
ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN – POLONIA

VOL. LVIII, 6

SECTIO DD

2003

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie

KRZYSZTOF TOMCZUK

*Badania nad występowaniem przeciwciał anti-Toxocara canis
w surowicach ludzi z terenu Lubelszczyzny*

Studies on the prevalence of *Toxocara canis* antibodies in human sera
from the Lublin macroregion

Słowa kluczowe: *Toxocara* spp., przeciwciała, surowice, ELISA

Key words: *Toxocara* spp., antibodies, sera, ELISA

WSTĘP

Jedną z najczęściej występujących inwazji nicieni u zwierząt mięsożernych jest inwazja glist z rodzaju *Toxocara*. Człowiek w cyklu rozwojowym tych nicieni może pełnić rolę żywiciela paratenicznego, ulegając najczęściej zarażeniu inwazyjnymi jajami występującymi w środowisku. Larwy L₂ *Toxocara* spp. odbywają wędrówki w organizmie człowieka, lokalizując się w tkankach różnych narządów, np. wątrobie, płucach, mózgu, mięśniu sercowym, oku, mięśniach, węzłach chłonnych. Migrujące larwy mogą być przyczyną wystąpienia wielu objawów określanych jako toksokaroza trzewna (*visceral larva migrans* – VLM). Za najbardziej charakterystyczne należy uznać: hepatomegalię, eozynofilię, zaburzenia oddechowe, gorączkę, zaburzenia przewodu pokarmowego, astenię, zaburzenia neurologiczne i splenomegalię (8, 9, 16, 17, 18, 27, 28). W przypadku lokalizacji larw w gałce ocznej mamy do czynienia z toksokarozą oczną (*ocular larva migrans* – OLM). Postać ta przejawia się: obniżeniem ostrości wzroku, zezem, a następnie utratą zdolności widzenia (15, 16, 17, 18, 21, 28). Należy podkreślić, że przebieg zarażenia *Toxocara* spp. u ludzi w dużej mierze zależy od wieku – inne objawy będą dominowały u dzieci, inne u dorosłych (17, 18).

Jak wynika z piśmiennictwa, diagnostyka toksokarozy u ludzi jest trudna (8, 17, 21, 32). Towarzyszące inwazji objawy nie są patognomoniczne i mogą występować w przebiegu wielu innych chorób. Wprowadzenie do diagnostyki testów immunologicznych, głównie ELISA, ułatwia obecnie rozpoznawanie. Należy jednak stwierdzić, że dodatni wynik badania serologicznego nie jest równoznaczny z występowaniem objawów chorobowych ani z ich nasileniem – może świadczyć jedynie o kontakcie człowieka z larwami *Toxocara* spp.

Występowanie przeciwciał anti-*Toxocara canis* w surowicach ludzi było określane przez różnych autorów w wielu krajach. Większość prac prowadzano z surowicami ludzi podejrzanych o zarażenie *Toxocara* spp. lub ludzi z grup podwyższonego ryzyka. Procent surowic reagujących dodatnio wahał się w szerokich granicach od 1,2% do 29,6% u klinicznie zdrowych ludzi (2, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 14, 22, 23, 30) i do 100% u ludzi z kliniczną toksokarozą (9, 10, 23, 28, 29, 31). Także nieliczne prace polskie w większości dotyczą pacjentów podejrzanych o toksokarozę (9, 23, 28, 31).

Celem badań pracy było określenie występowania przeciwciał anti-*Toxocara canis* w surowicach ludzi z terenu Lubelszczyzny.

MATERIAŁ I METODY

Surowice. Do badań użyto 773 surowice ludzi z terenu województwa lubelskiego. Były one uzyskiwane od ludzi, u których nie stwierdzano objawów wskazujących na zarażenie larwami *Toxocara canis*, losowo wybieranych z przypadkowych populacji.

Odczyn. Badania wykonano testem ELISA, używając zestawów do oznaczania swoistych przeciwciał IgG przeciwko antygenom ekskrecyjno-sekrecyjnym larw *Toxocara canis* produkcji Border Affinity Products Batiment Biokema, Szwajcaria.

Test wykonywano ściśle według zaleceń producenta. Surowice do odczynów rozcieńczano 1 : 201. Za odczyn dodatni przyjmowano wyniki wyższe lub równe absorbancji uzyskanej dla kontrolnej surowicy pozytywnej. Wartości absorbancji niższe o 15% od uzyskanych dla wyżej wymienionej surowicy uważano za odczyny ujemne. Pozostałe wyniki traktowano jako wątpliwe.

W badaniach własnych posłużono się testem ELISA firmy Bordier Biokema, w których antygenem są produkty ekskrecyjno-sekrecyjne larw L₂ *Toxocara canis*. Czulość tego testu jest wyższa niż 90% i nie obserwuje się występowania reakcji krzyżowych w przypadku inwazji innych pasożytów. Test ten jest rutynowo używany w wielu pracowniach diagnostycznych, także liczne prace badawcze są wykonywane przy jego użyciu.

Dokonano także oceny wartości absorbancji w przypadkach wyników dodatnich.

WYNIKI

Wyniki odczynu ELISA z surowicami ludzi przedstawiono w tab. 1. Spośród 773 surowic użytych do badań za reagujące dodatnio uznano 209 (27,03%). Stwierdzono różny odsetek surowic dodatnich w grupach wiekowych, wzrastający wraz z wiekiem badanych. W grupie 0–15 lat dodatnio reagowało 16,5% surowic, w grupie 18–25 lat 29,12% i powyżej 25 lat – 32,62%. Zwraca uwagę dość wysoki i zbliżony w poszczególnych grupach odsetek wyników wątpliwych wahający się od 6,66 do 9,92%.

Analizując wartości absorbancji dla wyników dodatnich można stwierdzić, że w przypadku grupy wiekowej 0–15 lat blisko połowa tych wartości mieściła się w granicach 125–150% absorbancji dla surowicy kontrolnej pozytywnej. W przypadku pozostałych grup obserwuje się tendencje do zwiększania odsetka

surowic dodatnich słabo pozytywnych, bowiem absorbancje mieściły się w granicach 100–125% wartości uzyskanej dla surowicy kontrolnej pozytywnej. Interesujące jest występowanie w grupie wiekowej 18–25 lat dużego odsetka odczynów wysoko pozytywnych (27,71%), w tych przypadkach absorbancja była wyższa od 175% absorbancji dla surowicy pozytywnej kontrolnej. Szczegółowe dane przedstawia tab. 2.

Tab. 1. Wyniki odczynu ELISA z surowicami ludzi
The results of ELISA with human sera

Surowice ludzi Human sera	Liczba surowic badanych Number of sera examinations	Wyniki Results					
		dodatnie positive	(%)	wątpliwe questionable	(%)	ujemne negative	(%)
0-15 lat	206	34	16,50	15	7,28	157	76,21
18-25 lat	285	83	29,12	19	6,66	183	64,21
Powyżej 25 lat	282	92	32,62	28	9,92	162	57,44
Ogółem	773	209	27,03	62	8,02	502	64,94

Tab. 2. Zróżnicowanie wartości ekstynkcji wyników dodatnich odczynu ELISA z surowicami ludzi

Differentiation of extinction values for positive results in ELISA with human sera

Surowice ludzi Human sera	Liczba surowic dodatnich Number of positive sera	Liczba wyników osiągających dany procent wartości OD dla surowicy kontrolnej pozytywnej Number of results reaching 100–125% 125–150% 151–175% 176%– of OD value for positive control sera							
		100–125%		125–150%		151–175%		176%–	
		liczba number	%	liczba number	%	liczba number	%	liczba number	%
0-15 lat	34	10	29,41	16	47,05	4	11,76	4	11,76
18-25 lat	83	33	39,75	18	21,68	9	10,84	23	27,71
Powyżej 25 lat	92	48	52,17	25	27,17	11	11,95	8	8,69
Ogółem	209	91	43,54	59	28,22	24	11,48	35	16,74

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Trudności diagnostyczne toksokarozy u ludzi sprawiły, że poszukiwano metod immunologicznych ułatwiających rozpoznanie i badania te miały na celu wytypowanie odpowiednich antygenów i odczynów.

Badania struktury antygenowej *Toxocara canis* wykazały, że antygeny ekskrecyjno-sekrecyjne uzyskane drogą inkubacji larw II stadium charakteryzują się wysoką czułością i swoistością. Stąd możliwe stało się wykorzystanie tych antygenów do serodiagnostyki toksokarozy u ludzi. Również w badaniach tych oceniano przydatność różnych metod diagnostycznych, między innymi testów skórnych i odczynów: wiązania dopełniacza, podwójnej dyfuzji, hemaglutynacji, immunofluorescencji, ELISA, radioimmunologicznych, Western Blot (3, 8, 17, 24, 25, 27, 33). Jednak tylko nieliczne z nich znalazły zastosowanie w praktyce.

Zgodnie z przypuszczeniami powszechne zanieczyszczenie środowiska jajami *Toxocara* spp. prowadzi do częstego kontaktu ludzi z tym pasożytem. W konsekwencji, w badaniach własnych stwierdzono u 27,3% (spośród 733) mieszkańców Lubelszczyzny występowanie przeciwciał anti-*Toxocara canis*. Użyte w badaniach własnych surowice ludzi były wybierane losowo i nie pochodziły od pacjentów wykazujących objawy toksokarozy lub podejrzanych o zarażenie tą glistą.

Inni autorzy, którzy wykonywali badania przesiewowe, stwierdzili przeciwciała anti-*Toxocara canis* u 2,6–29,6% badanych ludzi (1, 2, 4, 11, 12, 22, 23). Z publikacji dotyczących badań serologicznych ludzi, u których podejrzewano toksokarozę, wynika, że odczyny dodatnie w tych populacjach wahają się w granicach 5,3–88,3% (4, 9, 14, 23, 28).

Interesujące i jednocześnie sprzeczne z dotychczasowymi opracowaniami są dane dotyczące odsetka odczynów dodatnich w różnych grupach wiekowych. Stwierdzono w badaniach własnych wzrost wraz z wiekiem liczby osób reagujących dodatnio w teście ELISA. Dotychczas uważano, że grupą najbardziej narażoną na zarażenie są dzieci. Wiązano to z częstym kontaktem dzieci z glebą, z zanieczyszczonymi jajami glist piaskownicami, placami zabaw, a także występującą niekiedy u dzieci geofagią.

Niepełne są dane odnośnie do czasu przeżywalności larw w organizmie człowieka, a także okresu stymulacji antygenowej organizmu i odpowiedzi immunologicznej. Z opracowania Juszkó i wsp. (15) wynika, że mogą one przeżywać u ludzi nawet 10 lat. Wydaje się, szczególnie w świetle wyników badań własnych, że wraz z wiekiem dochodzi do kolejnych reinwazji i superinwazji oraz kumulacji larw w organizmie człowieka, co jest przyczyną częstego występowania odczynów dodatnich. Powyższe sugestie potwierdzają wyniki uzyskane przez innych autorów (1, 12, 22, 23, 31).

Wartość absorbancji w przypadku zarażenia *Toxocara* spp. jest zależna od intensywności inwazji, okresu, jaki upłynął od zarażenia, stanu układu odpornościowego, nie jest natomiast powiązana z objawami klinicznymi i ich nasileniem. Havasiova i wsp. (12) zróżnicowali wyniki dodatnie na niskie, śred-

nie i wysokie, uzyskując zbliżony odsetek wyników z minimalnie wyższą ogólną wartością średnich. Rozkład ten odbiegał nieco od średnich ogólnych w zależności od wieku i płci badanych.

W badaniach własnych wyniki dodatnie zróżnicowano na cztery grupy, stwierdzając, że blisko połowa wyników uzyskanych dla dzieci (0–15 lat) mieściła się w wartościach 126–150% absorbancji dla surowicy kontrolnej pozytywnej. W przypadku pozostałych grup wiekowych najczęściej było odczynów słabo pozytywnych, więcej u ludzi w wieku powyżej 25 lat. Interesujący jest fakt wysokiego odsetka wyników powyżej 176% absorbancji kontrolnej pozytywnej w grupie wiekowej 18–25 lat. Wyjaśnienie tego stanu rzeczy jest trudne.

Trudno określić korelację pomiędzy posiadaniem psów i kotów a częstością występowania przeciwciał anti-*Toxocara* spp. u ich właścicieli. Z badań Wo-odroffa i wsp. (30) wynika, że przeciwciała te stwierdza się częściej u hodowców psów, przy czym występowały istotne różnice w zależności od liczby posiadanych psów i lokalizacji hodowli (miasto, wieś). Z pracy Hollanda i wsp. (13) wiadomo, że zanieczyszczonych jajami *Toxocara* spp. było 38% ogródków przydomowych i jedynie 6% próbek z publicznych parków. Cytowani autorzy nie stwierdzili jaj w próbkach kurzu pobranych z pomieszczeń. Przeprowadzone równocześnie badania serologiczne 30 rodzin wykazały u 73 na 146 badanych osób (52,1%) przeciwciała przeciwko *T. canis*.

Osoby posiadające przez dłuższy czas pojedyncze zwierzęta nie wydają się być bardziej narażone na zarażenie niż ludzie nieposiadający psów lub kotów. Konieczne jest jednak utrzymanie właściwych warunków higienicznych w środowisku zwierząt oraz ich regularne odrobaczanie. Ryzyko zarażenia zwiększa utrzymywanie zwierząt młodych lub prowadzenie reprodukcji. Należy przypomnieć, że zwierzęta mięsożerne nie są bezpośrednim źródłem inwazji, a do zarażenia dochodzi przez zjedzenie znajdujących się w środowisku inwazyjnych jaj, przy czym jaja stają się inwazyjne po upływie kilkunastu, kilkudziesięciu dni od momentu wydalenia.

Grupą zawodową szczególnie narażoną na zarażenie *Toxocara* spp., podobnie jak innymi chorobami odzwierzęcymi, są lekarze weterynarii. Jak wynika z pracy Deutza i wsp. (6), którzy badali surowice 137 lekarzy weterynarii z terenu Steinmarku (Austria), odczyny dodatnie (testem ELISA) wystąpiły u 33,6%, następnie potwierdzono to rozpoznanie u 27% (odczyнем Western Blot). Nie obserwowano jednocześnie widocznej różnicy w zarażeniu *Toxocara canis* w zależności od płci badanych lekarzy.

W przypadku ludzi nie można wykluczyć możliwości zarażenia larwami *L₂* *Toxocara* spp. znajdującymi się w tkankach żywicieli paratenicznych. O możliwości zarażenia za pośrednictwem mięsa kurcząt pisali Nagakura i wsp. (19), a wątrób jagnięcych – Salem i Schantz (26).

WNIOSKI

1. Przy pomocy testu ELISA stwierdzono wysoki odsetek populacji ludzi reagujących dodatnio z antygenami *Toxocara canis*.
2. Liczba odczynów dodatnich wzrastała wraz z wiekiem osób badanych.

PIŚMIENNICTWO

1. Abo-Shehada M.N., Sharif L., El-Sukhon S.N., Abuharfeil N., Atmeh R.F.: Seroprevalence of *Toxocara canis* antibodies in humans in northern Jordan. J. Helminth. **66**, 75, 1992.
2. Baixench M.T., Magnaval J.F., Dorchies P.: Épidémiologie de la toxocarose chez les étudiants de l'école nationale vétérinaire de Toulouse. Rev. Méd. Vét. **143**, 749, 1992.
3. Barriga O.O.: A critical look at importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. Vet. Parasitol. **29**, 195, 1988.
4. Cauchie V., Chaillet P., Bigaignon G., Tomasi J.P., Vervoort T.: Etude comparative des infections a *Toxocara* en Belgique et dans les autres pays. Acta Clin. Belgica **45**, 227, 1990.
5. Chieffi P.P., Ueda M., Camargo E.D., de Souza A.M.C., Guedes M.L.S., Gerbi L.J., Spir M., Moreira A.S.: Visceral larva migrans a seroepidemiological survey in five municipalities of Sao Paulo State Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo **32**, 204, 1990.
6. Deutz A., Fuchs K., Auer H., Aspöck H.: Serologische Untersuchungen von Tierärzten auf Zoonosen. 2. Mitteilung: Seroprävalenzen gegenüber parasitären Zoonosen. Wien. Tierärztl. Mschr. **83**, 353, 1996.
7. Dubinský P., Havasiová-Reiterová K., Petko B., Hovorka I., Tomašovičová O.: Role of small mammals in the epidemiology of toxocariasis. Parasitology **110**, 187, 1995.
8. Glickman L.T., Schantz P.M., Grieve R.B.: Toxocariasis. [w:] Immunodiagnosis of Parasitic Diseases. T. 1. red. K. W. Walls, P. M. Schantz. Academic Press, New York 1986.
9. Górnicka G., Gawlik P., Tuszkiewicz-Misztal E., Emeryk A.: Przebieg kliniczny toksokarozy u dzieci na podstawie własnych obserwacji. Mat. konf. „Choroby zakaźne i inwazyjne przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt”. Kazimierz Dolny, 296, 1996.
10. Gueglio B., Marjolet M.: Les syndromes de larva migrans toxocariens: une impasse parasitaire bien cachée. Bull. Soc. Française Parasit. Path. Exot. **9**, 171, 1991.
11. Gundlach J.L., Sadzikowski A.B., Tomczuk K.: Występowanie przeciwciał anty-*Toxocara canis* w surowicach ludzi. Medycyna Wet. **52**, 516, 1996.
12. Havasiová K., Dubinský P., Štefančíková A.: A seroepidemiological study of human *Toxocara* infection in the Slovak Republic. J. Helminth. **67**, 291, 1993.
13. Holland C., O'Connor P., Taylor M.R.H., Hughes G., Girdwood R., Smith A.: Families, parks, gardens and toxocariasis. Scand. J. Infect. Dis. **23**, 225, 1991.

14. Jacquier P., Gottstein, Stingelin Y., Eckert J.: Immunodiagnosis of toxocarosis in humans: Evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay kit. *J. Clin. Microbiol.* **29**, 1831, 1991.
15. Juszko J., Marczevska M., Żarnowska H.: Diagnostyka i leczenie postaci ocznej infekcji larwą glisty psiej *Toxocara canis*. *Klinika Oczna* **96**, 275, 1994.
16. Juszko J., Marczyńska M., Żarnowska-Prymek H.: Przebieg kliniczny toksokarozy u dzieci ze szczególnym uwzględnieniem postaci ocznej. *Mat. konf. „Aspekty kliniczne wybranych chorób pasożytniczych u ludzi (toksoplazmoza, toksokaroza, giardioza)”*, Warszawa, 24, 1996.
17. Magnaval J.F., Glickman L.T., Dorchies P.: La toxocarose, une zoonose helminthique majeure. *Rev. Méd. Vét.* **145**, 611, 1994.
18. Marczyńska M., Szczepańska-Putk M., Popielska J., Juszko J.: Toksokaroza u dzieci. *Pediatrica Polska* **72**, 745, 1997.
19. Nagakura K., Tachibana H., Kaneda Y., Kato Y.: Toxocariasis possibly caused by ingesting raw chicken. *J. Inf. Dis.* **160**, 735, 1989.
20. Pawłowski Z., Stefaniak J.: Klinika i epidemiologia toksokarozy. *Wiad. Parazyt.* **39**, 118, 1993.
21. Prokopowicz D., Sosnowska B.: Toksokaroza (*toxocarosis*). *Przegl. Epid.* **44**, 193, 1990.
22. Rée G.H., Voller A., Rowland H.A.K.: Toxocariasis in the British Isles 1982-3. *Br. Med. J.* **288**, 628, 1984.
23. Rewicka M., Dymon M., Kulas B.: Występowanie przeciwciał *Toxocara canis* u dzieci i dorosłych na terenie Polski południowej. *Mat. konf. „Choroby zakaźne i inwazyjne przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt”*. Kazimierz Dolny, 278, 1996.
24. Rossi L.: Prevalenza di anticorpi anti-*Toxocara* in un campione della popolazione infantile torinese. *Annali. Fac. Med. Vet.* **32**, 44, 1991.
25. Safar E.H., Azab M.E., Khalil H.M., Bebars M.A., El-Hady H., Khat tab H.M.: Immunodiagnosics of *Toxocara canis* in suspected ocular and visceral manifestations. *Folia Parasit.* **37**, 249, 1990.
26. Salem G., Schantz P.: *Toxocaral* visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. *Clin. Infect. Dis.* **15**, 743, 1992.
27. Schantz P.M., Stehr-Green J.K.: *Toxocara* larva migrans. *J. Am. Vet. Med. Ass.* **192**, 28, 1988.
28. Śpiewak E., Małafiej E.: Elementy ryzyka inwazji *Toxocara canis* w populacji dzieci. *Mat. XXIII Zjazdu PTM*, Łódź 420, 1996.
29. Thompson D.E., Bundy D.A.P., Cooper E.S., Schantz P.M.: Epidemiological characteristics of *Toxocara canis* zoonotic infection of children in a Caribbean community. *Bull. WHO* **64**, 283, 1986.
30. Woodruff A.W., de Savigny D., Jacobs D.E.: Study of toxocaral infection in dog breeders. *Br. Med. J.* **9**, 1747, 1978.
31. Zwoliński J.: Czynniki ryzyka zarażenia się *Toxocara canis* w populacji pacjentów z makroregionu lubelskiego. *Wiad. Parazytol.* **46**, 463, 2000.
32. Żarnowska-Prymek H.: Toksokaroza: rutynowa diagnostyka laboratoryjna i jej interpretacja kliniczna. *Klinika* **2**, 34, 1993.
33. Żarnowska H., Jastrzębska M.: Excretory-secretory larval antigens of *Toxocara canis*: physico-chemical characteristics and specificity assayed by Western blot technique. *Acta Parasit.* **39**, 41, 1994.

STRESZCZENIE

Testem ELISA (zestaw komercyjny Border Affinity Products – Szwajcaria) zbadano 773 surowice ludzi bez objawów wskazujących na zarażenie *Toxocara* spp. Dawców zakwalifikowano do trzech przedziałów wiekowych: 0–15 lat (206 surowic), 18–25 lat (285 surowic) i powyżej 25 lat (282 surowice). Za reagujące dodatnio uznano 209 surowic (20,03%). Stwierdzono różny odsetek surowic dodatnich w różnych grupach wiekowych: grupa 0–15 lat – 16,5%, 18–25 lat – 29,12%, powyżej 25 lat – 32,62%. W poszczególnych grupach obserwowano zróżnicowanie poziomu wartości absorbancji dla wyników pozytywnych. W grupie wiekowej 0–15 lat blisko połowa wyników pozytywnych znalazła się w przedziale 125–150% absorbancji dla surowicy kontrolnej pozytywnej. W grupie 18–25 lat obserwowano duży odsetek (27,71%) wyników wysoko pozytywnych – przedział powyżej 175% absorbancji. W grupie powyżej 25 lat odnotowano najwięcej wyników słabo pozytywnych.

SUMMARY

The objective of the studies was to determine the prevalence of *Toxocara canis* invasion in human population from the Lublin macroregion. The randomly chosen sera of 773 person representing the following age groups: 0–15 years old – 206 sera, 18–25 years old – 285 sera, more than 25 years old – 282 sera, were examined by the commercial ELISA kit (Border Affinity Products Batiment Biokema – Switzerland). The roundworm infection was found in 209 persons (27.03%). In the group of 0–15-year-old persons 16.5% of sera reacted positively, in the group of 18–25-year-old persons positive reactions were noted with 29.12% of sera, and in the group at the age over 25, 32.62% of sera reacted positively. The individual groups differed by the value of extinction for the positive results. The maximal number of positive results together with a high extinction was noted in the age group 0–15-years-old; it was higher than in the group at the age 18–25 years than in the at the age of 18–25. Positive results and the lowest extinction was noted in the group at the age over 25.