

# ЕДНО ЗДРАВЕ: Оценка на серопозитивността и проучване на професионалния риск от разпространение на *Coxiella burnetii* и вируса на хепатит Е сред ветеринарни лекари на свободна практика



**Петя Генова-Калу<sup>1</sup>, Елица Голкочева-Маркова<sup>1</sup>, Константин Симеонов<sup>2</sup>,  
Мирослав Първанов<sup>3</sup>, Чийдем Исмаилова<sup>1</sup>, Веселин Добринов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, Отдел “Вирусология”, гр. София;

<sup>2</sup>Национален Диагностичен Научноизследователски Ветеринарномедицински Институт (НДНИВМИ), Българска Агенция по Безопасност на Храните (БАБХ), гр. София;

<sup>3</sup>Български Ветеринарен Съюз (БВС)

# УЧАСТНИЦИ В ПРОУЧВАНЕТО

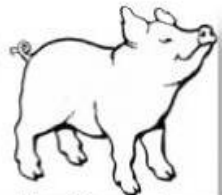
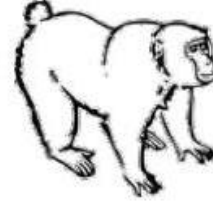
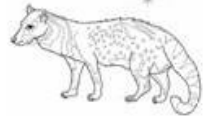
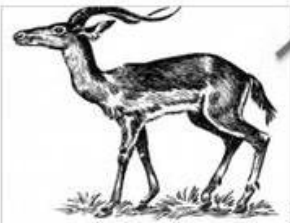
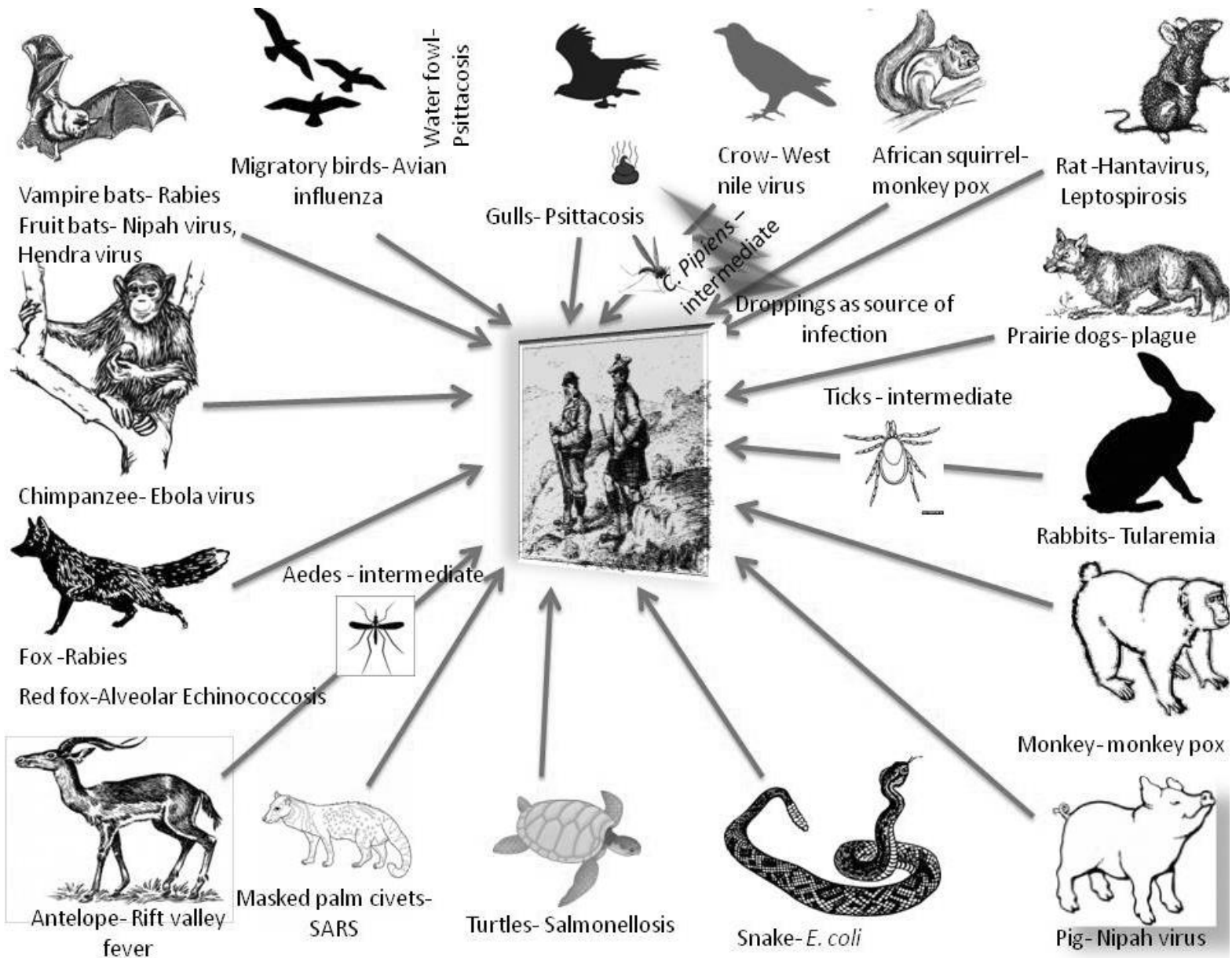


- НРЛ „Рикетсии и клетъчни култури“, Отдел Вирусология, Национален Център по Заразни и Паразитни Болести
- НРЛ „Хепатитни вируси“, Отдел Вирусология, Национален Център по Заразни и Паразитни Болести
- Национален Диагностичен Научноизследователски Ветеринарномедицински Институт “Проф. Д-р Г. Павлов“, Българска Агенция по Безопасност на Храните (БАБХ)
- Български ветеринарен съюз
- ЦОРХВ

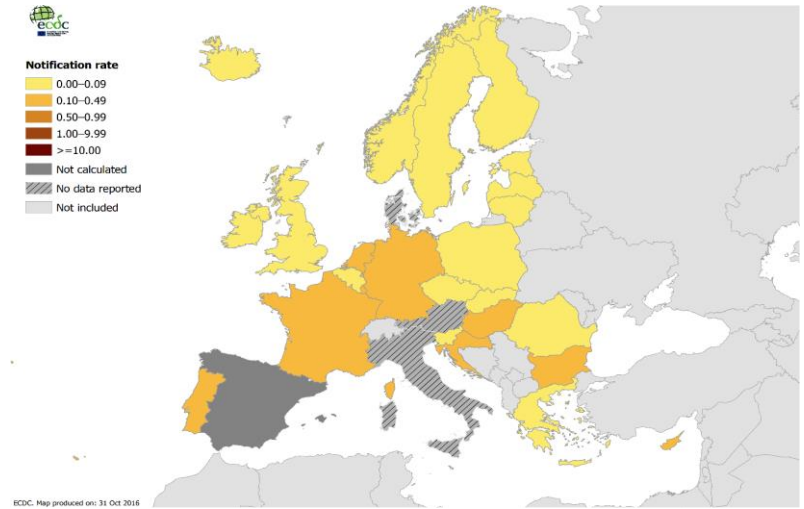
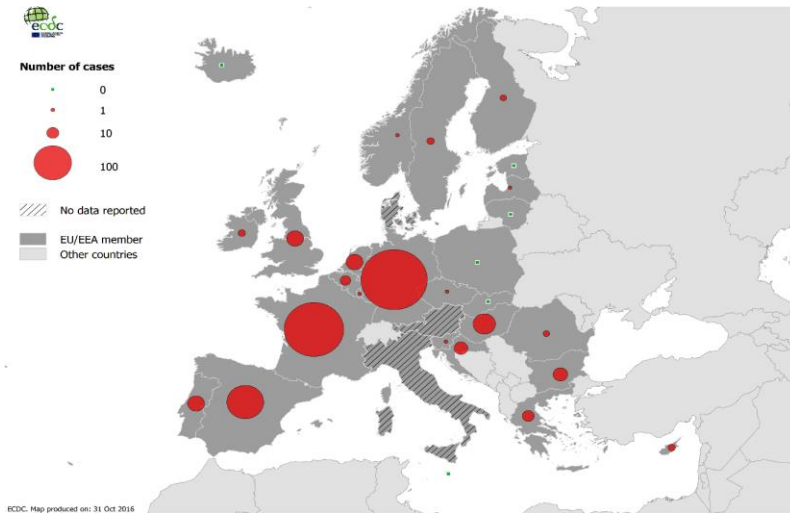
# ЗООНОЗНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

- Зоонозните заболявания са постоянно увеличаваща се група инфекции, проявяващи се под формата на взривове и епидемии, с тежки за индивида и обществото здравни и икономически последици
  - Лесно разпространение  $\Leftarrow$  глобализация и миграция...
    - Увеличено търсене на животински протеини;
    - Неустойчива интензификация на селското стопанство;
      - Изменение на климата;
  - Неустойчиво използване на природни ресурси, промени в земеползването и добивната промишленост;
    - Някои микроорганизми RG 3/4 биха могли да се използват за биотероризъм.
      - Поради географското положение на Р. България, климатичните промени и интензивното движение на хора (вкл. бежанци и имигранти) и животни, у нас съществуват условия за възникване на такива случаи и взривове (вносни и автохтонни).





## Ку-треската – неподозирана опасност



### ➤ Етиологичен причинител – *Coxiella burnetii*;

- Инфекциозният причинител има изключително широк кръг гостоприемници, включващ почти всички домашно отглеждани животни, а също и дивите животински популации.
- Интересът към нея непрекъснато нараства, поради неизяснените все още факти относно характера на епидемичния процес, проявяващ се при хората като единични случаи, често без видима връзка с вероятните източници на инфекция, самоограничаващи се спорадични взривове с локален характер или епидемии с различен интензитет; сходната клинична картина с други заболявания, затрудняващо ранното диагностициране, възможностите за хронифициране, икономическите щети, които нанася и др.

# Трансмисия

- Инхалаторно
  - Фецес, урина, мляко
- Контактен път
- Алиментарно
- При кръвосмучене от кърлежи
- Най-голямо количество коксии се съдържат в плацентата, околоплодните ципи и течности на болните животни



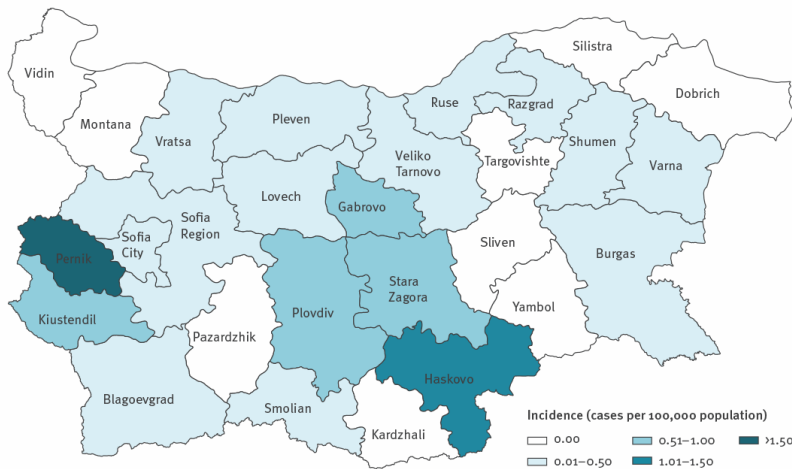
## От Човек – на човек (рядко)

- Вътреутеринно
- Перинатално заразяване на плода
- Инфектиране на детето при кърмене от болна майка
- Хемодиализа
- Трансплантация на костен мозък
- Подкожна инокулация
- Сексуален път на предаване



# Ку-треската все по-актуална за България

- Ку-инфекцията е водеща по значение и разпространение рикетсиоза в България.
- В продължение на повече от 60 год. в страната са наблюдавани многобройни спорадични случаи, малки и големи епидемии, обхващащи от няколко десетки до стотици заболели лица.
- Тя подлежи на задължителна регистрация, съгласно действащата Наредба № 21/2005 г. за реда на регистрация, съобщаване и отчет на заразните болести (обн. ДВ бр. 62/2005 г.).

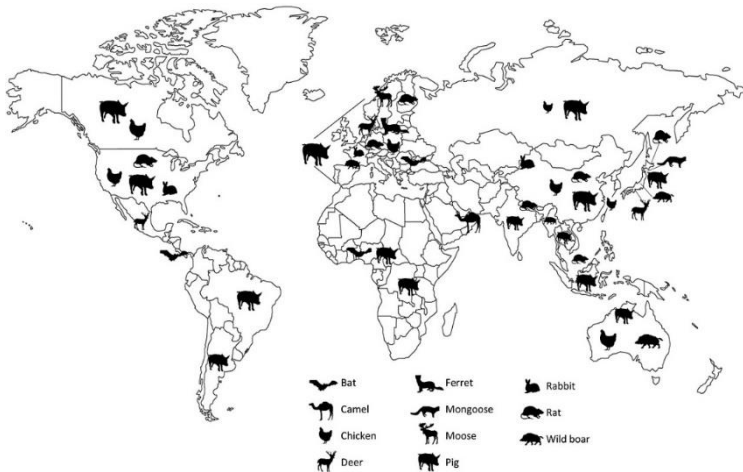


## Reference:

1. Genova-Kalou P, Vladimirova N, Stoitsova S, Krumova S, Kurchatova A, Kantardjiev T. Q fever in Bulgaria: Laboratory and epidemiological findings on human cases and outbreaks, 2011 to 2017. *Euro Surveill.*, 2019; 24(37):1900119. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.37.1900119.
2. Genova-Kalou, P., Krumova, S., Parvanov, M., Stefanova, R., Marinov, R., Andonova, I., Dyankov, G., & Simeonov, K. Serological and Molecular Detection of Coxiella Burnetii in Clinical Samples from Veterinarians and Cattle Farm Workers from Gabrovo Region, Bulgaria. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*, 2021, 81(1), 92–99. [https://asrjetsjournal.org/index.php/American\\_Scientific\\_Journal/article/view/7017](https://asrjetsjournal.org/index.php/American_Scientific_Journal/article/view/7017)
3. Panaiotov S, Ciccozzi M, Brankova N, Levterova V, Mitova-Tiholova M, Amicosante M, Rezza G, Kantardjiev T. An outbreak of Q fever in Bulgaria. *Ann Ist Super Sanita.*, 2009;45(1):83-6.

## HEV infection and HEV Ab prevalence among blood donors and different populations, characterized with increased risk for symptomatic infection

- Hepatitis E virus (HEV) is an enteric RNA virus detected in a wide range of hosts worldwide, including human, pigs, rabbits, wild boars, rats, red deer, birds and other animals
- In most cases, in humans, HEV infection is asymptomatic and can turn into self-limited acute hepatitis
- Among immunocompromised patients (solid organ transplant recipients, patients with pre-existing liver disease) the HEV infection may progress to chronic hepatitis
- In Bulgaria, HEV infection is sporadic and is caused by locally distributed viral strains (HEV genotype 3)



Studied population	HEV Ab prevalence % (N)	HEV RNA prevalence % (N)	Year of study
Hematology pediatric patients	69,0 (11/16)	NA	2022
HIV-infected patients	10,9 (34/312)	0	2022
Blood donors	15,9 (15/94)*	0	2023
Kidney recipients	8,7 (2/23)*	4,3 (1/23)	2023
Patients with Gillian–barre syndrome	24,5 (12/49)*	2,0 (1/49)	2023
Patients with Lyme disease	12,7 (12/94)*	0	2023
Patients with liver involvement and a clinical diagnosis other than viral hepatitis A to E	17,8 (10/56)*	0	2023
Patients on hemodialysis	5,9 (13/218)*	0	2023

Legend: HEV prevalence was expressed as a percentage of positive samples out of the total tested samples for the population;  
 NA – not applicable (the analysis was not performed;\* the prevalence was evaluated for past HEV infection (IgG+)/IgM(-))  
 40th Annual meeting of the ESPID, Athens & online, 9-13 May 2022; Brazilian Journal of Infectious Diseases, 2022, 26 (1):102329; Life. 2023, 13(6):1345



# Хепатит Е – зооноза в постоянно развитие



- It is hypothesized that animals are the main reservoir for human infection which emerged the occupational risk of infection among veterinarians and animal keepers.
- Different routes of zoonotic HEV transmission have been recognized, including contact with infected animals and their environment

## HEV серопревалиране сред домашни и диви животни

Animal species	Total number of studied samples	HEV Ab prevalence %
Pig	85/433	40,0/60,0
East Balkan swine	171	82,5
Wild boar	32	12,5
dog	90	21,1
cat	90	17,7
horse	180	8,3
cattle	180	7,7
sheep	90	32,2
goat	90	24,4

*C. R. Acad. Bulg. Sci. 2018, 71(7): 1001- 1008; Pathogens. 2020, 9(11): 911; Animals (Basel). 2020, 10 (9): 1521; Viruses. 2023, 15(7): 1594*

## HEV серопревалиране сред рискови групи

Country	Studied populations	anti-HEV IgG prevalence % (N)
China	swine workers	75,9 (340)
	general population	50,1 (425)
China	swine workers	67 (52)
	general population	20 (2572)
Denmark	farmers	50 (283)
	general population	33 (167)
Italy	swine workers	3,3 (92)
	general population	2,9 (3511)
Moldova	swine workers	51 (264)
	general population	25 (255)
The Netherlands	veterinarians	11 (49)
	general population	2 (648)
Spain	swine workers, veterinarians	19 (97)
	general population	4 (101)
Sweden	swine workers	13 (115)
	general population	9,3 (108)
Taiwan	swine workers	27 (30)
	general population	8 (50)
USA	swine workers	10,9 (165)
	general population	2,4 (127)
USA	swine veterinarians	23 (295)
	general population	16 (400)

*Occupational Medicine. 2015, 65 (8): 667–672*

## Рискови групи за заразяване с Ку-треска и хепатит Е вирус:

- ✓ Фермери и производители
- ✓ Пастири
- ✓ Ветеринарни доктори и техници
- ✓ Касапи и работници в кланиците
- ✓ Лабораторни работници
- ✓ Гледачи на животни
- ✓ Имунокомпроментирани



**Настоящото изследване има за цел да оцени серологичното разпространение на *S. burnetii* и HEV сред ветеринарни лекари на свободна практика от различни административни области на България.**

# Материали и методи

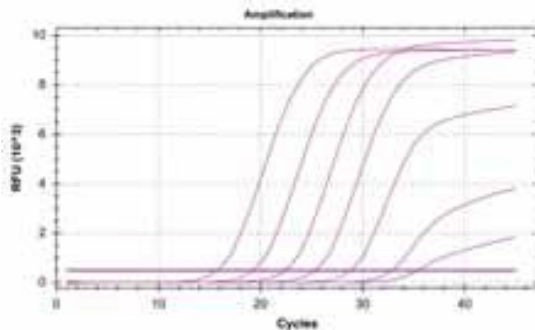


## Клинични проби

В периода 2021 – 2023 г. са изследвани в НРЛ „Рикетсии и клетъчни култури”, НЦЗПБ общо 238 клинични проби (серуми) от ветеринарни лекари на свободна практика. Изследването е организирано и спонсорирано от БВС.

През 2023 г. са изследвани в НРЛ „Хепатитни вируси”, НЦЗПБ от общо 238 клинични проби (серуми) от ветеринарни лекари на свободна практика, 75броя за наличие на anti-HEV IgM/IgG антитела.

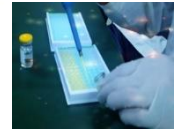
Детекция на PCR продуктите чрез real-time PCR Viasure multiplex PCR (Borrelia, Coxiella, Anaplasma)



## Серологични методи

Индиректен имуноензимен полуколичествен анализ (ELISA) за диагностика на IgM/IgG Ph. II антитела срещу *Coxiella burnetii* в човешки серум (ELISA *Coxiella burnetii* Phase II IgG/IgM) и IgM/IgG (ELISA HEV) за доказване на антитела срещу HEV

✓ Отчитането на крайния продукт се извършва спектрофотометрично при дължина на вълната 405/650 nm за *Coxiella burnetii* Ph. II и 450/620 nm за HEV.



## Молекулярно-биологични методи

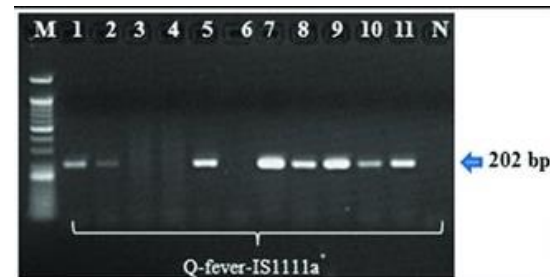


- Екстракция на инфекциозна ДНК (QIAamp DNA Mini kit)

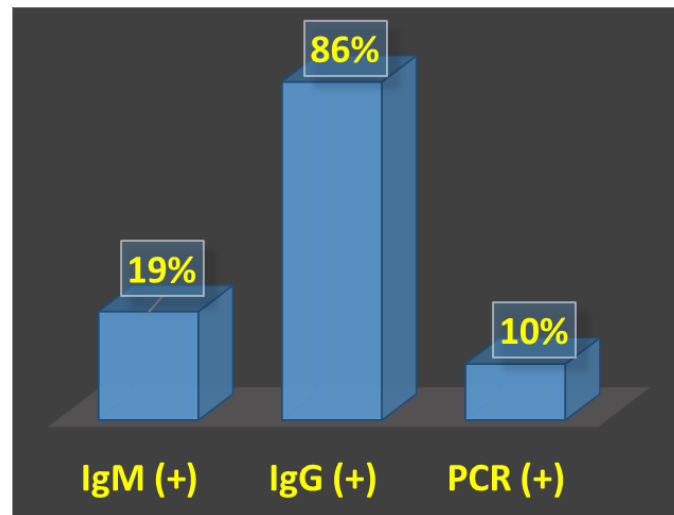
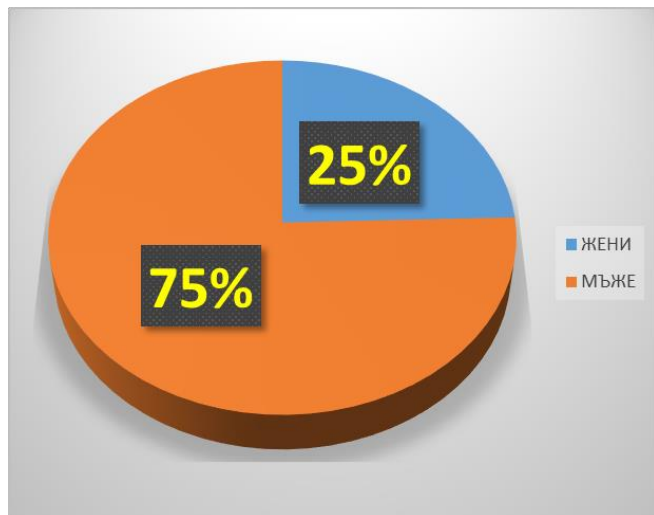
- Ампликация (конвенционален PCR, *AmpliTaq Gold PCR Master Mix Kits*) с консенсусни праймери за доказване на специфичен ДНК регион

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

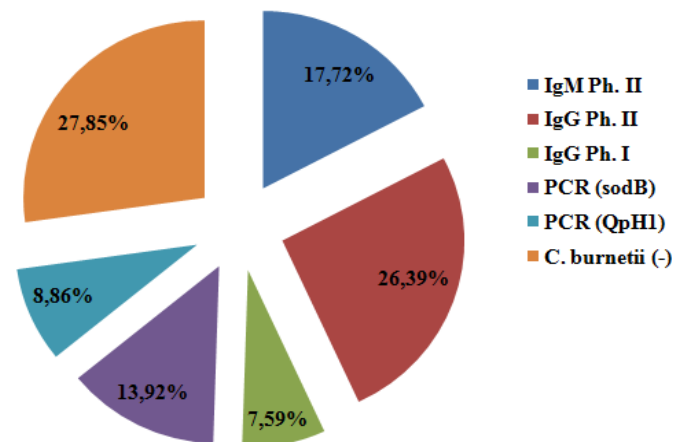
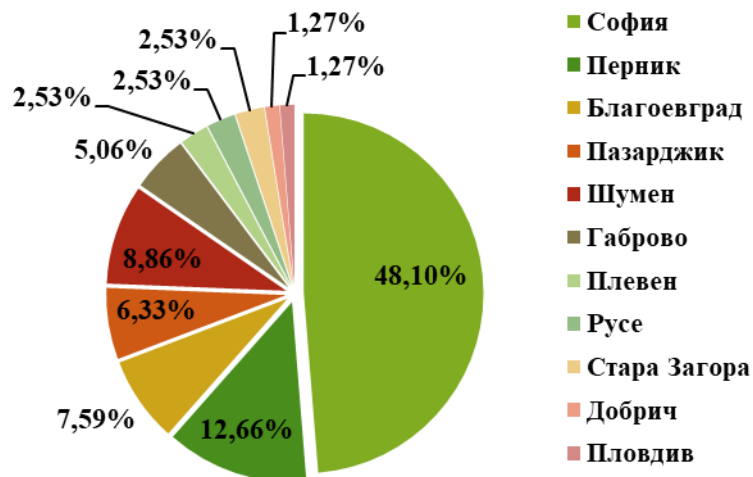
Праймери	Секвенция (5' → 3')	Концентрация (pmol/μl)	Дължина (бази)	Дължина на ампликона
*Специфични праймери за генетичната област IS1111 на <i>C. burnetii</i>				
<i>Trans 1</i>	5' ACT CAA CGC ACT GGA ACG GC 3'	100	20	202 bp
<i>Trans 2</i>	5' TAG CTG AAG CCA ATT CGC C 3'	100	19	



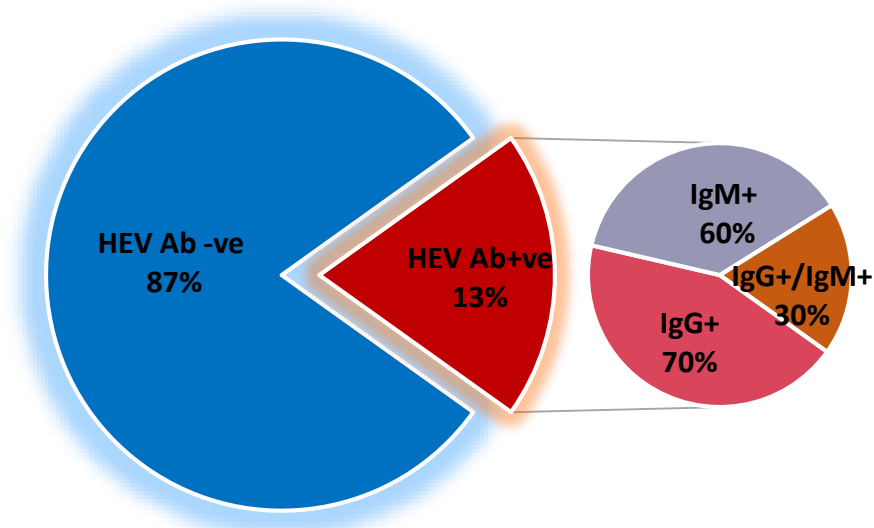
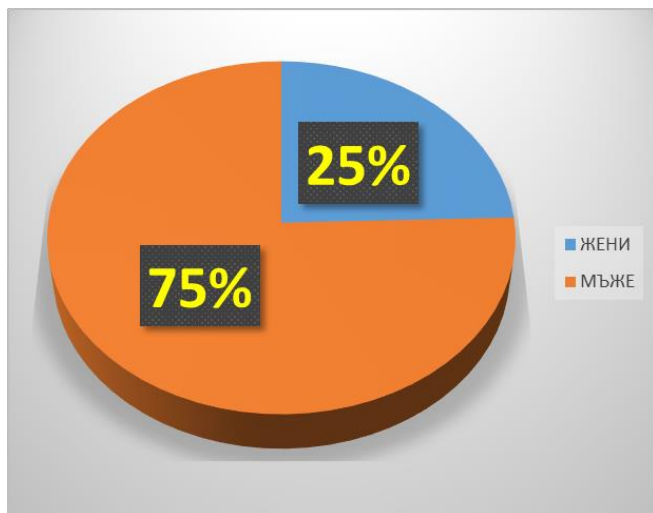
# Резултати от проведени серологични и молекулярно-генетични изследвания за доказване на Ку-треска сред български ветеринарни лекари на свободна практика



Честота на доказване на изследваните диагностични маркери



## Резултати от проведени серологични изследвания за доказване на HEV сред български ветеринарни лекари на свободна практика



Подобна анти-HEV серопозитивност от 10% беше установена сред ветеринарните лекари и от други автори. Завишен процент позитивност (17%) е доказана сред практикуващи с дребни животни, но най-високият процент на серопозитивност (23%) е открит сред лекари, работещи със свине (Zoonosis Public Health, 2017; 64: 232-238)

## Участниците в проучването продължават реализацията на широк спектър от дейности по редица проекти

- Проект BG05M20P001-1.002, финансиран от ОП „Наука и образование за интелигентен растеж“ 2014 - 2024, съфинансирана от Европейския съюз

*„Фундаментални, транслиращи и клинични изследвания в областта на инфекциите и инфекциозната имунология”*

- Проект към ФНИ: № КП-06-НЗЗ/3 от 13.12.19 г.:

*Тема: „Молекулярно-генетична идентификация и създаване на архивна геномна банка на циркулиращите човешки и животински *S. burnetii* генотипове и определяне на тяхната роля като особено опасни инфекциозни агенти, причиняващи епизоотични и епидемиологични взривове на територията на Р. България”*

- Проект към ФНИ: № КП-06-НЗЗ/2 от 13.12.2019 г.

*Тема: „”*

## Международно и национално сътрудничество

- Успешно участие в международни схеми за оценка качеството на диагностика на зоонози, организирани от:

WHO

CDC, Atlanta

ECDC

ISS, Italy

IHU, France

INSTAND, Germany

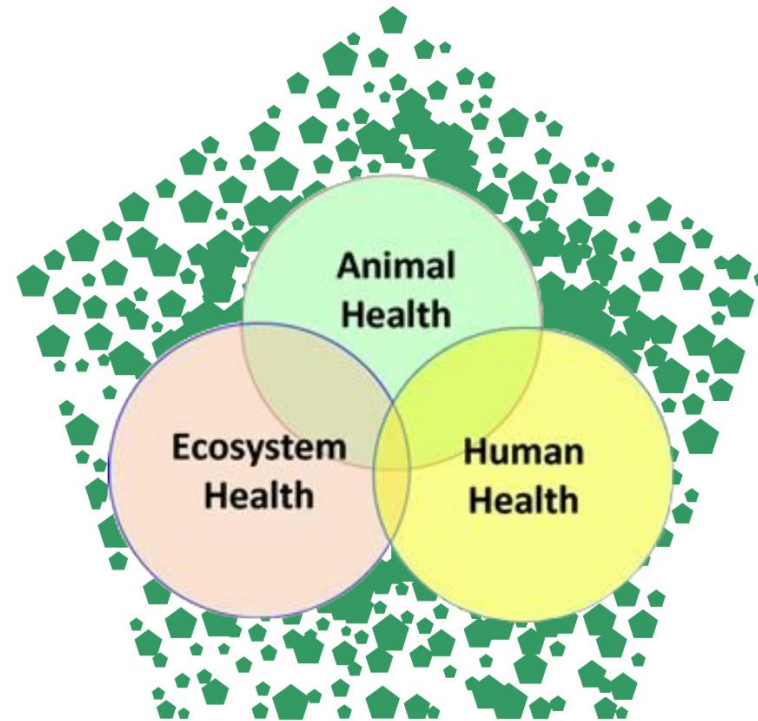
- Успешно сътрудничество с български институции:

ЦОРХ

БАБХ

БВС

- Участия в мероприятия, организирани от ECDC, EFSA, WHO.



**Благодаря за вниманието!**