Dne 2. 7. 2019 je bil NIJZ OE Maribor s strani mikrobiologov obveščen o potrjeni bruceli *Brucella melitensis* v punktu kolena bolnika, sicer državljan Bosne in Hercegovine, z začasnim prebivališčem v Mariboru. Na domačiji v Bosni redi krave in ovce. Za močnimi bolečinami v kolčnih sklepkih je zbolel v mesecu maju 2018, ko je bila tudi postavljena diagnoza sklepni artritis. Težave so postale kronične in so zajele tudi druge velike sklepe. V mesecu juniju 2019 so mu v UKC Maribor opravili tudi punkcijo kolena. Ob natančnem poizvedovanju je bilo ugotovljeno, da je pri procesu punkcije lahko prišlo do nastanka kužnega aerosola pri brizganju sklepne tekočine iz aspiracijske brizge v ledvičko. V tem procesu zdravstveno osebje ni uporabljalo zaščitne opreme. Identificirali smo 6 kontaktov in opredelili 4 kot kontakte z visokim tveganjem za okužbo, enega z nizkim tveganjem ter enega z zelo nizkim tveganjem za okužbo. Pri vseh smo pričeli s 6-mesečnim serološkim sledenjem, štirim je bila predlagana kemoprofilaksa. V mikrobiološkem laboratoriju smo identificirali dodatnih 59 oseb, ki bi lahko prišle v stik z aerosolom kužnine, od tega smo 4 osebe opredelili kot kontakte z visokim tveganjem za okužbo. Pri teh je bila predpisana kemoprofilaksa, serološko sledenje pa je bilo vzpostavljeno pri 18 kontaktih.

## Zaključek

Priporočila za preprečevanje bruceloze ob poklicni izpostavljenosti v zdravstvu so osredotočena predvsem na laboratorijske delavce, čeprav so opisani tudi primeri okužbe zdravstvenih delavcev ob stiku z bolnikom (med operacijo kolka, med porodom, pri punkciji sklepa) (7-9). Kužni aerosoli lahko nastanejo pri različnih procesih dela s kužnimi tkivi (npr. irigacija sklepa).

## Literatura

1. Cama AVB, Ceccarelli M, Venanzi RE, Ferraiolo F, Paolucci IA, Maranto D, Mondello P et al. Outbreak of *Brucella melitensis* infection in Eastern Sicily: risk factors, clinical characteristics and complication rate. *New Microbiologica* 2019; 42: 43-8.
2. NIJZ. Epidemiološko spremljanje nalezljivih bolezni v letu 2017. Dosegljivo s spletne strani 30.9.2019 [https://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/epidemiolosko\\_spremljanje\\_nb\\_v\\_sloveniji\\_2017\\_november2018\\_1.pdf](https://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/epidemiolosko_spremljanje_nb_v_sloveniji_2017_november2018_1.pdf)
3. Disease incidence OIE. Dosegljivo s spletne strani 30.9.2019 [https://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Disease information/statusdetail](https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Disease%20information/statusdetail)
4. Jansen W, Linard C, Noll M, Nöckler K, Al Dahouk S. *Brucella*-positive raw milk cheese sold on the inner European market: A public health threat due to illegal import?. *Food Control* 2019; 100: 130-7.
5. Krt B, Ocepek M, Avšič-Županc T, Mueller-Premru M. Bruceloza in njena diagnostika – problem veterinarske in humane medicine. *Med Razgl* 2012; 51, S6: 71-6.
6. Ihan A. Brucele. V: Gubina M, Ihan A, uredniki. *Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo*. Ljubljana: Medicinski razgledi 2002; 277-80.
7. Lowe CF, Showler AJ, Perera S, McIntyre S, Qureshi R, Patel SN, et al. Hospital-associated transmission of *Brucella melitensis* outside the laboratory. *EID* 2015; 21: 150-2.
8. Nichols M, Thompson D, Carothers JT, Klauber J, Stoddard RA, Guerra MA, et al. *Brucella abortus* exposure during an orthopedic surgical procedure in New Mexico, 2010. *Inf Control & Hosp Epidem* 2014; 35: 1072-3.
9. Poulou A, Markou F, Xipolitos I, Skandalakis PN. A rare case of *Brucella melitensis* infection in an obstetrician during the delivery of a transplacentally infected infant. *J Infec* 2006; 53: e39-41.

# Ektoparazitarne zoonoze

## Zoonotic Ectoparasitosis

**Aleksandra Vergles Rataj<sup>1</sup>, Metka Adamič<sup>2</sup>, Neža Adamič<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana,

<sup>2</sup>Dermatologija mag. Metka Adamič dr. med., samostojni zdr. del., Parmova 53, Ljubljana, <sup>3</sup>Klinika za reprodukcijo in velike živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana

### Povzetek

Prispevek je namenjen prikazu nekaterih zunanjih zajedavcev (bolhe, pršice in garjavci), ki jih običajno najdemo pri živalih, občasno pa gostujejo tudi pri človeku in povzročajo različne spremembe na koži. Kljub temu, da so infestacije živali s paraziti očitne, so spremembe, ki jih zajedavci povzročajo na človeški koži velikokrat neznačilne. Pri postavljanju diagnoze je zato najbolj pomembno sodelovanje med medicinsko in veterinarsko stroko.

### Abstract

The article is intended to show some of the external parasites (fleas, mites, and mange) that are commonly found in animals, but occasionally also occur in humans and cause various skin problems. Although the infestations of animals with parasites are obvious, the changes caused by parasites on human skin are often unremarkable. Collaboration between the medical and veterinary professions is therefore important in making the diagnosis.

**Bolhe** – *Ctenocephalides sp.*, *Leptopsylla*, *Ceratophyllus columbae*, *Xenopsylla cheopis*, *Pullex irritans*

V srednji Evropi obstaja več kot 80 različnih vrst bolh. Najpogosteje se srečujemo z mačjo bolho *Ctenocephalides felis*, pasjo *Ctenocephalides canis* in perutninsko *Ceratophyllus gallinae*. Bolhe so insekti brez kril, latero-lateralno sploščeni in imajo dolge zadnje noge, kar jim omogoča skoke na gostitelja (dosežejo spodnje okončine, od koder se povzpnejo na druge dele telesa). Telo bolhe je razdeljeno na glavo, oprsje in trebuh. Na področju glave imajo ustni aparat, ki je prirejen za vbadanje in sesanje krvi. Na obraznem delu imajo nekatere bolhe obrazne ali genalne ktenidije, posebne močne ščetine (*Ceratophyllus* teh nima) ter pronotalne, ki ležijo na prvem segmentu oprsja, na pronotumu. Na hrbtu so hitinske ploščice tergiti, na področju trebuha sterniti, vmes so pleuriti, ki povezujejo ploščice med seboj in so prožni ter omogočajo premikanje bolhe. Dihajo trahealno, s spirakli. Na 9. segmentu je pigidium ali senzilijum, organ, ki ima čutne dlake trihobotrije. S pomočjo tega organa se bolha orientira v prostoru, zaznava zračni tok in bližanje gostitelja. Samica leže jajčeca in jih ne lepi na dlako kot je to pri ušeh, ampak se le-ta skotalijo na tla, kjer se iz jajčec razvije črvičasta ličinka, ki ni podobna odrasli bolhi. Odrasla bolha je krvoses velikosti 1-3mm. Nezrele, črvom podobne larve so brez nog in oči, iščejo hrano in ne sesajo krvi. To traja 1-6 mesecev, nato se zabubijo tako, da se obdajo z umazanijo, drobnimi kamenčki in organskim materialom. Odrasla bolha zaužije toliko krvi, da je ne more prebaviti, zato so njeni iztrebki temni in podobni majhnim črnim vejicam.

Pri golobih zajeda vrsta *Ceratophyllus columbae*, ki se lahko občasno prehranjuje na človeku. Mišja bolha je *Leptopsylla*, ki jo lahko najdemo tudi na mački in človeku. Podganja bolha *Xenopsylla cheopis* pa je poznana iz zgodovine kot najpomembnejša prenašalka bubonske kuge. *Pullex irritans* je človeška bolha, ki prehaja tudi na domače živali. Ta vrsta bolhe nima ktenidij. Klinična slika pri živalih je raznolika, odvisna je predvsem od imunološkega statusa gostitelja. Žival brez srbeža je pogosto imunološko tolerantna do bolh; ob kliničnem pregledu običajno najdemo na njegovi koži in po kožuhu veliko bolh in njihovih iztrebkov. Pri živalih, ki so vidno prizadete in kjer je srbež močno izražen, pa velikokrat bolh ne uspemo najti ali so zelo redke.

Infestirano žival tretiramo z insekticidnimi praški, šamponi in/ali kopelmi. Velja pravilo, da vsaka bolha, ki jo najdemo na živali pomeni, da je na njenem ležišču prisotnih še na stotine odraslih, jajčec, larv



in/ali bub. Zato je potrebno skrbno in dosledno preveriti in primerno očistiti tudi vso okolico, kjer se žival giblje: posesati vse površine, kjer se žival zadržuje in oprati ali uničiti ležišče; na vse omenjene predele je potrebno v skladu z navodili aplicirati ustrezen insekticid.

Pri infestiranem človeku pa na koži opazamo intenzivno srbeče izbokline, mehurčke, redkeje tudi bule; najbolj pogosto so vidne pri ženskah na oziroma v okolici izpostavljenih gležnjev, običajno je več sprememb skupaj. Opazamo jih lahko tudi na drugih delih telesa, zlasti pri otrocih, ki pestujejo hišne ljubljence. Dokaj pogosta je tudi alergijska reakcija na boljše pike. Nadalje bolhe predstavljajo vektor za prenos endemičnega tifusa, bubonske kuge, bruceloze, melioidoze in erizipeloida.

Zdravljenje pri človeku je simptomatsko, skladno s klinično sliko žarišč na koži. Uporabljamo ustrezna protivnetna sredstva za topikalno zdravljenje, v primeru močno izraženega srbeža ali alergije pa je potrebno tudi sistemsko zdravljenje. V primeru pojava gnojnih mehurčkov ali krast tretiramo z ustreznim antibiotičnim sredstvom. Nujno potrebna je eradikacija bolh pri živalih in v okolju.

### **Pršice – *Cheyletiella* sp., *Dermanyssus gallinae***

V rodu *Cheyletiella* so pršice, ki gostujejo na psu (*Cheyletiella blackei*), mački (*Cheyletiella yasguri*) in kuncu (*Cheyletiella parasitivorax*). Konice tipalk, palpusov, so oblikovane kot čvrsti kavliji in služijo oprijemanju kožuha. Jajčeca, ki jih izleže samica, so prilepljena na dlačni koren. Pršice v kožo ne delajo rosov. Prehranjujejo se s površinskimi kožnimi ostanki in tkivnimi sokovi. Cel življenjski cikel traja 35 dni na isti živali. Larve, nimfe, in odrasli samci odmrejo v 48 h, če jih ločimo od gostitelja. Samice in morda jajčeca, lahko živijo do 10 dni izven gostitelja in predstavljajo vir infestacij v okolju. Možen je prenos na lastnika živali. Pršice *Cheyletiella* sp. lahko zajedajo tudi na bolhah, muhah in ušeh. Ti večji zunanji zajedavci tako lahko predstavljajo transportne gostitelje za pršice in jih prenašajo z živali na žival.

Pri živalih infestacija praviloma poteka asimptomatsko, ob natančnem kliničnem pregledu pa lahko opazimo bele, prhljaju podobne luske na predelih hrbta in vratu. Vidne so lahko tudi rumeno bele luske, ki so pravzaprav pršice same. To je razlog, da bolezen poimenujemo tudi 'premikajoči se prhljaj' (ang. 'walking dandruff'). Mlajše živali imajo več težav kot starejše in lahko kažejo znake samopoškodovanja.

Največkrat se z zoonotsko pršico infestirajo ljudje, ki so pogosto v stiku z živalmi (lastniki živali, kmetje, veterinarji). Vir okužbe za človeka so običajno mačke, infestirane s *Cheyletiella blackei*, redkeje psi ali domači kunci. Infestirani bolniki navajajo srbež v napadih, ki se običajno pojavlja na predelih telesa, ki so praviloma v stiku s hišnim ljubljencem ali živaljo. *Cheyletiella blackei*, pršica mačk, lahko pri dovzetnih in občutljivih osebah povzroči močno neugodno in dlje trajajočo srbečo dermatozo. Na koži, kjer je prišlo do ugriza pršic, so opazne srbeče pordele papule; najbolj pogosto jih opazimo na dlaneh, po prsnem košu (dojkah) in na koži trebuha. Kožna reakcija je lahko tudi bulozna, takrat je potrebno diferencialno diagnostično izključiti druge imunološke vzroke buloznih dermatoz. Zaradi srbeža so na koži prisotne tudi odrgnine in praske z znaki sekundarnega gnojnega vnetja. Rožnate papule se lahko razvijejo v vezikule, pustule, lahko opazimo tudi predele z nekrotičnimi spremembami. Intenzivnost in razširjenost izpuščaja je največkrat odvisna od trajanja kontakta živaljo.

Ker pršice po človeški koži ne vrtajo rosov, temveč se le začasno prehranjujejo in nato pobegnejo, jih na telesu obolelega med kliničnim pregledom običajno ne opazimo več. Za postavitev diagnoze je najbolj pomembna s strani veterinarja potrjena prisotnost pršice ali njene larvalne oblike na prizadeti živali, s katero je bil oboleli v stiku.

Terapija je usmerjena na odpravo pršice pri živali in ljudeh, ki so (ali so bili) v stiku z infestirano živaljo ter na eradikacijo pršic v njihovem skupnem bivalnem okolju. Pri človeku je potrebna simptomatska terapija z lokalnimi in peroralnimi zdravili, ki blažijo srbež in ustrezno zdravljenje sekundarnega gnojnega vnetja.

Infestacija s pršico *Cheyletiella* je relativno pogosta, vendar velikokrat ostane zaradi pomanjkljivih anamnestičnih podatkov nediagnosticirana ali neprepoznana.

Rdeča pršica, *Dermanyssus gallinae*, zajeda pri 40 različnih vrstah ptic (golobi, vrabci, grlice, škorci) in sesalcih (mačke, psi, glodavci, zajci, konji in človek). Predstavlja pomembnega zunanega zajedavca perutnine na farmah. Zadržuje se na opremi, pod gnezdi, v različnih špranjah, na lesenih ali kovinskih delih in v nastilju. Napadena perutnina je v nenehnem stresu. Živali se ključajo, čistijo perje, so nemirne, anemične, zmanjša se nesnost, kvaliteta jajc se poslabša. Invadirane ptice ali domača perutnina imajo zaradi prehranjevanja pršic opazne lezije na prsih ali nogah. Pršice pri človeku povzročajo različne oblike kožnih reakcij in srbečico ter spodbujajo alergijske reakcije pri atopikih.

Simptomi pogosto spominjajo na druga kožna obolenja, zato neredko vodijo v napačno diagnozo. Pogoste so bulozne reakcije, opisani so tudi lažno pozitivni izvidi imunofluorescenčne preiskave (DIF). Bule lahko napredujejo v obsežnejši celulitis s posledično nastalimi ulceracijami. Neredko lahko končno diagnozo določi šele patohistološki pregled prizadetega žarišča, kjer opažamo tipične znake pikov insekta. Ob postavljenem sumu na infestacijo s pršico ima pri postavitvi diagnoze velik pomen sodelovanje zdravnika z veterinarjem. Pri zdravljenju, ki je načeloma simptomatsko (lokalna sredstva proti srbenju, ob globljih vozličih tretiranje s kortikosteroidi, toaleta in zdravljenje bul in posledičnih ulkusov) igra najbolj pomembno vlogo odstranitev vira pršic iz okolja. Pršice lahko prenašajo tudi različne bolezni: salmonelozo (*Salmonella enteritidis*), ptičje spirohete, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *E. coli*, šigele, stafilokoke, rikecije, bartonele, pasterele, borelijo, babesijo, in povzročitelje različnih virusnih bolezni pri perutnini. Prenaša pa tudi zoonotično bakterijo *Chlamydia psittaci*.

V številnih študijah so dokazali prisotnost pršic pri golobih, ki gnezdijo v bližini človeških bivališč, na primer na mestnih zgradbah. *D. gallinae* so dokazali blizu zapuščenih golobjih gnezd, v bližini oken oz. prezračevalnih naprav. Takšna infestacija je v neposredni povezavi z dermatološkimi spremembami pri ljudeh, ki živijo v bližnji okolici. Poseben problem marsikje predstavljajo infestirani golobi, ki se zadržujejo v bližini bolnišnic, saj prihaja do širjenja ektoparazitov in drugih patogenov na imunsko oslABLJENE bolnike.

*Ornithonyssus sylviarum* (*Macronyssidae*), poznan tudi pod imenom pršica severnih področij, je krvosesi členonožec pri perutnini. Opažamo ga tudi pri hišnih pticah.

Klinični znaki pri perutnini so podobni tistim, ki se razvijejo pri infestaciji z *D. gallinae*: nervoza, depresija, anemija, umrljivost novo rojenih mladičev. Obnašanje *O. sylviarum* se bistveno razlikuje od *D. gallinae*, saj celo življenje preživi oziroma zajeda istega gostitelja.

Objavljenih je nekaj primerov prenosa te pršice na človeka; klinični znaki so pri človeku omejeni na dermatološke simptome, povezane s srbenjem. Pojavlja se tudi v Evropi.

Ostale vrste pršic, ki so lahko vir infestacije pri ljudeh, so: pršica kače, *Ophionyssus natricis*, pršica podgane, *Ornithonyssus bacoti*, in pršica vrabcev, *Ornithonyssus bursa*. Slednje prav tako lahko povzročajo dermatološke simptome, povezane s srbenjem.

*Trombicula autumnalis* je pršica, ki se pojavlja v toplih mesecih (od maja do oktobra) in zajeda samo ličinka. Odrasli osebki normalno živijo v tleh in niso zajedavci. Največkrat ugotovimo začasno srbenje pri poljedelcih in drugih ljudeh, ki prihajajo v stik z grmovjem in travo. Lastniki živali največkrat poročajo o rdečih drobnih in hitrih pršicah, ki se pojavijo na okončinah živali, povzročajo srbenje in nato hitro izginejo.

## Garjanci – *Sarcoptes scabiei*

se ugotavljajo pri velikem številu različnih vrst živali (*S. scabiei* var. *vulpis*, *felis*, *equi*, *bovis*, *canis*).

Vse vrste se lahko prenašajo na človeka, vendar so na njem le začasni obiskovalci, ki sicer lahko naredijo škodo v koži, povzročajo močno srbenje, vendar se na človeku živalski tip garjavcev ne razmnožuje in bolezen počasi izzveni.

*Sarcoptes scabiei* var. *canis* povzroča pasje garje, zoonotsko bolezen kože. Pršice delajo pri gostitelju rove in tunele v poroženem sloju epidermisa. Krajše časovno obdobje ostanejo na površini kože in ob tem lahko preidejo na drugega gostitelja.

Pri človeku se zadržuje zgolj prehodno; v človeškem keratinu ne delajo rovov in se ne razmnožujejo. Za okužbo ljudi (največkrat otrok) s *S. scabiei* var. *canis* je značilna prisotnost srbečih žarišč, večinoma po neporaščenih delih telesa: na trupu, rokah, na površini terbuha in redko na obrazu in genitalijah. Opazne so manjše papule, vezikule ali urtike, lahko tudi erozije, kraste in znaki sekundarnega gnojnega vnetja. Spremembe, ki jih garjanci povzročajo, so značilno izjemno srbeče; začetek srbeža praviloma sovпада s pojavom opaznih sprememb na koži.

Klinična slika je intenzivnejša pri manjših otrocih, posameznikih s pomanjkljivo higieno ali pri imunsko oslABLJENIH. Kožne spremembe so praviloma prehodne in spontano izzvenijo v nekaj dneh. Ob prisotnosti garij pri živalih v bivalnem okolju je zaradi ponavljajočega se izpostavljanja potek lahko kroničen.

Kožni ostružki papulomatoznih in vezikularnih sprememb pri ljudeh so redko pozitivni. Diagnoza se največkrat postavi na podlagi klinične slike in podatka, da je bil pacient v stiku z infestiranim psom. Laboratorijski testi največkrat nimajo bistvene vloge pri postavitvi diagnoze pasje garjavosti pri ljudeh.



Za odpravo obolenja pri človeku zadošča že kopanje in menjava oblačil. Ob izrazitejših kliničnih znakih svetujemo simptomatsko terapijo. Za lajšanje težav predpisujemo antihistaminik za lajšanje srbeža; topikalno steroidne pripravke, ki zmanjšajo znake lokalnega vnetja (papule in vezikule). V primeru sekundarne bakterijske okužbe predpišemo lokalno antibiotično mazilo. Prenos garjavca na ljudi se lahko prepreči predvsem z izogibanjem infestiranim psom. Če garjavce dokažemo na enem izmed psov, je potrebno tretirati vse pse v gospodinjstvu. Pomembno je tudi opraviti ostale ustrezne higienske ukrepe v skupnem okolju sočasno z zdravljenjem ljudi in psa.

Diferencialno diagnostično je pri ljudeh pomemben *Sarcoptes scabiei* var. *hominis*, trajni ektoparazit, ki živi, se prehranjuje in razmnožuje na človeku. Samica, ki živi približno 1 mesec, vrta rove v zgornjem epidermisu in vanje izleže jajčeca.

Bolezen je prenosljiva med ljudmi, pri katerih se garje prenašajo s tesnim telesnim stikom, redkeje preko oblačil ali posteljnine. Približno tretjina primerov garjavosti se pojavlja v ustanovah, kot so vrtci, šole, zapori, vzgojni zavodi, domovi za ostarele, vojašnice. Opažamo jo pri ljudeh vseh ras in vseh socialnih okolij. Pomemben je podatek o morebitni infestaciji drugih družinskih članov, prijateljev, sodelavcev, o nedavnem potovanju, prenočevanju v nedomačih prenočiščih, skupnih ležiščih, ipd. K infestaciji prispeva tudi socialno okolje, zlasti nižji higienski status. Ponekod so garje endemične. V času migracij, vojn, naravnih nesreč se število obolelih poveča.

*Sarcoptes scabiei* var. *hominis* preživi brez stika s kožo le 2-3 dni, inkubacija traja 3-6 tednov, ob ponovni infestaciji pa je bistveno krajša (verjetno zaradi senzibilizacije posameznika na antigen garjavca). Izpuščaj, ki je zelo srbeč (zlasti ponoči, na toplem) ima značilno pojavnost: opazimo ga predvsem na neporaslih delih telesa, kjer je izločanje loja v manjših količinah: med prsti rok in nog, na upogibnih delih zapestij, v komolčnih kotanjah in nad komolcema, pod pazduhama, na dojkah okoli bradavic, na osrednjem delu trebuha, okoli popka in pasu, na stiku ritnic in stegen, po notranjih delih stegen, ob gležnjih in pri moških na predelu genitalij. Pri odraslem človeku običajno ni žarišč na obrazu, po lasišču, hrbtu, vratu, dlaneh in podplatih. Na omenjenih mestih pa se kožne spremembe pojavljajo pri infestiranih dojenčkih.

Klinično so diagnostično pomembni nekaj mm dolgi, nekoliko privzdignjeni, rdečerjavi, nepravilno zaviti rovkci. Ob natančnem opazovanju lahko vidimo vstopno mesto kot manjšo rjavo krasto, na izstopu pa je vidna drobna polkrožna papula. Opazne so tudi za proseno zrno velike rjavkaste papule, prekrите mestoma s krasto in številne odrgnine. Pri moških so pogosta papulozna žarišča na penisu in skrotumu. Pri starostnikih so kožne spremembe lahko neznačilne, z razpraskanimi papulami, ki jih najdemo tudi v lasišču, na dlaneh in podplatih.

Nekaj tednov ali mesecev po uspešnem zdravljenju se lahko zaradi imunske reakcije na antigene razpadlih parazitov pojavijo pri manjših otrocih večje papule ali vozlički v dimljah, pazduhah, na skrotumu in na penisu, kar imenujemo skabični granulomi.

Klinično postavljeno diagnozo lahko v primeru okužbe človeka z vrsto *Sarcoptes scabiei* var. *hominis* potrdimo z mikroskopskim pregledom kožnih ostružkov malih linearnih luskastih predelov; opazimo odrasle samice, njihova jajčeca in/ali iztrebke. Redkeje je potrebno opraviti biopsijo žarišč; v tem primeru lahko postavimo diagnozo s patohistološkim pregledom.

Zdraviti moramo vse družinske člane, s tem ozdravimo tudi asimptomatske primere, ki so morda še v obdobju inkubacije ali je pri njih klinična slika minimalno izražena. Krema, ki vsebuje permetrin, je potrebno zvečer namazati po vsem telesu, od vratu navzdol, posebej dosledno zlasti na predele pod nohti, med prste, trebuh in na genitalije (slednje predvsem moški). Naslednje jutro kremo izperemo pod tekočo vodo in z blagim detergentom. Oblačila, brisače in posteljnino je potrebno skrbno oprati v vroči vodi. Celoten postopek je potrebno ponavljati 4-5 dni. Nosečnice in doječe matere, otroke, dojenčke mlajše od 2 mesecev, zdravimo z žveplnim mazilom (5-10 %) 3 dni.

V Sloveniji so garje stalno prisotne, občasno (ciklično na 10-15 let) se število obolelih poveča. V prvem desetletju drugega tisočletja je bila incidenca obolenja 50 obolelih na 100 000 prebivalcev letno. Za obolenje so značilne srbeče papule, ki se praviloma nahajajo v parih; med njimi pa je opazen linearni rov, ki vsebuje drobne luske, zlasti v predelih med prsti ali na zapestjih. Srbež je praviloma najmočnejši po kopanju in ponoči, ko je koža najbolj topla.

Opisan je primer infestacije človeka z mačjimi in pasjimi garjavci, *Otodectes cynotis*. V tem primeru je pri človeku prišlo do vnetja sluhovoda. *Notoedres cati*, ki običajno zajeda mačke (redkeje tudi druge živali) občasno lahko povzroča srbeče spremembe na rokah in nogah človeka. *Trixacarus caviae*, ki

ga najdemo pri morskih prašičkih, lahko prav tako povzroča srbeč dermatitis pri ljudeh, ki rokujejo z infestirano živaljo.

## Literatura

1. Beck W. Farm animals as disease vectors of parasitic epizoonoses and zoonophilic dermatophytes and their importance in dermatology [in German]. *Hautartz*. 1999;50:621-628.
2. Cohen SR. Cheyletiella dermatitis. A mite infestation of rabbit, cat, dog and man. *Arch Dermatol* 1980; 110: 435-437.
3. Davies JHT: Cat itch: Cheyletiella and Notoedres compared. *Br J Dermatol* 1941; 53:18-24.
4. Fox JG, Reed C. Cheyletiella infestation of cats and their owners. *Arch Dermatol* 1978; 114: 1233-1234.
5. Keh B: Cryptic arthropod infestations and illusions and delusions of parasitoses chap 8, In Frankie GW, Koehler CS (Eds): *Urban Entomology: Interdisciplinary Perspectives*. New York, Praeger, 1983, pp 165-185.
6. Sayers CP. Arthropod Bites and Stings. In: *Dermatology secrets in color*. Eds: Fitzpatrick JE and Moreli JG. 3rd edition. 2007. Elsevier, Inc. Pennsylvania.
7. Scott DW, Horn RT. Zoonotic dermatoses of dogs and cats. *Vet Clin North Am [Small Anim Pract]* 1987; 17: 117-144.
8. Shelley ED, Shelley WB, Pula JF, et al. The diagnostic challenge of nonburrowing mite bites. *Cheyletiella yasguri*. *JAMA*. 1984;251:2690-2691.
9. Steen CJ, Carbonaro PA, Schwarz RA: Arthropods in dermatology. *J Am Acad Dermatol* 50:819-842, 2004.

# ***Encephalitozoon cuniculi***

## *Encephalitozoon cuniculi*

**Jožko Račnik<sup>1</sup>, Nina Kočar<sup>1</sup>, Tanja Švara<sup>2</sup>, Mitja Gombač<sup>2</sup>, Alenka Dovč<sup>1</sup>, Barbara Šoba Šparl<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Inštitut za perutnino, ptice, male sesalce in plazilce, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Cesta v mestni log 47, 1000 Ljubljana, <sup>2</sup>Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, <sup>3</sup>Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

### **Povzetek**

*Encephalitozoon cuniculi* je obligatorni znotrajcelični mikrosporidijski parazit, s katerim se lahko okužijo različne vrste sesalcev, tudi človek. Glavni gostitelj *E. cuniculi* so kunci. Okužbe pri njih običajno potekajo subklinično ali kronično, patološke spremembe pa se najpogosteje pojavljajo v centralnem živčnem sistemu, ledvicah in/ali očeh. Pri ljudeh z zmanjšano imunostjo je *E. cuniculi* pomemben oportunistični mikroorganizem, ki lahko povzroča težko, tudi življenje ogrožajočo invazijo.

Ključne besede: *Encephalitozoon cuniculi*; kunci; ljudje; zoonoza; klinični znaki; diagnostika; terapija

### **Abstract**

*Encephalitozoon cuniculi* is a obligatory intracellular microsporidial parasite that can infect various mammalian species, including humans. Rabbits are the main host of *E. cuniculi* and infections usually have a subclinical or chronic course. Pathological lesions are most common in the central nervous system, kidneys and/or eyes. In immunocompromised people, *E. cuniculi* is an important opportunistic microorganism that can cause a severe, sometimes life-threatening infection.

Key words: *Encephalitozoon cuniculi*; rabbit; human; zoonosis; clinical signs; diagnostics; therapy

### **Uvod**

*Encephalitozoon cuniculi* je obligatorni znotrajcelični mikrosporidijski parazit, s katerim se lahko okužijo različne vrste živali in človek (Künzel in Fisher, 2018).

#### Razvojni krog *E. cuniculi*

V fazi okužbe spora zaradi spremenjenega pH ali osmotskega pritiska sproži svoj polarni filament, s katerim prodre v gostiteljevo celico, in po njem vanjo prenese infektivno vsebino - sporoplazmo. V citoplazmi se oblikuje parazitofora vakuola. V fazi proliferacije (merogonija) se v parazitofori vakuoli sporoplazma pomnoži - nastanejo strukture, imenovane meronti. Merogoniji sledi sporogonija; v tej fazi se meronti diferencirajo v sporonte, ki imajo debelo steno in aparat za invazijo gostiteljskih celic. Sporonti dozori v zrele rezistentne spore, s premerom 1 - 4 µm. Ko se število sporov v gostiteljski celici tako poveča, da zapolnijo celotno citoplazmo celice, parazitofora vakuola in celična membrana počita, s tem se spore sprostijo v okolico. Invadirajo lahko nove gostiteljske celice in tako se njihov življenjski krog nadaljuje (Latney in sod., 2014; Künzel in Fisher, 2018; Dierenkliniek Wilhelminapark).

#### **Invazije z *E. cuniculi* pri kuncih**

Z *E. cuniculi* je domnevno invadiranih med 50 in 75 % kuncev. Večina imunsko kompetentnih kuncev razvije subklinično ali kronično obliko, s spremembami v možganih, ledvicah in/ali očeh. *E. cuniculi* ima direkten razvojni krog, prenos je horizontalen in vertikalni (transplacentaren) (Künzel in Fisher, 2018).

#### Encefalitozoonoza oči

Nastane zaradi transplacentarnega prenosa spor *E. cuniculi* (Latney in sod., 2014). Trenutno še ni natančno pojasnjeno, na kakšen način pridejo spore v očesno lečo, domneva se, da do invazije pride

v prvi tretjini gestacije, ko se leča razvija. Kasneje postane lečna ovojnica debelejša, bolj vezivna in neožiljena, zato okužba leče pri starejših kuncih ni več mogoča (Ozkan in sod., 2018).

Povzročitelj najprej povzroči spremembe leče, kasneje pa lahko še vseh ostalih delov očesa (Ozkan in Alcigir, 2018). Ker spore penetrirajo skozi lečno ovojnico, se lahko zgodi, da je na posameznih mestih ta stanjšana, lahko tudi pretrgana (Ozkan in sod., 2018). Posledica ruptur lečne ovojnice je fakoklastični uveitis, to je granulomatozni uveitis, ki nastane zaradi sproščanja lečnih beljakovin v sprednjo očesno kamrico. Fakoklastični uveitis vidimo kot belo tvorbo v sprednji očesni kamrici (Pilny, 2012). Sekundarno se lahko pojavijo fokalne zadebelitve, stanjšanja ali ruptur roženice (Ozkan in sod., 2018).

### Encefalitozoonoza ledvic

Invazija z *E. cuniculi* lahko povzroči granulomatozno vnetje ledvic, kar lahko vodi v kronično ledvično odpoved s tvorbo nefrolitov. Bolezen se kaže z nespecifičnimi znaki, kot so polidipsija, poliurija, inapetenca, izguba telesne mase, letargija in dehidracija (Rodríguez-Tovar in sod., 2016). Zaradi patoloških sprememb živcev v steni sečnega mehurja se pojavi urinska inkontinenca (Dierenkliniek Wilhelminapark). Zaradi ledvične odpovedi lahko nastanejo patološke mineralizacije v steni aorte, podključnične arterije, ledvičnih žil in podjezičnice (Harcourt-Brown, 2007; Mancinelli in Lord, 2014) ter osteoskleroza. Oboleli kunci kažejo bolj očitne znake prizadetosti, kot so potrnost, shujšanost in nezmožnost premikanja, opisujejo celo do spontane zlome dolgih kosti (Harcourt-Brown, 2007).

Značilna patoanatomska sprememba so multifokalne do združujoče brazgotine na površini ledvic (Rodríguez-Tovar in sod., 2016). S histopatološko preiskavo ugotovimo multifokalni ali segmentalni granulomatozni intersticijski nefritis s cistami in/ali spori povzročitelja (Ozkan in Alcigir, 2018).

### Encefalitozoonoza centralnega živčevja

Pri invadiranih kuncih se razvijejo centralni vestibularni nevrološki znaki, kot so zasuk in nagib glave (tortikolis), ataksija, nistagmus in obračanje ter vrtenje okoli vzdolžne osi telesa (Rodríguez-Tovar in sod., 2016; Künzel in Fisher, 2018). Nihanje ob počitku in blaga ataksija sta lahko subtilna znaka vestibularne disfunkcije. Drugi nevrološki znaki so živčni napadi, pareze zadnjih nog, nihanje in kimanje ob počitku ter spremenjeno obnašanje (Künzel in Fisher, 2018).

S histopatološko preiskavo ugotovimo multifokalni granulomatozni encefalomyelitis in gliozo, v področjih z vnetjem opazimo ciste in/ali spore povzročitelja (Rodríguez-Tovar in sod., 2016; Anyogu in sod., 2017).

### Druge patološke spremembe, ki jih povzroča *E. cuniculi* pri kuncih

*E. cuniculi* lahko povzroči segmentalni vaskulitis, limfocitni miokarditis, perivaskularno in peribiliarno fibrozo jeter, granulomatozno vnetje jeter (Anyogu in sod., 2017) in fokalne granulomatozne infiltrate v pljučih. V drugih organih redkeje ugotovimo spremembe (Leipig in sod., 2013).

### Diagnostika

Pri živih živalih je serološka preiskava z določanjem protiteles IgM in IgG v serumu preiskovane živali najpogosteje uporabljena in zanesljiva metoda. Najpogosteje se uporabljata ELISA (encimsko-immunski test) in IFAT (indirektni imunofluorescenčni test) (Künzel in Fisher, 2018). Molekularna diagnostika je za določanje dednega materiala spor v telesnih tekočinah in tkivih živih živali manj zanesljiva, razen v primeru odstranitve očesne leče (Latney in sod., 2014). Postmortalno lahko diagnozo postavimo s histopatološko preiskavo, pri kateri v predilekcijskih organih ugotovimo značilne patološke spremembe (Leipig in sod., 2013; Rodríguez-Tovar in sod., 2016). Povzročitelja lahko dokažemo v tkivnih rezinah, obarvanih po Giemsi ali Gramu, ali imunohistokemično. Najbolj občutljiva metoda za potrditev povzročitelja je PCR v realnem času (Leipig in sod., 2013).

### Zdravljenje

Določeno število kuncev s kliničnimi znaki encefalitozoonoze spontano ozdravi brez kakršnega koli zdravljenja. Pri drugih pa odziv na zdravljenje variira. Kot uspešna ozdravitev se smatra odsotnost kliničnih znakov. Zaenkrat še vedno nimamo enotnega učinkovitega protokola zdravljenja kuncev (Künzel in Fisher, 2018).

Benzimidazoli so se izkazali za najbolj učinkovita sredstva za zdravljenje encefalitozoonoze pri kuncih. Med njimi se kot zdravilo izbora uporablja fenbendazol (Künzel in Fisher, 2018). Širokospektralne

antibiotike se daje zgolj zaradi preprečevanja sekundarnih okužb (Künzel in Fisher, 2018). Kortikosteroidi se uporabljajo v akutni fazi za zmanjšanje granulomatoznega vnetja (Künzel in Joachim, 2010). Benzodiazepine, kot sta diazepam in midazolam, se daje kuncem z živčnimi napadi, saj delujejo pomirjevalno (Künzel in Joachim, 2010; Künzel in Fisher, 2018).

Encefalitozoonozo oči v začetku zdravimo medikamentozno s topikalnimi in sistemskimi pripravki, če pa to ni učinkovito, lahko zdravimo kirurško s fakoemulzifikacijo (Gomes in sod., 2018), če je bolezen napredovala, pa je indicirana enukleacija zrkla (Mancinelli, 2016).

## Invazije z *E. cuniculi* pri drugih živalskih vrstah

Invazije z *E. cuniculi* so bile opisane tudi pri drugih živalskih vrstah: pri psu, mački, kravi, hrčku, budri, konju, snežnem leopardu, polarni lisici in prerijskemu dihurju. V zadnjih letih je bilo več raziskav, opravljenih pri mačkah - v ZDA so ugotovili 26,8 % serološko pozitivnih mačk na *E. cuniculi* (Kourgelis in sod., 2017). *E. cuniculi* so dokazali v očesnih lečah mačk z anteriornim uveitisom in katarakto (Benz in sod., 2011), opisan je tudi primer generalizirane encefalitozoonoze pri mačjem mladiču (Rebel-Bauder in sod., 2011).

## Invazije z *E. cuniculi* pri ljudeh

Mikrosporidiji vrste *Encephalitozoon cuniculi* so pomembni oportunistični mikroorganizmi, ki lahko pri ljudeh z zmanjšano imunostjo povzročajo težko, včasih življenje ogrožajočo invazijo. Človek se običajno invadira z zaužitjem spor s kontaminirano vodo in hrano. Možen, vendar manj pogost način okužbe je tudi z vdihavanjem spor (Didier in Weiss, 2006). Protitelesa proti *E. cuniculi* ima 8 % krvodajalcev in 5 % nosečnic (van Gool in sod., 1997). Kaže, da *E. cuniculi* povzroča latentno invazijo pri imunokompetentnem gostitelju, ki se lahko v primeru zmanjšanja njegove imunosti razširi po telesu (Sak in sod., 2011).

Encefalitozoonoza je pri večini ljudi brezsimptomna ali samoomejujoča invazija. Simptomi so običajno povezani s hudo imunsko oslabelelostjo in odvisni od mesta parazitiranja. *Encephalitozoon cuniculi* napade epiteljske in endoteljske celice, fibroblaste ali makrofage. Ker večinoma invadira enterocite, je najpogostejši simptom kronična driska in z njo povezana izguba telesne teže (Wesołowska in sod., 2019). Če se človek invadira z vdihavanjem spor, lahko te napadejo sinuse ali pljučni epitelij, kar povzroči respiratorno simptomatiko - vztrajajoč kašelj, težko dihanje in kratko sapo (Kicia in sod., 2019). *Encephalitozoon cuniculi* se lahko, predvsem pri bolnikih po transplantaciji ledvic in pri bolnikih z aidsom s številom CD4+ celic, manjšim od 50/mm<sup>3</sup> krvi, razseje tudi v druga tkiva in organe in povzroči vnetje ledvic, jeter, peritoneja, mišic, roženice, sinusov, žolčnih vodov, sečnega mehurja, prostate, pljuč, spolovil in centralnega živčevja (Wesołowska in sod., 2019).

Zlati standard v diagnostiki humane mikrosporidioze predstavlja transmissijska elektronska mikroskopija (TEM). Cenovno ugodnejši je pregled obarvanih razmazov, pripravljenih iz bolnikovih kužnin (iztrebkov, urina, respiratornih vzorcev idr.), s svetlobnim mikroskopom. Slabost diagnostike, ki temelji na svetlobni mikroskopiji, je v tem, da z njo ni mogoče določiti vrste mikrosporidijev, ki je povzročila okužbo. V diagnostiki mikrosporidioze se vse bolj uporabljajo molekularnobiološke metode z visoko specifičnostjo in občutljivostjo, ki podobno kot TEM lahko podajo informacijo o vrsti povzročitelja invazije (Field in Milner, 2015).

Pri zdravljenju človeka sta najbolj učinkovita albendazol in fumagilin. Albendazol je zdravilo izbora za zdravljenje intestinalne, respiratorne in diseminirane invazije. Nobeden od omenjenih kemoterapevtikov pa ni nujno povsem učinkovit pri popolni eradikaciji patogena, predvsem pri bolnikih s hudo imunsko oslabelelostjo, zato izboljšanje njihovega imunskega stanja bistveno pripomore k izboljšanju simptomov bolezni (Kicia in sod., 2019).

## Literatura

1. Anyogu DC, Shoyinka SV, Amadi AU. Meningeal hyperaemia and myocarditis in a caged rabbit with encephalitozoonosis: case report and literature review. *Asian Pac J Trop Dis* 2017; 7: 817-820.
2. Benz P, Maass G, Csokai J, Fuchs-Baumgartinger A, Schwendenwein I, Tichy A, Nell B. Detection of *Encephalitozoon cuniculi* in the feline cataractous lens. *Vet Ophthalmol*. 2011;14 Suppl 1:37-47.
3. Didier ES, Weiss LM. Microsporidiosis: current status. *Curr Opin Infect Dis*. 2006; 19: 485-492.

4. Dierenkliniek Wilhelminapark. E. cuniculi konijn of Encephalitozoon cuniculi bij het konijn. Nd. <http://www.dierenkliniekwilhelminapark.nl/dierinfo/konijn/cuniculi.html> (5.10.2019)
5. Field AS, Milner DA Jr. Intestinal microsporidiosis. *Clin Lab Med.* 2015; 35: 445-59.
6. Gomes FE, Matos R, Ledbetter E. Phacoemulsification of bilateral cataracts in two pet rabbits. *Open Vet J* 2018; 8: 125-130.
7. Harcourt-Brown F. Radiographic signs of renal disease in rabbits. *Vet Rec* 2007; 160: 787-794.
8. Kicia M, Szydłowicz M, Cebulski K, Jakuszko K, Piesiak P, Kowal A, Sak B, Krajewska M, Hendrich AB, Kváč M, Kopacz Ż. Symptomatic respiratory Encephalitozoon cuniculi infection in renal transplant recipients. *Int J Infect Dis.* 2019; 79: 21-25.
9. Kourgelis C, Reilly C, Von Roedern M, Cray C. Serological survey for antibodies to Encephalitozoon cuniculi in cats within the United States. *Vet Parasitol Reg Stud Reports.* 2017;9:122-124.
10. Künzel F, Fisher PG. Clinical signs, diagnosis and treatment of Encephalitozoon cuniculi infection in rabbits. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2018; 21: 69-82.
11. Latney LTV, Bradley CW, Wyre NR. Encephalitozoon cuniculi in pet rabbits: diagnosis and optimal management. *Vet Med Res Rep* 2014; 5: 169-80.
12. Leipig M, Matiasek K, Rinder H, Janik D, Emrich D, Baiker K, Hermanns W. Value of histopathology, immunohistochemistry, and real-time polymerase chain reaction in the confirmatory diagnosis of Encephalitozoon cuniculi infection in rabbits. *J Vet Diagn Invest* 2013; 25: 16-26.
13. Mancinelli E, Lord B. Urogenital system and reproductive disease. In: Meredith A, Lord B, eds. *BSAVA manual of rabbit medicine.* Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2014: 191-203.
14. Mancinelli E. Encephalitozoon cuniculi infection in domestic rabbits. 2016. <https://www.gwexotics.com/wp-content/uploads/2016/04/VET-E-cuniculi-infection-in-domestic-rabbits.pdf> (6.10.2019)
15. Ozkan O, Alçigir ME. Subacute stage of Encephalitozoon cuniculi infection in eye lesions of rabbit in Turkey. *Iran J Parasitol* 2018; 13: 301-309.
16. Ozkan O, Karagoz A, Kocak N, Alçigir ME. The first molecular detection and genotyping of Encephalitozoon cuniculi in rabbit's eye in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2018; 24: 607-611.
17. Pilny AA. Encephalitozoon cuniculi-associated phacoclastic uveitis in a dwarf rabbit. *Compend Contin Educ Vet* 2012; 34: E5.
18. Rebel-Bauder B, Leschnik M, Maderner A, Url A. Generalized encephalitozoonosis in a young kitten with cerebellar hypoplasia. *J Comp Pathol.* 2011;145:126-131.
19. Rodríguez-Tovar LE, Nevárez-Garza AM, Trejo-Chávez A, Hernández-Martínez CA, Hernández-Vidal G, Zarate-Ramos JJ, Castillo-Velázquez U. Encephalitozoon cuniculi: grading the histological lesions in brain, kidney, and liver during primo-infection outbreak in rabbits. *J Pathog* 2016; 2016: e5768428.
20. Sak B, Kváč M, Kučerová Z, Květoňová D, Saková K. Latent microsporidial infection in immunocompetent individuals – a longitudinal study. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5: e1162.
21. van Gool T, Vetter JC, Weinmayr B, Van Dam A, Derouin F, Dankert J. High seroprevalence of Encephalitozoon species in immunocompetent subjects. *J Infect Dis.* 1997; 175: 10201024.
22. Wesołowska M, Szetela B, Kicia M, Kopacz Ż, Sak B, Rymer W, Kváč M, Sałamatin R. Dual infection of urinary tract with Enterocytozoon bieneusi and Encephalitozoon cuniculi in HIV/AIDS patients. *Ann Parasitol.* 2019; 65: 77-81.



# Hepatitis E v Sloveniji

## Hepatitis E in Slovenia

**Marina Štukelj<sup>1</sup>, Ivan Toplak<sup>2</sup>, Petra Raspor Lainšček<sup>3</sup>, Andrej Kirbiš<sup>3</sup>, Irena Golinar Oven<sup>1</sup>, Snežna Levičnik Stezinar<sup>4</sup>, Mojca Matičič<sup>5,6</sup>, Mario Poljak<sup>7</sup>, Polona Maver Vodičar<sup>7</sup>, Polona Nograšek<sup>4</sup>, Kristina Orožen<sup>8</sup>**

<sup>1</sup>Klinika za reprodukcijo in velike živali, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, <sup>2</sup>Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, <sup>3</sup>Inštitut za varno hrano, krmo in okolje, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, <sup>4</sup>Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva ulica 6, 1000 Ljubljana, <sup>5</sup>Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva 2, 1525 Ljubljana, <sup>6</sup>Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana, <sup>7</sup>Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana, <sup>8</sup>Nacionalni inštitut za javno zdravje, Območna enota Kranj, Gosposvetska 12, 4000 Kranj

### Povzetek

Hepatitis E je zoonotska virusna bolezen prašičev z naraščajočim pomenom za javno zdravje. Okužbe z virusom hepatitisa E (HEV) so v Sloveniji med domačimi prašiči prisotne že več kot desetletje in povečuje se število laboratorijsko potrjenih primerov pri ljudeh. Pri ljudeh okužba lahko povzroča klinično izraženo bolezen z možnimi hudimi zapleti, predvsem nevrološkimi in nefrološkimi, ter razvojem kroničnega hepatitisa pri imunsko oslabljenih osebah. Okužba s HEV je podcenjena zoonoza, ki ji je potrebno v prihodnje nameniti več pozornosti na medicinskem in veterinarskem področju.

### Abstract

Hepatitis E is a zoonotic viral pig disease with increasing public health concern. Hepatitis E virus (HEV) infections are present in Slovenia among domestic pigs for more than a decade and the number of laboratory confirmed human cases has increased. Hepatitis E virus infection in humans is associated with serious complications, especially with some neurological and nephrological syndromes and development of chronic hepatitis in immunocompromised patients. Infection with HEV is an underestimated zoonosis that needs to receive more attention in the medical and veterinary fields in the future.

### Povzročitelj

Virus hepatitisa E (HEV) je uvrščen v družino *Hepeviridae*, ki je razdeljena na dva rodova; *Orthohepevirus* in *Piscihepevirus*. Rod *Orthohepevirus* vsebuje štiri vrste, poimenovane *Orthohepevirus* od A do D. *Orthohepevirus* A ima trenutno osem genotipov (HEV-1 do HEV-8). Virusi genotipov HEV-1 in HEV-2 okužujejo človeka, virusi genotipov HEV-3 in HEV-4 pa so prisotni pri domačih prašičih in povzročajo sporadične primere hepatitisa pri ljudeh (1). Prašič je najpomembnejši živalski gostitelj HEV, posamezne genotipe pa so dokazali tudi pri drugih živalskih vrstah, kot so divji prašič, nekatere opice, glodavci, kamele in ptice. HEV spada med manjše viruse, virion ima premer 27–34 nm in je brez ovojnice. Genom virusa sestoji iz nesegmentirane pozitivno orientirane enovijačne RNA, velikosti okrog 7.500 nukleotidov (2).

### Epidemiologija in načini prenosa

Okužbe s HEV-1 in HEV-2 so zabeležili le pri človeku. Te okužbe so bile največkrat opisane v državah v razvoju (Indija, azijske države, Mehika), vir okužbe za človeka je okužena pitna voda (3). Okužba s HEV-3 in HEV-4 je primarno prisotna pri domačih prašičih, s katerih se širi na druge živali, in je razširjena v večini držav članic Evropske unije oz. Evropskega gospodarskega prostora (EU/EGP) (4). Vir okužbe za človeka je termično slabo obdelana hrana živalskega izvora ali stik z okuženimi živalmi, najpogosteje z domačimi prašiči. Prenos okužbe s človeka na človeka je redek, lahko pa se zgodi po fekalno-oralni poti znotraj tesnih kolektivov (virus so v blatu dokazali še nekaj tednov po začetku bolezni) ter preko krvi in krvnih derivatov ali darovanih organov, opisan je tudi spolni prenos okužbe (3, 4, 5). Opisan je tudi prenos HEV-3 z jelenjadi na ljudi, domnevajo pa, da jelenjad ne predstavlja

rezervoarja za ta genotip, ampak gre najverjetneje za prenos okužbe z divjih prašičev na jelenjad in potem na ljudi. Protitelesa proti HEV so dokazali tudi pri glodavcih, piščancih, psih, govedu, ovcah in kozah. Rezultati nekaterih raziskav kažejo, da se ljudje lahko okužijo z neposrednim stikom z okuženimi živalmi, v prvi vrsti so to domači prašiči. Natančna pot okužbe še ni razjasnjena, bodisi gre za naključno peroralno zaužitje, vdihavanje aerosola ali prenos preko kontakta z izločki na kakšen drug način. Več študij je pokazalo, da je ugotovljena višja prevalenca protiteles proti HEV pri ljudeh, ki so poklicno več v stiku z domačimi prašiči, npr. delavci v klavninah, rejci prašičev in veterinarji, v primerjavi s splošnim prebivalstvom. Podobno naj bi dokazovali tudi pri ljudeh, ki so pogosto v stiku z divjimi prašiči in njihovimi izločki, kot so gozdarski delavci in lovci.

## Pojavljanje okužb s HEV pri prašičih

Pregled stanja okužb s HEV lahko v slovenski prašičereji razdelimo na dve obdobji; pred vstopom Slovenije v Evropsko unijo (EU) in na obdobje po letu 2004. Pred vstopom v EU smo imeli osem velikih farm prašičev in redili prašiče na velikem številu manjših rej. Največje število rej domačih prašičev se nahaja v severovzhodnem delu Slovenije. V preteklosti smo na večjih farmah sami načrtno izvajali selekcijo prašičev in proizvajali plemenski material. Tako so rejci lahko kupovali plemenske mladice in merjasce v Sloveniji, vse uvožene žive živali iz tujine pa so se v naše reje vnašale le kontrolirano preko obvezne 30-dnevne karantene. Stalež domačih prašičev se je v zadnjih dvajsetih letih postopoma zmanjševal in v letu 2019 imamo le še dve veliki farmi in vzredimo skupno okrog 250.000 prašičev. Večina naših prašičerejcev (95%) spada med manjše rejce, ki imajo od 1 do 20 plemenskih prašičev. Zaradi upadanja števila domačih prašičev v zadnjem desetletju je ponudba slovenskih prašičev izredno slaba. Rejci zato iz različnih evropskih držav pogosto uvažajo plemenske prašiče in tudi odstavljenke za nadaljnje pitanje, večinoma brez poznanega zdravstvenega statusa. Poleg tega uvažamo prašiče, ki se iz različnih regij Evrope vozijo v zbirne centre in od tam v Slovenijo. Po vstopu Slovenije v EU karantene niso več obvezne in rejci lahko kupujejo prašiče kjerkoli po Evropi. Na ta način smo poleg številnih drugih bolezni vnesli tudi HEV.

Nekaj desetletij nazaj je za HEV veljalo, da se okužbe pojavljajo samo pri ljudeh. Z napredkom molekularne diagnostike in epidemiologije so od leta 1997 naprej v izvedenih raziskavah začeli pri številnih vrstah živali odkrivati seve HEV, ki so genetsko zelo sorodni sevom HEV, ugotovljenim pri človeku, in za nekatere genotipe HEV so že potrdili zoonotski potencial virusa. Okužbe z genotipom 3 ugotavljajo povsod po svetu, kjer redijo prašiče, HEV-4 pa so ugotovili v Aziji in Evropi. Najpomembnejši rezervoar sevov HEV iz genotipa 3 in 4 predstavljata domači in divji prašič. Prašiči se največkrat okužijo v starosti 2-3 mesecev, po padcu maternalnih protiteles (ta so prisotna 7-9 tednov). Pri okuženih prašičih se pojavi prehodna viremija, ki traja 1-2 tedna. V prvih tednih po okužbi se pojavijo IgM protitelesa, ki so prisotna do 10 tednov po okužbi, IgG protitelesa pa dokažemo od 2 tedna po okužbi, prisotna pa so lahko več mesecev ali let. Virus se izloča z blatom 3-7 tednov.

Pri prašičih je potek bolezni klinično nezaznaven, tako pri naravni kot eksperimentalni okužbi. Inkubacija (čas od okužbe do izločanja virusa v iztrebkih) traja 1-4 tedne. Domnevajo, da se HEV po zaužitju razmnožuje v gastrointestinalnem traktu in se nato razširi v jetra, ki so njegov tarčni organ. Razmnoževanje virusa so dokazali v jetrih, pa tudi v tankem in debelem črevesju, jetrnih in mezenterialnih bezgavkah. Ob okužbi s HEV patološko anatomsko ugotavljamo blago do zmerno povečanje jetrnih in mezenterialnih bezgavk (7-55 dni po okužbi), zmerni hepatitis, multifokalno periportalno mononuklearno celično infiltracijo (makrofagi, limfociti in plazmatke) ter manjša nekrotična področja.

HEV se v reje prašičev najpogosteje vnese z nakupom viremičnih prašičev. Virus se med prašiči v večini primerov prenaša po fekalno-oralni poti. V reji pa se širi bodisi z neposrednim stikom med prašiči, bodisi z iztrebki, onesnaženo vodo, krmo, nastiljem in zaradi slabih higienskih razmer.

## Pregled stanja okužb pri domačih in divjih prašičih v Sloveniji

Prvi dokaz prisotnosti okužb s HEV pri domačih prašičih sega več kot desetletje nazaj, ko smo s specifično metodo reverzne transkripcije in verižne reakcije s polimerazo (RT-PCR) preiskali 61 vzorcev blata domačih prašičev in nukleinsko kislino virusa dokazali v 26% preiskanih vzorcih (6). Iz 85 arhivskih vzorcev blata prašičev, zbranih na šestih različnih farmah prašičev v letih od 2005 do 2006, smo potrdili prisotnost nukleinske kisline HEV v 20,3%. Na eni večji farmi smo pregledali združene vzorce blata prašičev in pri sesnih pujskih ugotovili 7,8%, pri odstavljenicah 10,6% in pri pitancih 24,2% pozitivnih vzorcev blata. V testiranju 60 vzorcev površinskih vod iz rek smo nukleinsko kislino HEV dokazali v 3,3% vzorcev (7). Filogenetska analiza dveh različnih delov genoma HEV je potrdila, da vsi dokazani in tipizirani sevi HEV iz iste študije pripadajo genotipu 3 in da se vsi slovenski izolati



genotipa 3 združujejo v posebno genetsko gručo, ki v času objave leta 2011 ni vsebovala prav nobene seve genotipa 3 zunaj Slovenije (7). V drugi raziskavi je primerjava pozitivnih vzorcev HEV iz 20 različnih rej prašičev, zbranih iz različnih delov Slovenije, pokazala veliko genetsko raznolikost sevov HEV v regiji ORF 1 virusnega genoma, z ugotovljenimi najmanj devetimi genetskimi linijami, ki imajo od 91 do 98% identičnost zaporedja nukleotidov s tistimi, ki so dostopne v genski banki (8). V letih od 2011 do 2015 smo v Sloveniji testirali skupno 566 naključno izbranih individualnih vzorcev blata poginjenih prašičev v starosti od 3 do 6 mesecev. V povprečju smo nukleinsko kislino HEV dokazali v 8,8% vzorcev, v izvedeni študiji smo najnižji odstotek pozitivnih vzorcev ugotovili leta 2013 (4,2%), najvišji pa leta 2014 (12,5%) (9). Leta 2014 smo v štirih klavnicah na liniji klanja pri 811 klinično zdravih prašičih vzorčili blato, jetra in žolč in ugotavljali prevalenco HEV pri klavnih živalih. Od vzorčenih kategorij trimesečnih (322 živali), šestmesečnih (400 živali) in plamenskih prašičev (89 živali) smo, z metodo RT-PCR v realnem času, najvišji odstotek pozitivnih vzorcev ugotovili pri tri mesece starih prašičih (13,7% v blatu, 13,0% v žolču in 2,1% v vzorcih jeter). Filogenetska analiza 50 pozitivnih vzorcev je pokazala, da ugotovljeni sevi spadajo v genotipe 3a, 3b, 3c in 3e (10). V letih od 2018 do 2019 poteka epidemiološka raziskava razširjenosti okužb s HEV pri domačih prašičih, v katero smo zajeli 545 vzorcev pitancev iz 163 naključno izbranih rej domačih prašičev. Vzorce prašičjih serumov smo testirali s testom ELISA za dokazovanje protiteles IgG proti HEV in ugotovili 36,2% pozitivnih vzorcev, seropozitivne živali smo ugotovili v 54,2% pregledanih rej (neobjavljeni podatki). Pri divjih prašičih smo v letih od 2009 do 2011 s testom ELISA pregledali 288 vzorcev krvi in protitelesa proti HEV ugotovili v 30,2% pregledanih vzorcev, prav tako pa je bila v enem primeru dokazana nukleinska kislina HEV (11). Ti podatki dokazujejo, da so okužbe s HEV že več kot desetletje stalno prisotne pri prašičih v Sloveniji, kar lahko predstavlja določeno stopnjo tveganja za zdravje ljudi.

### Preventivni ukrepi pri prašičih

Cepivo proti HEV je bilo sicer razvito, vendar ni v prodaji, saj se prašičerejci ne zanimajo zanj, ker pri prašičih bolezen poteka brez znakov obolenja. Tako je edini ukrep za preprečevanje vnosa in širjenja bolezn v reji prašičev dosledno izvajanje tako zunanjih kot notranjih biovarnostnih ukrepov. To v praksi pomeni kupovanje prašičev iz rej s poznanim zdravstvenim statusom in iz čim manjšega števila rej ter vhlavljanje nakupljenih prašičev v rejo preko 30-dnevne karantene. V reji, kjer se nahajajo različne kategorije prašičev, naj bodo posamezne kategorije ločene po prostorih in dosledno je potrebno izvajati sistem reje "vse noter/vse ven", kar velja tudi za reje, ki se ukvarjajo samo s pitanjem. Po izpraznitvi prostora je nujno temeljito čiščenje in razkuževanje pred naselitvijo nove skupine prašičev. Žal pogosto ugotavljamo, da se preventivni ukrepi v številnih rejah prašičev izvajajo pomanjkljivo, kar ima lahko za posledico vnos novih povzročiteljev bolezn.

Pomembno je tudi pravilno ravnanje pri klanju prašičev, in sicer dosledno izvajanje ustreznih postopkov ter upoštevanje kritičnih točk za čim manjšo možnost navzkrižne kontaminacije mesa.

Za nadzor širjenja bolezn in zmanjšanja števila okužb s HEV pri ljudeh je nujen monitoring, ki ga lahko izvajamo tako na farmi pri različnih kategorijah prašičev, kot tudi v klavnici.

V razvitih državah je veliko primerov okužbe pri ljudeh povezanih z uživanjem "visoko rizičnih" prašičjih proizvodov, ki se uživajo surovi ali premalo toplotno obdelani in vsebujejo velik delež jeter. Z nadzorom rej in kontrolo proizvodov (npr. jetrne klobase, jetrna pašteta,...) bi lahko zmanjšali izpostavljenost ljudi.

### Pojavljanje okužb s HEV pri človeku

HEV vsako leto povzroči okrog 20 milijonov okužb ljudi po vsem svetu, od tega je simptomatskih okužb približno 3,3 milijona (12). V EU hepatitis E pri ljudeh ne spada med obvezno prijavljive bolezn, ampak se države same odločajo o načinu prijave in definicijah za prijavo, zato breme bolezn v Evropi ni poznano (4, 13). Kljub temu so v letih od 2005 do 2015 v državah EU/EGP zaznali 10-kratni porast števila prijavljenih okužb pri ljudeh (podatki so na voljo za 22 držav) (14). V Sloveniji se prijavljajo laboratorijsko potrjeni primeri okužb s HEV v skladu z Definicijami prijavljivih nalezljivih bolezn za namene epidemiološkega spremljanja (15). V desetletnem obdobju (2009-2018) je bilo v Sloveniji prijavljenih le 5 primerov humanih okužb s HEV, ki niso bile povezane s potovanjem v endemične kraje genotipov HEV-1 in HEV-2, v letu 2019 pa do 30. septembra že 12, od tega jih je bilo 10 brezsimptomnih in odkritih v okviru študije med krvodajalci na Zavodu za transfuzijsko medicino (ZTM) v Ljubljani. Na podlagi teh primerov je v letu 2019 prišlo tudi do spremembe definicije za prijavo, tako da sedaj za prijavo zadošča le laboratorijska potrditev, tudi ob odsotnosti kliničnih znakov, kar je v

skladu s predlogom definicije, ki ga je Evropski center za preprečevanje in nadzor bolezni (ECDC) izdal septembra 2019 (4, 15).

Na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani smo v letih 1999-2011 dokazali 17 primerov akutnega hepatitisa E (7), in od junija 2004 do oktobra 2019 najmanj 40 primerov akutnega hepatitisa E (neobjavljeni podatki). Dokazali smo več kot 100 oseb s prebo-  
lelim hepatitisom E in zaenkrat nismo dokazali nobenega primera kroničnega hepatitisa E.

### Klinična slika pri človeku

Pri človeku se naravna poteka okužbe z genotipoma HEV-3 in HEV-4 ter genotipoma HEV-1 in HEV-2 med seboj razlikujeta. Okužba s HEV-1 in HEV-2, značilna bolezen potnikov v endemične kraje s slabo sanitacijo in higieno, večinoma prizadene mlajše odrasle, v 80% poteka brezsimptomno, ne povzroča kronične okužbe in lahko vodi v akutno odpoved delovanja jeter, ki je pogosta predvsem pri nosečnicah (25% smrtnost) in pri bolnikih s sočasno drugo kronično boleznijo jeter (do 70% smrtnost) (16, 17).

Akutni hepatitis E genotipov 3 in 4, avtohtono pridobljen v Evropi, pa večinoma prizadene starejše moške, najverjetneje zato, ker sta pri njih pogostejše prisotni predhodna jetrna steatoza oziroma fibroza (17). Potek je večinoma brezsimptomen, le pri 5% okuženih se pojavi zlatenica in porastejo testi za oceno delovanja jeter (16, 17). Pri osebah z normalnim imunskim odzivom pride do spontane odstranitve virusa iz telesa, ki pa ne zapušča trajne imunosti – ponovne okužbe so možne. Pri nosečnicah zvišane smrtnosti niso opisovali, lahko pa je povišana pri bolnikih s sočasno drugo kronično boleznijo jeter (18). Pri osebah z oslabilnim imunskim odzivom akutna okužba z genotipoma HEV-3 in HEV-4 v 60% vodi v razvoj kronične okužbe, ki jo opredelimo z vsaj šestmesečno prisotnostjo HEV RNK v krvi (16, 17, 19, 20). Samo tretjina teh bolnikov s kroničnim hepatitisom E toži o težavah, najpogosteje utrujenosti, bolezen pogosto poteka brez nenormalnih ravni aminotransferaz in celo brez serološkega odziva, le z zaznavo HEV RNK (16, 17). Pri bolnikih s presajenimi organi lahko privede do hitrega napredovanja bolezni z razvojem jetrne fibroze ter v nekaterih primerih tudi jetrne dekompenzacije in smrti (20). Akutno ali kronično okužbo s HEV (večinoma genotipa 3) pri človeku lahko spremljajo še zunajjetrne manifestacije okužbe, predvsem določeni nevrološki in nefrološki sindromi, ki se lahko pojavijo tudi pri bolnikih z normalnim imunskim odzivom (16). Okužbo s HEV-3 povezujejo tudi z nastankom pankreatitisa, miokarditisa, tiroiditisa, artritisa, miastenijo gravis ter nekaterimi hematološkimi sindromi (16).

Akutnega hepatitisa, povzročena s HEV-3 in HEV-4, praviloma ne zdravimo s protivirusnim zdravljenjem, saj v večini primerov okužba spontano izzveni (16). Za zdravljenje z ribavirinom in imunoglobulini se odločimo v primeru grozečih zapletov in pri kroničnem hepatitisu E (16, 17).

V zadnjih letih smo v Sloveniji infektologi zaznali nekaj primerov avtohtonega hepatitisa E genotipa 3, med njimi tudi do tedaj zdravega in imunsko zadostnega moškega srednjih let z akutno nastalo nevrološko simptomatiko, z značilno epidemiološko anamnezo, ki pa smo jo dognali šele retrogradno (še neobjavljeni podatki).

### Diagnostika okužb s HEV pri človeku

Okužbo s HEV pri človeku dokažemo s posrednimi metodami (dokaz protiteles anti-HEV IgG in anti-HEV IgM) ali neposrednimi metodami (dokaz virusne RNK v plazmi, blatu ali drugih telesnih tekočinah).

Po inkubacijski dobi, ki traja približno 2-6 tednov, se ob prvih kliničnih znakih in porastu vrednosti serumskih aminotransferaz v krvi najprej pojavijo anti-HEV IgM, kmalu zatem pa tudi anti-HEV IgG. Trajanje prisotnosti anti-HEV IgM je lahko zelo različno (3-12 mesecev), medtem ko anti-HEV IgG vztrajajo vsaj nekaj let, morda tudi doživljenjsko. HEV RNK je v krvi prisotna že približno 2 tedna pred pojavom bolezni, v blatu pa se praviloma pojavi nekoliko kasneje kot v krvi. Po izboljšanju kliničnih simptomov in znakov običajno HEV RNK v krvi izgine, HEV RNK v blatu je pogosto mogoče dokazati tudi v fazi okrevanja. Pri imunsko oslabiljenih bolnikih lahko viremija vztraja tudi dalj časa; če jo dokažemo 3-6 mesecev po akutni okužbi, je najverjetneje prišlo do razvoja kronične okužbe s HEV.

Zlati standard za dokaz akutne okužbe s HEV je dokazovanje HEV RNK z molekularnimi metodami v krvi, blatu in ostalih telesnih tekočinah (npr. cerebrospinalna tekočina) na tarčnih mestih genoma, ki predstavljajo ohranjene regije pri vseh genotipih HEV. Na voljo je vedno večje število komercialno dostopnih in »in-house« kvalitativnih in kvantitativnih molekularnih testov za dokazovanje HEV RNK, vendar je njihova analitična občutljivost in specifičnost še vedno zelo raznolika. Z razvojem

mednarodnega standarda za HEV RNK (21) ter posledičnega mednarodnega standardnega panela različnih genotipov HEV je bila vzpostavljena referenca, ki bo olajšala določanje analitične zanesljivosti molekularnih testov ter njihovo medsebojno primerjavo (22).

Prisotnost anti-HEV IgM v serumu bolnika z značilno klinično sliko in laboratorijskimi znaki akutnega hepatitisa ter pozitivno anamnezo je največkrat zanesljiv dokaz akutnega hepatitisa E, medtem ko je prisotnost anti-HEV IgG večinoma označevalec pretekle okužbe. Žal je serološka diagnostika HEV še vedno problematična in neprimerno slabša od diagnostike ostalih štirih človeških primarnih virusnih hepatitisov. V primerjalnih raziskavah je bilo ujemanje rezultatov različnih anti-HEV seroloških testov, izvedenih na istih serumskih vzorcih, relativno slabo, najverjetneje zaradi različne sestave antigenov, različne analitične občutljivosti in tudi zaradi različne metodologije posameznih testov (5, 23, 24). Poleg tega je potrebno upoštevati tudi možnost lažno pozitivnih rezultatov (predvsem anti-HEV IgM) zaradi navzkrižne reaktivnosti z drugimi virusi ter možnost lažno-negativnih rezultatov zaradi testiranja v serološkem oknu in/ali zaradi okužbe z genetskimi različicami virusa, ki jih testi (še) ne morejo odkriti (25). Zaradi različnih testov, uporabljenih v seroprevalenčnih raziskavah, je primerjava razširjenosti okužb s HEV pri ljudeh zelo otežena, saj se je ocena seroprevalence znotraj iste populacije ob uporabi različnih testov razlikovala za kar 2-4-krat (26). Tudi v Sloveniji v rutinski serološki diagnostiki hepatitisa E, kljub uporabi najzanesljivejših trenutno razpoložljivih testov, občasno ni mogoče izključiti ali dokazati okužbe s HEV. V rutinski praksi smo že ugotovili primere serokonverzije za anti-HEV IgG, brez pojava anti-HEV IgM. Zato pri izključevanju/dokazovanju okužb s HEV še vedno priporočamo uporabo obeh seroloških kazalcev hkrati (anti-HEV IgG in anti-HEV IgM), uporabo molekularnega testiranja v primeru suma na zelo zgodnje obdobje okužbe in pri nejasnih seroloških rezultatih. Pogosto je nemogoče zanesljivo izključiti/dokazati okužbo s HEV v prvem poslanem vzorcu, zato je potrebno bolnika spremljati in pošiljati kontrolne vzorce. Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani že vrsto let rutinsko izvaja tudi določanje genotipov HEV, in po potrebi podtipov osnovnih genotipov ter molekularno-epidemiološko tipizacijo za pojasnjevanje izbruhov.

### Pregled stanja okužb pri ljudeh v Sloveniji

Vpogled v podatke o prevalenci okužbe s HEV pri ljudeh v Sloveniji nudi študija, ki je bila v letu 2019 izvedena na ZTM v Ljubljani. Izvedli smo prevalenčno študijo o prisotnosti okužbe s HEV med slovenskimi krvodajalci. Študija je obsegala dva pristopa, zaznavanje akutne okužbe z dokazovanjem vsebnosti HEV RNK v odvzetih enotah krvi z molekularno metodo in ugotavljanje seroprevalence z zaznavanjem prisotnosti protiteles anti-HEV IgG.

Z neposrednim dokazovanjem virusne RNK smo testirali 8.817 krvodajalcev. Pri petih smo zaznali vsebnost HEV RNK, kar pomeni pogostost 1/1.763 testiranih. Vseh 5 oseb smo spremljali s testiranjem naknadnih kontrolnih vzorcev. Pri vseh je HEV RNK izzvenela po 18-50 dneh in pri vseh so bila protitelesa zaznana po 0-105 dneh po indeks donaciji. Dokazan je bil genotip 3 (3a v 3/5, 3f v 1/5, nedoločljiv v 1/5). Vsebnost virusne RNK je bila od 16 IU/L do 18.700 IU/L (testirano v laboratoriju Centre National de Reference Hepatite E, Toulouse, Francija). Štirje od petih okuženih prihajajo iz iste občine (Gorenjska), vendar med seboj niso sorodstveno ali socialno povezani. Vsi so v času inkubacije uživali svinjino in divjačino, dva izmed njih sta v času inkubacije sama sodelovala pri izdelavi kolin za domače potrebe, ena oseba je navedla, da je pri kolinah sodeloval njen partner. Epidemiološka služba je njihovim kontaktom, ki z njimi živijo v skupnem gospodinjstvu ali pa so bili izpostavljeni istim dejavnikom tveganja, ponudila testiranje na okužbo s HEV. Odzvali sta se dve osebi, obe brezsimptomni. Pri eni je bila odkrita sveža okužba (anti-HEV IgM pozitiven, anti-HEV IgG pozitiven, HEV RNK negativno), pri drugi pa stanje po pretekli okužbi (anti-HEV IgM negativen, anti-HEV IgG pozitiven, HEV RNK negativno). Štirje tesni kontakti odkritih primerov so bili testirani v okviru študije na ZTM, rezultati testiranja na HEV RNK ter na anti-HEV IgG in anti-HEV IgM pri njih so bili nereaktivni.

Pri 1.264 krvodajalcih smo v okviru študije iskali vsebnost protiteles anti-HEV IgG. V 96 vzorcih (7,6%) je bil rezultat testiranja ponovljivo reaktiven. V teh vzorcih smo določali še protitelesa anti-HEV IgM in pridobili podatek 5 ponovljivo reaktivnih. Delež ugotovljenih nedavnih okužb med vsemi prekuženimi je bil torej 5,2%.

Največji delež prekuženosti smo zabeležili v primorsko-notranjski, savinjski, podravski in jugovzhodni regiji (8,7-11,4%), srednje velik delež v pomurski, obalno-kraški, gorenjski in osrednjeslovenski regiji (6,5-7,7%), najmanjši pa v goriški, koroški, posavski in zasavski regiji (3,1-4,5%). Testiranih je bilo več moških (65,0%), razmerje testiranih moških in žensk je odsevalo razmerje po spolu med rednimi krvodajalci. Večjo prekuženost smo zaznali pri moških, to je 9,0%, pri ženskah je bila 4,5%. Največ prekuženih (10,3%) smo zaznali v starostni skupini od 48 do 57 let.

## Preventivni ukrepi in preprečevanje okužb s HEV pri ljudeh

Razviti sta bili dve rekombinantni humani cepivi proti okužbi z virusom hepatitisa E. Obe sta se v randomiziranih kontroliranih dvojno slepih študijah v populacijah z visokim tveganjem izkazali za varni in učinkoviti po treh prejetih odmerkih (po shemi 0, 1 in 6 mesecev) (27, 28, 29). Eno od teh dveh cepiv je registrirano in se uporablja na Kitajskem. Drugje, tudi v Evropi, cepivo ni registrirano, Svetovna zdravstvena organizacija do sedaj ni izdala priporočila za njegovo rutinsko uporabo (30, 31). Preprečevanje okužb pri človeku tako zajema pravilno pripravo hrane živalskega izvora, predvsem svinjine in divjačinskih izdelkov, ustrezno higieno rok in uporabo osebne varovalne opreme pri delu z živalmi (3). Slovenski infektologi so uvedli obvezno testiranje na okužbo s HEV pri bolnikih z določenimi nefrološkimi in nevrološkimi sindromi, bolnikom z zmanjšanim imunskim odzivom pa odsvetujejo uživanje termično slabo obdelanih ali neobdelanih svinjskih in divjačinskih jedi in mesnih izdelkov. Taka priporočila za splošno populacijo zaenkrat ne veljajo (16). Ker je okužba s HEV prenosljiva tudi s transfuzijo in torej prisotnost virusa v krvi v času donacije pomeni tveganje za prenos okužbe na prejemnike krvnih komponent, lahko uporabo okuženih enot krvi preprečimo le z aktivnim iskanjem. Ena izmed možnosti je presejalno testiranje krvodajalcev na HEV RNK, ki pa se v Sloveniji trenutno še ne izvaja.

## Zaključek

Vsekakor je potrebno poudariti, da je okužba s HEV podcenjena zoonoza, ki ji je potrebno v prihodnje skupaj nameniti več pozornosti, tako s strani medicinske kot tudi veterinarske stroke. Podatki opravljenih raziskav dokazujejo, da so okužbe s HEV endemično prisotne tako pri domačih kot divjih prašičih, prav tako je vse več podatkov o laboratorijsko potrjenih okužbah pri ljudeh. S sistematičnim spremljanjem bolezni, doslednimi prijavami okuženih in zbolelih ter sodelovanjem različnih strokovnjakov bomo lahko dobili tudi natančnejšo sliko o pojavljanju okužb s HEV in sprejeli preventivne ukrepe, s ciljem zmanjšanja tveganja prenosa okužbe na ljudi.

## Literatura

1. ICTV: Virus Taxonomy The Online (10th) Report of the International Committee of Taxonomy of Viruses [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/positive-sense-rna-viruses/w/hepeviridae/728/genus-orthohepevirus](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/hepeviridae/728/genus-orthohepevirus).
2. Doceul V, Bagdassarian E, Demange A, Pavio N. Zoonotic hepatitis E virus: classification, animal reservoirs and transmission routes. *Viruses* 2016; 8. <http://dx.doi.org/10.3390/v8100270>.
3. Heyman D, Ross E, Aguilera X, Jawad Asghar R, Benjamin G, Castillo-Salgado C, editors. Control of communicable diseases Manual 20th Edition. 20th ed. American Public Health Association; 2015; 270-2.
4. ECDC. Options for national testing and surveillance for hepatitis E virus in the EU/EEA - Operational guidance. Stockholm; 2019. Dotopno 30.9.2019 na: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/options-national-testing-and-surveillance-hepatitis-e-virus-eueea-operational>.
5. Cattoir L, Van Hoecke F, Van Maerken T, Nys E, Ryckaert I, De Boule M, et al. Hepatitis E virus serology and PCR: does the methodology matter? *Arch Virol* 2017;162(9):2625-32.
6. Jamnikar Ciglencečki U, Mankoč Ramuš S, Barlič Maganja D. Detection of hepatitis E virus in Slovenian pig herds. *International journal of infectious diseases*, 2008; 12: suppl. 1, 138-139.
7. Steyer A, Naglič T, Močilnik T, Poljšak Prijatelj M, Poljak M. Hepatitis E in domestic pigs and surface waters in Slovenia: Prevalence and molecular characterization of novel genotype 3 lineage. *Infect Genet Evol* 2011; 11: 1732-7.
8. Toplak I, Rihtarič D, Jamnikar Ciglencečki U, Hostnik P, Grom J. High diversity of hepatitis E virus detected in pig fecal samples in Slovenia. V: *ESVV 2012. One world, one health, one virology*, 9th International Congress of Veterinary Virology, Madrid, 2012: 163-164.
9. Toplak I, Rihtarič D, Barlovič S, Raspor Lainšček P, Kirbiš A. Ugotavljanje prisotnosti virusa hepatitisa E v vzorcih blata poginjenih prašičev v letih od 2011 do 2015 v Sloveniji. V: MAJDIČ, Gregor (ur.). 6. Slovenski veterinarski kongres 2. - 3. december 2016, Ljubljana: Veterinarska fakulteta. 2016; 53, suppl. 17: 186-189.
10. Raspor Lainšček P, Toplak I, Kirbiš A. A comprehensive study of hepatitis E virus infection of pigs entering in slaughterhouse in Slovenia. *Veterinary Microbiology* 2017; 212: 52-58.

11. Žele D, Barry AF, Hakze-van der Honing RW, Vengušt G, van der Poel WH. Prevalence of Anti-Hepatitis E Virus Antibodies and First Detection of Hepatitis E Virus in Wild Boar in Slovenia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16: 71-4.
12. WHO. Hepatitis E. 2019. Dostopno 30.9.2019 na: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>.
13. Evropska komisija. Izvedbeni sklep komisije (EU) 2018/945 z dne 22. junija 2018 o nalezljivih boleznih in z njimi povezanih posebnih zdravstvenih problemih, zajetih v epidemiološko spremljanje, ter o zadevnih opredelitvah primerov. Dostopno 30.9.2019 na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/sl/TXT/?uri=CELEX%3A32018D0945>.
14. ECDC. Situation overview on hepatitis E in the EU/EEA Member States. 2019. Dostopno 30.9.2019 na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/presentation-situation-overview-hepatitis-e-eueea-member-states>.
15. Sočan M, Šubelj M. Definicije prijavljivih nalezljivih boleznih za namene epidemiološkega spremljanja. Ljubljana; 2018. Dostopno 30.9.2019 na: [http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/datoteke/difinicija\\_prijavljivih\\_nb\\_za\\_namene\\_epi\\_spremljanja.pdf](http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/datoteke/difinicija_prijavljivih_nb_za_namene_epi_spremljanja.pdf) WHO. Hepatitis E. 2019. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>.
16. Dalton HR, Kamar N, Baylis SA, Moradpour D, Wedemeyer H, Negro F. EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. *J Hepatol* 2018; 68(6): 1256-71.
17. Webb GW, Dalton HR. Hepatitis E: an underestimated emerging threat. *Ther Adv Infect Dis* 2019; 6: 2049936119837162.
18. Kumar Acharya S, Kumar Sharma P, Singh R, Kumar Mohanty S, Madan K, Kumar Jha J, et al. Hepatitis E virus (HEV) infection in patients with cirrhosis is associated with rapid decompensation and death. *J Hepatol* 2007; 46(3): 387-94.
19. Dalton HR, Bendall RP, Rashid M, Ellis V, Ali R, Ramnarace R, et al. Host risk factors and autochthonous hepatitis e infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011; 23(12): 1200-5.
20. Kamar N, Selves J, Mansuy J-M, Ouezzani L, Péron J-M, Guitard J, et al. Hepatitis E Virus and Chronic Hepatitis in Organ-Transplant Recipients. *N Engl J Med* 2008; 358(8): 811-7.
21. Baylis SA, Blümel J, Mizusawa S, Matsubayashi K, Sakata H, Okada Y, Nübling CM, Hanschmann KM; HEV Collaborative Study Group. World Health Organization International Standard to harmonize assays for detection of hepatitis E virus RNA. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(5):729-35.
22. Baylis SA, Hanschmann K-MO, Matsubayashi K, Sakata H, Roque-Afonso A-M, Kaiser M, et al. Development of a World Health Organization International Reference Panel for different genotypes of hepatitis E virus for nucleic acid amplification testing. *J Clin Virol* 2019; 119:60-7.
23. Norder H, Karlsson M, Mellgren Å, Konar J, Sandberg E, Lason A, et al. Diagnostic Performance of Five Assays for Anti-Hepatitis E Virus IgG and IgM in a Large Cohort Study. *J Clin Microbiol* 2016; 54(3): 549-55.
24. Vollmer T, Diekmann J, Eberhardt M, Knabbe C, Dreier J. Monitoring of Anti-Hepatitis E Virus Antibody Seroconversion in Asymptomatically Infected Blood Donors: Systematic Comparison of Nine Commercial Anti-HEV IgM and IgG Assays. *Viruses* 2016; 8(8).
25. Hyams C, Mabayoje DA, Copping R, Maranao D, Patel M, Labbett W, et al. Serological cross reactivity to CMV and EBV causes problems in the diagnosis of acute hepatitis E virus infection. *J Med Virol* 2014; 86(3): 478-83.
26. Wenzel JJ, Preiss J, Schemmerer M, Huber B, Jilg W. Test Performance Characteristics of Anti-HEV IgG Assays Strongly Influence Hepatitis E Seroprevalence Estimates. *J Infect Dis* 2013; 207(3): 497-500.
27. Shrestha MP, Scott RM, Joshi DM, Mammen MP Jr, Thapa GB, Thapa N, et al. Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *N Engl J Med.* 2007; 1: 356.
28. Zhu FC, Zhang J, Zhang XF, Zhou C, Wang ZZ, Huang SJ, et al. Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2010; 11;376(9744):895-902.
29. Zhang J, Zhang XF, Huang SJ, Wu T, Hu YM, Wang ZZ, et al. Long-term efficacy of a hepatitis E vaccine. *N Engl J Med.* 2015; 5;372(10):914-22.

30. ECDC. Facts about hepatitis E. 2019. Dostopno 4.10.2019 na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/hepatitis-e/facts>.
31. WHO. Hepatitis E vaccine: WHO position paper, May 2015. Wkly Epidemiol Rec Relev épidémiologique Hebd. 2015;90(18):185–200.



# Alzheimerjeva bolezen in kognitivna motnja psov – dva obraza iste bolezni?

## Alzheimer's disease and canine cognitive dysfunction – two faces of the same disease?

Mojca Kirbiš<sup>1</sup>, Gregor Majdič<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nevrološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, <sup>2</sup>Inštitut za predklinične vede, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani

Demenca ali nevrokognitivna motnja pri ljudeh označuje pomemben upad na enem ali več področjih višjih možganskih dejavnosti, med katerimi so spomin, jezik, presoja, vidno-prostorsko zaznavanje ter čustvovanje in vedenje. Demenca je bolezen predvsem, ne pa izključno starejših. Prizadene približno en odstotek ljudi, mlajših od 65 let, nato pa pojavnost eksponentno narašča do preko polovice ljudi po 90. letu starosti. Prevalenca je v istih starostnih skupinah v Evropi in Amerikah nekoliko višja kot v drugih delih sveta. Med vsemi oblikami demence je najpogostejša Alzheimerjeva bolezen (AD). Gre za nevrodegenerativno obolenje, pri katerem se v možganih v zunajceličnem prostoru odlaga amiloid v obliki plakov, v možganskih celicah pa neurofibrilarne pentlje z agregati proteina. Proces spremlja propadanje živčnih celic, predvsem ali najprej holinergičnih nevronov v delih možganov, povezanih s spominom, pozornostjo in zavestjo. Patološki proces je ireverzibilen, dolgotrajen, postopen in tak je tudi razvoj bolezni. V predkliničnem obdobju že prihaja do odlaganja amiloida in drugih patoloških sprememb na ravni celic, človek pa še nima simptomov. Sledi obdobje blage kognitivne motnje, ko so težave s spominom večje od pričakovanih glede na starost in izobrazbo bolnika, a ga še ne onesposablja pri vsakdanjih aktivnostih. Nazadnje obdobje razvite demence, ko bolnik ni več povsem samostojen in kjer so pri AD najpogosteje v ospredju težave s spominom. Vzroka AD ne poznamo. Manjšina AD z zgodnjim začetkom je monogenetska avtosomno dominantna bolezen. Pri večini pa bolezen razumemo kot posledico konstelacije genetskih faktorjev in faktorjev iz okolja, med katerimi so poškodba glave, dejavniki tveganja za žilne bolezni, prehrana ter telesna in intelektualna aktivnost.

Osnovno patološko sliko AD je opisal že Aloysius Alzheimer v svojem prvem opisu bolezni, patofiziološki mehanizem propadanja nevronov pa do danes ostaja nepopolno pojasnjen in na nevrodegenerativni proces ne znamo vplivati.

Napredek pri raziskavah Alzheimerjeve bolezni omejuje tudi pomanjkanje dobrih živalskih modelov, saj se nevrodegenerativne bolezni pri laboratorijskih glodavcih spontano ne pojavljajo. Obstajajo sicer nekateri modeli gensko spremenjenih miši, pri katerih so izzvani posamezni patološki procesi v možganih, kot je nalaganje amiloidnih plakov, vendar pa je relevantna takšnih modelov vprašljiva. Se pa nevrodegenerativne bolezni pojavljajo pri nekaterih domačih živalih. Med temi je verjetno najbolj proučena kognitivna motnja psov, čeprav tudi o tej bolezni vemo še zelo malo. Pri starih psih se pojavlja oblika demence, ki je v mnogih pogledih podobna alzheimerjevi demenci pri ljudeh. Psi imajo težave s spominom, orientacijo v prostoru, imajo težave s prepoznavanjem lastnikov, spreminja se jim dnevno nočni ritem, spremeni se njihov karakter, lahko postanejo napadalni. Tudi patofiziološko se v možganih dogajajo podobne spremembe kot pri bolnikih z alzheimerjevo demenco in sicer propadajo možganske celice, v možganih pa se nalagajo amiloidni plaki. O neurofibrilarnih pentljah v možganskih celicah je manj poročil in nekatere raziskave kažejo, da se neurofibrilarne pentlje ne pojavljajo pri psih s kognitivno motnjo, medtem ko druge raziskave kažejo, da tudi te pentlje obstajajo v možganski celicah pasjih bolnikov, vednar v manjšem obsegu kot pri ljudeh z alzheimerjevo demenco. Ker je bolezen še slabo proučena pa je mogoče tudi, da se neurofibrilarne pentlje pojavljajo podobno kot pri ljudeh, vendar nimamo pravih orodij za njihovo zaznavanje v možganskem tkivu.

Bolezen pri psih je pomembna z dveh vidikov – ker je to dokaj pogosto obolenje psov, po nekaterih podatkih naj bi bila prevalenca bolezni več kot 60 % pri psih, starejših od 12 let, je bolezen zanimiva za razvoj novih zdravil in metod zdravljenja za uporabo v veterinarski medicini, hkrati pa psi s to boleznijo predstavljajo pomemben model za boljše poznavanje alzheimerjeve bolezni in za razvoj novih zdravil, vendar pa se začenja ta model bolezni prepoznavati šele v zadnjih letih. Na veterinarski fakulteti smo pred nekaj leti pričeli s proučevanjem te bolezni z namenom boljšega poznavanja patofizioloških procesov, ki vodijo v razvoj kognitivne motnje, ter tudi z namenom razvoja novih zdravil.

V sodelovanju s fakulteto za farmacijo izvajamo pilotno raziskavo o učinkovitosti novega zdravila, razvitega na fakulteti za farmacijo, ki zavira delovanje encima butiril holinske esteraze, ki spodbuja večjo aktivnost možganskih celic in se v prvih, predhodnih rezultatih, kaže kot zelo učinkovito. Ker raziskave v zadnjih letih kažejo, da je pri alzheimerjevi demenci pomembna komponenta bolezni tudi motena krvno-možganska prepreka, pa pripravljamo tudi raziskave, pri katerih bi s pomočjo celične terapije skušali okrepiti krvno-možgansko prepreko, kar bi morda lahko prispevalo k upočasnjevanju razvoja kognitivne motnje psov, kasneje pa morda tudi pri bolnikih z alzheimerjevo boleznijo, če bi se takšen pristop izkazal za učinkovit pri psih.

Psi so zagotovo izjemno zanimiv model za boljše razumevanje demence pri ljudeh, ne le zaradi tega, ker so patofiziološke spremembe pri ljudeh in psih podobne, temveč tudi zaradi tega, ker si psi z nami delijo življensko okolje, pogosto tudi vsakodnevne navade (premalo gibanja in s tem povežana debelost se pogosto pojavlja hkrati pri lastnikih in njihovih psih) in so izpostavljeni podobnim dejavnikom iz okolja. Ti so vsekakor povsem drugačni kot okolje, ki so mu izpostavljeni laboratorijski glodavci v kontroliranih pogojih reje, zato bi nam proučevanje psov s kognitivno motnjo ponudilo številne odgovore na neznanke pri razvoju alzheimerjeve demence.

Dementia or neurocognitive disorder is a syndrome in which there is deterioration of cognitive functions including memory, language, visuo-spatial processing, emotions and behaviour. It is predominantly, but not exclusively, a disease of the elderly. It affects approximately one percent of people younger than 65 years, after that the prevalence rises exponentially and reaches over 50% in those above 90 years of age. The most common neurocognitive syndrome is Alzheimer's dementia (AD), a neurodegenerative disease characterised by deposition of extracellular amyloid plaques and intracellular neurofibrillary tangles. This is accompanied with loss of neurons, primarily cholinergic neurons in areas of brain associated with memory, attention and consciousness. This process is gradual, slow and irreversible and the same can be said for disease progression. The deposition of pathologic proteins is present already in the asymptomatic phase. This is followed by a period of mild cognitive impairment, when memory and other cognitive complaints are disproportionate to the person's age and education, but do not yet interfere with their independence. In the stage of dementia, impairments in memory, thinking and behaviour decrease the patient's ability to function independently.

The cause of AD remains unknown. Rare early onset autosomal dominant forms are caused by mutations of known genes, but most cases are thought to be associated with a combination of genetic and environmental risk factors. The latter are believed to include brain injury, cerebrovascular disease risk factors, diet, physical and intellectual (in)activity.

While the basic pathologic hallmarks of AD were described already by Aloysius Alzheimer and despite huge research efforts, the pathophysiologic process of AD remains incompletely understood and we are still not able to influence the neurodegenerative process.

Advances in Alzheimer's research are also limited by the lack of good animal models, as neurodegenerative diseases do not occur spontaneously in laboratory rodents. Although there are some models of genetically engineered mice that develop certain pathological processes in the brain, such as the loading of amyloid plaques, the relevance of such models is questionable, as disease is not occurring spontaneously. However, neurodegenerative diseases occur in some domestic animals. Cognitive impairment of dogs/canine cognitive dysfunction is probably the most studied of these, although very little is known about this disease either. Old dogs often develop a form of dementia that is similar in many ways to Alzheimer's dementia in humans. Dogs have problems with memory, spatial orientation, they have problems with recognizing the owners, their day-night rhythm changes, their character changes, they can for example become aggressive. Pathophysiologically, similar changes occur in the brain as in patients with Alzheimer's dementia, with brain cells dying and amyloid plaques being deposited in the brain. There are fewer reports of neurofibrillary tangles in brain cells, and some studies suggest that neurofibrillary tangles do not occur at all in dogs with cognitive impairment, while other studies show that these tangles also exist in the brain cells of canine patients, but to a lesser extent than in humans with Alzheimer's dementia. Because the disease has been poorly studied, it is also possible that the neurofibrillary tangles appears similar to humans, but we do not have the right tools to detect them in brain tissue.

Disease in dogs is important from two points of view - since it is a fairly common disease in dogs, it is estimated that the prevalence of the disease is more than 60% in dogs over the age of 12, the disease



is of interest for the development of new drugs and treatment methods for use in veterinary medicine, as quality of life of dogs and their owners is severely compromised if dogs have this disease. On the other hand, dogs with this disease represent also an important model for better understanding of Alzheimer's disease and for the development of new drugs, but this model has only begun to be recognized in recent years. At the Faculty of Veterinary Medicine, a few years ago, we began to study this disease in order to gain a better understanding of the pathophysiological processes leading to the development of cognitive impairment, as well as to develop new drugs. In collaboration with the Faculty of Pharmacy, we are conducting a pilot study of the efficacy of a new drug developed by the Faculty of Pharmacy that inhibits the activity of butyryl choline esterase enzyme, which promotes increased brain cell activity and is showing very promising preliminary results. As studies in recent years are suggesting that impaired blood-brain barrier might be an important component of Alzheimer's dementia pathophysiology, we are also studying cellular therapy to try to strengthen the blood-brain barrier, which could possibly slow down the development of cognitive disorders of dogs, and later may be in patients with Alzheimer's disease, should such an approach prove effective in dogs.

Dogs are undoubtedly an extremely interesting model for understanding dementia in humans, not only because the pathophysiological changes in humans and dogs are similar, but also because dogs share with us their living environment, often their daily habits (too little movement and associated obesity often occurs simultaneously with owners and their dogs) and are exposed to similar environmental factors. These are certainly completely different from the environment to which laboratory rodents are exposed in controlled breeding facilities, so studying dogs with cognitive impairment could offer us many answers to the unknowns in the development of Alzheimer's dementia.





# Eno zdravje 2019

Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani  
15. november 2019

## Program

8.00 – 8.30	REGISTRACIJA
<b>8.30 – 9.00</b>	<b>UVODNI NAGOVOR</b> (A. Kirbiš, M. Sočan)
<b>9.00 – 10.30</b>	<b>VARNA HRANA</b> (H. Ribič, M. Golob)
9.00 – 9.40	<b>Baza podatkov o molekularnih tipizacijah kot pomembno orodje za raziskovanje izbruhov alimentarnih zoonoz</b> (M. Pate, M. Trkov)
9.40 – 10.20	<b>Bruceloza v Sloveniji – opis primerov v letu 2019</b> (B. Krt, A. Trop Skaza)
10.20 – 10.30	Razprava
10.30 – 11.00	ODMOR
<b>11.00 – 12.30</b>	<b>PARAZITOLOGIJA</b> (I. Zdovc)
11.00 – 11.40	<b>Ekoparazitarne zoonoze</b> (A. Vergles Rataj, M. Adamič, N. Adamič)
11.40 – 12.20	<b><i>Encefalitozoon cuniculi</i></b> (J. Račnik, B. Šoba Šparl)
12.20 – 12.30	Razprava
12.30 – 13.30	ODMOR
<b>13.30 – 14.10</b>	<b>VIROLOGIJA</b> (E. Grilc, P. Maver Vodičar)
13.30 – 14.10	<b>Hepatitis E v Sloveniji</b> (M. Štukej, I. Toplak, S. Levičnik Stezinar, M. Matičič)
<b>14.10 – 14.50</b>	<b>RAZNO</b> (M. Zakošek Pipan)
14.10 – 14.50	<b>Alzheimerjeva bolezen in kognitivna motnja psov – dva obraza iste bolezni?</b> (G. Majdič, M. Kirbiš)
<b>14.50 – 15.00</b>	<b>RAZPRAVA IN ZAKLJUČEK SREČANJA</b>