

РЕЗУЛЬТАТИ СЕРОЕПІДЕМІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ НАСЕЛЕННЯ ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ТА ПРОФЕСІЙНОЇ ГРУПИ РИЗИКУ ЩОДО ЛЕПТОСПІРОЗУ

О.О. Зубач¹, Л.С. Васюнець², Я. М. Дяків³, І.М. Горбаль³, І.М. Кулиш², О.Б. Семенішин²

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

² ДУ «Львівський обласний лабораторний центр МОЗ України», м. Львів, Україна

³ КНП «Львівський обласний центр служби крові», м. Львів, Україна

Ключові слова:

лептоспіроз,
сероепідеміологія, IgG,
ИФА.

Буковинський медичний
вісник. Т.24, № 2 (94).
С. 41-45.

DOI:

10.24061/2413-0737.
XXIV.2.94.2020.41

E-mail: dr_zubach@i.ua,
lab.oni.lviv@gmail.com,
lvivkrov@gmail.com

Мета роботи – вивчити результати сероепідеміологічних досліджень із визначенням протилептоспірозних антитіл IgG серед населення та професійної групи ризику.

Матеріал і методи. За допомогою імуноферментного аналізу (ИФА) проводилось визначення антитіл IgG до лептоспір у крові здорових донорів обласного центру служби крові та робітників Львівводоканалу. Статистичний аналіз проводився за допомогою програмного забезпечення EpiTools.

Результати. Обстежено зразки крові 124 осіб, з яких 90 були донорами Львівського обласного центру служби крові і 34 – працівниками різних підрозділів Львівводоканалу. Серед донорів крові 70 (77,8%) осіб були мешканцями районів області і 20 (22,2%) проживали у місті Львові. Серед мешканців Львівської області (без врахування м. Львова) частка серопозитивних осіб становила 8,57%. Найвищий відсоток серопозитивних осіб виявлений у Старосамбірському районі (20%) і зовсім не виявлено серопозитивних у Жовківському і Радехівському районах. Попри наші очікування, у жодного працівника Львівводоканалу IgG до лептоспір не виявлені. Також жодного позитивного результату щодо наявності антитіл IgG до лептоспір не виявлено у мешканців Львова.

Висновок. Частка осіб із позитивним рівнем IgG до лептоспір у Львівській області становить 8,57% (за винятком м. Львова), що є свідченням інфікування лептоспірами в минулому. Потребує подальшого вивчення інформативність імуноферментного аналізу тест-систем для визначення протилептоспірозних IgG із метою використання в сероепідеміологічних дослідженнях.

Ключевые слова:

лептоспироз,
серозепидемиология, IgG,
ИФА.

Буковинский медицинский
вестник. Т.24, № 2
(94). С. 41-45.

РЕЗУЛЬТАТЫ СЕРОЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НАСЕЛЕНИЯ ЛЬВОВСКОЙ ОБЛАСТИ И ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ГРУППЫ РИСКА КАСАТЕЛЬНО ЛЕПТОСПИРОЗА

Е.А. Зубач, Л.С. Васюнец, Я.М. Дякив, И.М. Горбаль, И.М. Кулиш, О.Б. Семенішин

Цель работы – изучить результаты серозепидемиологических исследований с определением протилептоспирозных антител IgG у населения и представителей профессиональной группы риска.

Материал и методы. С помощью иммуноферментного анализа (ИФА) проводилось определение антител IgG к лептоспирам в крови здоровых доноров областного центра службы крови и рабочих Львовводоканала. Статистический анализ проводился с помощью программного обеспечения EpiTools.

Результаты. Обследовано образцы крови 124 человек, из которых 90 были донорами Львовского областного центра службы крови и 34 - работниками

Оригінальні дослідження

различных подразделений Львовводоканал. Среди доноров крови 70 (77,8%) человек были жителями районов области и 20 (22,2%) проживали в городе Львове. Среди жителей Львовской области (за исключением г. Львова) доля серопозитивных лиц составила 8,57%. Самый высокий процент серопозитивных лиц был обнаружен в Старосамборском районе (20%). Вовсе не обнаружено серопозитивных жителей в Жовковском и Радехивском районах. Несмотря на наши ожидания, ни у одного работника Львовводоканала антитела IgG к лептоспирам не обнаружены. Также никакого положительного результата о наличии антител IgG к лептоспирам не обнаружено у жителей Львова.

Вывод. Доля лиц с положительным уровнем антител IgG к лептоспирам во Львовской области (за исключением города Львова) составляет 8,57%, что может свидетельствовать об инфицировании лептоспирами в прошлом. Требуется дальнейшего изучения информативность иммуноферментного анализа тест-систем для определения противолептоспирозных IgG с целью использования в сероэпидемиологических исследованиях.

Key words: leptospirosis, seroepidemiology, IgG, ELISA.

Bukovinian Medical Herald. V.24, № 2 (94). P. 41-45.

RESULTS OF SEROEPIDEMIOLOGICAL EXAMINATION OF HEALTHY POPULATION OF LVIV REGION AND REPRESENTATIVES OF THE PROFESSIONAL RISK GROUP FOR LEPTOSPIROSIS

O.O. Zubach, L.S. Vasyunets, Ya.M. Dyakiv, I.M. Gorbali, I.M. Kulish, O.B. Semenyshyn

The objective – a seroepidemiological investigation of population and professional risk group with detection of IgG antibodies to leptospira.

Material and methods. Using of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of IgG antibodies to leptospira was made. Blood samples of healthy donors and Vodokanal workers were analyzed. Statistical analysis was made by with using of Epitools software.

Results. The blood samples of 124 people were examined. 90 samples were collected from healthy donors of Lviv Regional Blood Service Center and 34 samples - from employees of Lviv Vodokanal different units. Among the blood donors, 70 (77.8%) were residents of the regions of Lvivska oblast and 20 (22.2%) residents of Lviv. Among the residents of Lvivska oblast (excluding Lviv city), the number of seropositive persons was 8.57%. The highest percentage of seropositive persons was detected in the Starosambirsky district (20%). Against our expectations, no IgG antibodies were detected in any staff member of Lviv Vodokanal and any residents of Lviv city.

Conclusion. The number of people with positive IgG titres to leptospira in the Lviv region is 8.57% (excluding Lviv city), which may indicate past Leptospira infection. The informativeness of ELISA test systems for the detection of anti-leptospirosis IgG antibodies for use in seroepidemiological studies needs further investigation.

Вступ. Лептоспіроз – бактеріальний зооноз із убіквітарним поширенням і переважним розповсюдженням у країнах із тропічним кліматом [1]. Щорічна кількість офіційно зареєстрованих у світі випадків лептоспірозу перевищує один мільйон [2]. Цей спірохетоз характеризується високим відсотком тяжких форм серед госпіталізованих, але значна кількість захворілих переносять цю хворобу в легкій формі [3, 4]. Лептоспіроз

може імітувати прояви гострої респіраторної інфекції, інфекційного мононуклеозу, легкої кишкової інфекції, а відтак, нерідко, пацієнти не звертаються за медичною допомогою та займаються самолікуванням [5, 6]. Реальний рівень захворюваності на лептоспіроз в Україні та у Львівській області зокрема, залишається невідомим. Визначення наявності анamnестичних антитіл до лептоспір (IgG), які є свідченням інфікування лептоспірами,

на території нашого регіону не проводилося.

Мета роботи. Провести сероепідеміологічне дослідження із визначенням протилептоспірозних антитіл IgG серед населення та професійної групи ризику за допомогою імуоферментного аналізу (ІФА).

Матеріал і методи. Дослідження сироваток проводилося в лабораторії особливо небезпечних інфекцій Львівського обласного лабораторного центру МОЗ України. Для виявлення антитіл класу IgG використовували твердофазний ІФА, а також використана комерційна тест-система Leptospira IgG виробництва Nova Tec Immunodiagnostica GmbH, Німеччина. Цей набір для ІФА використовує концентрований та частково очищений антиген, специфічний для всіх сероварів *Leptospira interrogans*. Діагностична специфічність, заявлена виробником, становить 97,37 %, чутливість – 95,0 %. Дослідження проводили відповідно до інструкції виробника. Зразок сироватки крові розводили 1: 100 у буфері для розведення сироваток та короткотривало змішували на вортексі при кімнатній температурі. Розведені зразки сироватки переносили по 100 мкл у лунки мікрострипів та інкубували при +37 °C протягом 60 хв у шейкері, періодично струшуючи. Після інкубації залишки всіх проб і контролів видаляли з лунок у дезінфікуючий розчин, промивали тричі по 300 мкл промивним буфером та висушували при кімнатній температурі. Кон'югат до глобулінів людини IgG додавали до всіх проб по 100 мкл та інкубували при кімнатній температурі (20–22°C) протягом 30 хв у темноті. Лунки мікрострипів промивали тричі по 300 мкл буфером для промивання та висушували при кімнатній температурі. Субстрат додавали до усіх проб по 100 мкл та інкубували при кімнатній (20–22°C) протягом 30 хв у темноті. Для зупинки реакції додавали стоп-реагент по 100 мкл у всі лунки мікрострипа. Кожна постановка виконувалась з негативним контролем, позитивним контролем і калібратором (стандарт) у двох примірниках. Облік результатів проводили, використовуючи ІФА-аналізатор BioRad (Литва). Оптичну щільність проб вимірювали при 405 нм на тлі довжини хвилі 650 нм. Зчитування вищезазначеного поглинання хвилі в контрольних пробах, що відповідає технічним умовам ІФА серії Leptospira IgG Nova Tec вказує, що тест дійсний. Результати були отримані за допомогою таблиці оцінювання, що надається разом із комплектом. Інтерпретація результатів для Leptospira IgG Nova Tec була такою:

специфічний IgG < 9 Nova Tec Units, NTU – дає негативний результат,

специфічний IgG у межах 9-11 NTU – дає пограничний (сумнівний) результат,

специфічний IgG > 11 NTU – дає позитивний результат, який інтерпретується як перенесена або поточна інфекція.

У дослідження не включались сироватки донорів крові, у зразках яких були виявлені антитіла до вірусів парентеральних гепатитів чи ВІЛ. Всього було відібрано 90 зразків. З них 70 сироваток – по десять зразків із семи районів області та 20 зразків мешканців міста Льво-

ва. Також були досліджені 34 сироватки працівників Львівводоканалу (сантехніки, працівники ремонтних служб каналізаційної системи міста). Перед забором крові всі досліджувані особи підписали інформовану згоду про добровільну участь у дослідженні.

Статистичний аналіз проводився за допомогою програмного забезпечення EpiTools.

Результати дослідження та їх обговорення. Для відбору крові обрані райони, у яких інтенсивні показники захворюваності на лептоспіроз були одними з найвищих за останні три роки: Буський, де захворюваність за 2017–2019 рр. склала 10,7/100 тис., Дрогобицький – 8,0/100 тис., Самбірський – 7,4/100 тис., Жовківський – 7,2/100 тис., Старо-Самбірський – 5,5/100 тис., Радехівський – 4,2/100 тис., Пустомитівський – 2,4/100 тис. Серед мешканців районів Львівської області частка серопозитивних осіб становила 8,57 %. Найвищий відсоток серопозитивних осіб виявлений у Старо-Самбірському районі (20%). У Буському, Дрогобицькому, Самбірському та Пустомитівському районах частка серопозитивних становила 10 %. Зовсім не виявлено серопозитивних у Жовківському і Радехівському районах. Також жодного позитивного результату щодо наявності антитіл IgG до лептоспір не отримано в мешканців Львова. Назагал, рівень серопозитивності серед всіх 90 обстежених (з районів області та міста разом) становив 6,67 %. Попри наші очікування, у жодного працівника Львівводоканалу IgG до лептоспір не виявлені.

Отримані результати чітко засвідчують вірогідно частішу верифікацію IgG до лептоспір у осіб, які проживають у районах Львівської області порівняно із жителями м. Львова ($p < 0,02$), а також порівняно з робітниками Львівводоканалу ($p < 0,02$). Особи, у яких був отриманий позитивний титр антитіл IgG до лептоспір, заперечили перенесення лептоспірозу в минулому, що дозволяє нам припустити, що цією хворобою вони перехворіли в легкій формі і не зверталися за медичною допомогою, а відтак вірний діагноз верифікований не був. Не виключено, що після зараження лептоспірами інфекційний процес проходив в інапарантній формі.

Схожі дослідження, які полягали у визначенні рівня серопозитивності населення, проводилися раніше на території Бразилії серед 3117 мешканців міста Сальвадора. Використовували метод мікроаглютинації та лізису для верифікації антитіл проти лептоспір. Рівень серопозитивності населення становив у цьому дослідженні 15,4 % [7].

У роботі інших науковців, присвяченій вивченню серопозитивності здорового населення ($n=198$) Малазії щодо лептоспірозу, проводився порівняльний аналіз застосування ІФА та реакції мікроаглютинації і лізису (РМА). За даними РМА, рівень серопозитивності населення становив 35,9 %, при застосуванні ІФА кількість позитивних зразків становив 33,3 % [8].

Можна припустити, що рівень серопозитивності на теренах Львівської області є в рази нижчим за дані, наведені в інших дослідженнях, за рахунок локації країн, де проводилися ці дослідження. Це території з

Оригінальні дослідження

тропічним кліматом, де історично фіксуються найвищі показники захворюваності на лептоспіроз, а відтак, рівень інфікованості населення є вищим, ніж в Україні, відповідно [9].

Метод ІФА може давати хибнопозитивні результати у разі перехресного реагування при дослідженні сироваток осіб, які перехворіли іншими спірохетозами (сифіліс, Лайм-бореліоз) [10, 11].

Висновки

Частка здорових осіб із позитивним рівнем IgG до лептоспіру у Львові та Львівській області становить 6,67 %, а по Львівській області без врахування показників по місту – 8,57 %, що є свідченням попереднього інфікування. Потребує подальшого вивчення інформативність методу імуноферментного аналізу для визначення протилептоспірозових антитіл з метою використання в сероепідеміологічних дослідженнях.

Перспективи подальших досліджень. Перспективними є сероепідеміологічні дослідження із визначенням антитіл класу IgM та IgG до лептоспіру у хворих на лептоспіроз з метою порівняльного аналізу інформативності методу ІФА та реакції мікроаглютинації і лізису.

Подяка

Висловлюємо подяку за допомогу у проведенні досліджень Львівському обласному центру служби крові та Лабораторії особливо небезпечних інфекцій Львівського обласного лабораторного центру МОЗ України.

Список літератури

- Rodríguez-Vidigal FF, Vera-Tomé A, Nogales-Muñoz N, Muñoz-García-Borrueal M, Muñoz-Sanz A. Leptospirosis in Southwestern Spain. *Rev Clin Esp (Barc)*. 2014;214(5):247-52.
- Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. Global morbidity and mortality of leptospirosis: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(9):e0003898.
- National Guidelines on Management of Leptospirosis. Epidemiology Unit, Ministry of Health, Nutrition and Indigenous Medicine. Sri Lanka; 2016. 45 p.
- McBride AJ, Athanazio DA, Reis MG, Ko AI. Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis*. 2005;18(5):376-86.
- Haake DA, Levett PN. Leptospirosis in humans. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015;387:65-97.
- Васильєва НА, Андрейчин МА. Лептоспіроз. Тернопіль: Укрмедкнига; 2016. 275 с.
- Reis RB, Ribeiro GS, Felzemburgh RD, Santana FS, Mohr S, Melendez AX, et al. Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(4):e228.

Відомості про авторів

- Зубач О.О. – к.мед.н., асистент кафедри інфекційних хвороб ЛНМУ імені Данила Галицького, м. Львів, Україна.
 Васюнець Л.С. – лікар-бактеріолог лабораторії ОНІ ДУ "ЛОЛЦ МОЗ України", м. Львів, Україна.
 Дяків Я.М. – в.о. директора КНП "Львівський обласний центр служби крові", м. Львів, Україна.
 Горбаль І.М. – завідувач донорського відділу КНП "Львівський обласний центр служби крові", м. Львів, Україна.
 Куліш І.М. – завідувач відділу епідагляду за особливо небезпечними хворобами ДУ "ЛОЛЦ МОЗ України", м. Львів, Україна.
 Семенишин О.Б. – к.мед.н., завідувач лабораторії ОНІ ДУ "ЛОЛЦ МОЗ України", м. Львів, Україна.

Сведения об авторах

- Зубач Е.А. – к.мед.н., ассистент кафедры инфекционных болезней ЛНМУ имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина.

8. Thayaparan S, Robertson ID, Fairuz A, Suut L, Gunasekera UC, Abdullah MT. Seroepidemiological study of leptospirosis among the communities living in periurban areas of Sarawak, Malaysia. *Med J Malaysia*. 2015;70(5):288-94.

9. Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(9):e0003898.

10. Sofia Andalib Safiullah, Ahmed Abu Saleh, Shaila Munwar. Laboratory Methods for Diagnosing Leptospirosis: A Review. *Bangladesh J Med Microbiol*. 2009;3(1):39-43.

11. Bajani MD, Ashford DA, Bragg SL, Woods CW, Aye T, Spiegel RA, et al. Evaluation of four commercially available rapid serologic tests for diagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol*. 2003;41(2):803-9.

References

- Rodríguez-Vidigal FF, Vera-Tomé A, Nogales-Muñoz N, Muñoz-García-Borrueal M, Muñoz-Sanz A. Leptospirosis in Southwestern Spain. *Rev Clin Esp (Barc)*. 2014;214(5):247-52. DOI: 10.1016/j.rce.2014.02.009.
- Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. Global morbidity and mortality of leptospirosis: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(9):e0003898. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003898.
- National Guidelines on Management of Leptospirosis. Epidemiology Unit, Ministry of Health, Nutrition and Indigenous Medicine. Sri Lanka; 2016. 45 p.
- McBride AJ, Athanazio DA, Reis MG, Ko AI. Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis*. 2005;18(5):376-86.
- Haake DA, Levett PN. Leptospirosis in humans. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015;387:65-97. DOI: 10.1007/978-3-662-45059-8_5.
- Vasyl'ieva NA, Andreichyn MA. Leptospiroz [Leptospirosis]. Ternopil: Ukrmedknyha; 2016. 275 p. (in Ukrainian).
- Reis RB, Ribeiro GS, Felzemburgh RD, Santana FS, Mohr S, Melendez AX et al. Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(4):e228. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000228.
- Thayaparan S, Robertson ID, Fairuz A, Suut L, Gunasekera UC, Abdullah MT. Seroepidemiological study of leptospirosis among the communities living in periurban areas of Sarawak, Malaysia. *Med J Malaysia*. 2015;70(5):288-94.
- Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(9):e0003898. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003898. eCollection 2015.
- Sofia Andalib Safiullah, Ahmed Abu Saleh, Shaila Munwar. Laboratory Methods for Diagnosing Leptospirosis: A Review. *Bangladesh J Med Microbiol*. 2009;3(1):39-43.
- Bajani MD, Ashford DA, Bragg SL, Woods CW, Aye T, Spiegel RA, et al. Evaluation of four commercially available rapid serologic tests for diagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol*. 2003;41(2):803-9.

Васюнец Л.С. – врач-бактериолог лаборатории ООИ ГУ "ЛОЛЦ МЗ Украины", г. Львов, Украина.
Дяків Я.М. – и.о. директора КНП "Львовский областной центр службы крови", г. Львов, Украина.
Горбаль И.М. – заведующий донорским отделением КНП "Львовский областной центр службы крови", г. Львов, Украина.
Кулиш И.М. – заведующая отделом эпиднадзора за особо опасными болезнями ООИ ГУ "ЛОЛЦ МЗ Украины", г. Львов, Украина.
Семенишин О.Б. – к.мед.н., заведующая лабораторией ООИ ГУ "ЛОЛЦ МЗ Украины", г. Львов, Украина.

Information about the authors

Zubach O.O. – PhD, Assistant Professor of Infectious Diseases Department of Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

Vasyunets L.S. – doctor-bacteriologist of the Department of Especially Dangerous Infectious Diseases of State Institution Lviv Oblast Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine, Lviv, Ukraine.

Dyakiv Ya.M. – Director of KNPE "Lviv Oblast Blood Service Center", Lviv, Ukraine.

Gorbal I.M. – Head of the Donor Department of KNPE "Lviv Oblast Blood Service Center", Lviv, Ukraine.

Kulich I.M. – Head of the Surveillance Department of Especially Dangerous Disease of State Institution Lviv Oblast Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine, Lviv, Ukraine.

Semenyshyn O.B. – PhD, Head of the Department of Especially Dangerous Infectious Diseases of State Institution Lviv Oblast Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine, Lviv, Ukraine.

Надійшла до редакції 29.04.2020

Рецензент — проф. Москалюк В.Д.

© О.О. Зубач, Л.С. Васюнець, Я. М. Дяків, І.М. Горбаль, І.М. Куліш, О.Б. Семенишин, 2020
