

Sławomir A. Pancewicz, Alicja Januskiewicz, Teresa Hermanowska-Szpakowicz

OBECNOŚĆ PRZECIWCIAŁ PRZECIWKO *BORRELIA BURGDORFERI* WŚRÓD MIESZKAŃCÓW PÓŁNOCNO-WSCHODNIEJ POLSKI

Klinika Chorób Pasożytniczych i Neuroinfekcji AM w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. *T. Hermanowska-Szpakowicz*
Oddział Wewnętrzny Szpitala MSW w Białymstoku
Ordynator: dr med. *A. Januskiewicz*

*Celem pracy była ocena częstości wykrywania przeciwciał przeciw *Borrelia burgdorferi* wśród mieszkańców północno-wschodniej Polski. Badaniem objęto 1765 osób w tym 610 kobiet i 1155 mężczyzn w wieku od 3 do 78 lat. Obecność przeciwciał przeciw *Borrelia burgdorferi* stwierdzono u 418 osób tj. 23,68%.*

Borelioza czyli krętkowica kleszczowa jest chorobą przewlekłą, wielonarządową przenoszona przez kleszcze z gatunku *Ixodes: I. ricinus, I. persulcatus, I. dammini, I. scapularis*. (1, 14) Spośród kleszczy występujących w Polsce największe znaczenie epidemiologiczne ma *I. ricinus*. Czynnikiem etiologicznym boreliozy z Lyme jest bakteria *Borrelia burgdorferi (B.b)*, należąca do rodziny *Spirochaetaceae*, rodzaju *Borrelia* (5). Wśród szczepów *B. burgdorferi Baranton* i wsp. wyodrębnił różniące się antygenowo genogatunki: 1. *Borrelia burgdorferi sensu stricto* – szczepy izolowane w Europie i USA, 2. *Borrelia garini* – szczepy izolowane w Europie i Japonii, 3. genogatunek VS461 i *B. afzelii* – szczepy izolowane w Europie i Japonii. W USA izolowanym gatunkiem jest *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, natomiast w Europie występują pozostałe genogatunki *B.b.* (3). Do oceny sytuacji epidemiologicznej boreliozy wykorzystywane są badania bakteriologiczne kleszczy. *Matuschka* w 1992 r. wykazał, że na terenie Europy zakażenie kleszczy *B.b.* wynosi 15%, a wg. *Gustafsona* sięga ono od 11 do 34% (14, 20). *Wegner* i wsp. przebadali występowanie *B.b.* w kleszczach *I. ricinus* na terenie województwa białostockiego i stwierdzili, że odsetek zakażonej populacji wynosi od 4 do 15,6% (26). Badania *Sińskiego* i wsp. na terenie Katowic wykazały 30% zakażonych kleszczy tym krętkiem (24).

Do zakażenia człowieka dochodzi poprzez przedostanie się krętka z kałem, wymiocinami, śliną kleszcza, podczas ukłucia w skórę człowieka. *Matuschka* uważa, że największe ryzyko zakażenia *B.b.* związane jest przede wszystkim ze stadium nimfy kleszcza (zakażona w 18%) (21). Larwa jest rzadziej zakażona (około 0,7%), natomiast postaci dorosłe są szybciej zauważane i usuwane przez człowieka (20).

W diagnostyce boreliozy podstawową metodą jest wykrywanie swoistych przeciwciał przeciwko antygenom *B.b.* przy użyciu testów immunofluorescencji pośredniej

(IFA) lub bardziej czułych i specyficznych testów immunoenzymatycznych ELISA jak i Western blot. Istotne znaczenie dla diagnostyki serologicznej ma obserwacja dynamiki narastania miana przeciwciał. Miano przeciwciał w klasie IgM osiąga maksymalne wartości między 3 a 6 tygodniem od początku choroby, po czym obniża się, mogąc utrzymywać w surowicy przez szereg miesięcy. Natomiast wytwarzanie swoistych przeciwciał w klasie IgG następuje znacznie wolniej, w 4–6 tygodniu od zakażenia, osiągając maksymalne wartości po miesiącach lub latach, utrzymuje się nawet w okresie remisji choroby (2, 3, 6, 7, 9, 10, 16). Obecność przeciwciał przeciw *B.b.* można stwierdzić we krwi, płynie mózgowo-rdzeniowym oraz w płynie stawowym (17). Najbardziej czułą i swoistą metodą jest wykrywanie kwasów nukleinowych krętka przy użyciu polimerazowej reakcji łańcuchowej – PCR (16, 17). Swoiste metody potwierdzenia zakażenia opierają się także na izolacji i hodowli krętka głównie w ostrej fazie choroby. Uzyskuje się je ze zmian skórnych, surowicy, płynu mózgowo-rdzeniowego, płynu stawowego. Hodowla jest trudna i żmudna, trwa co najmniej 2–5 tygodni lub dłużej. Jest to badanie o 100% swoistości, jednak o małej czułości diagnostycznej. Wykazano, że częstość wyhodowania *B.b.* zależy od fazy choroby, najwyższe w ECM – około 70%, a w zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych lub stawów spada do 7–10% (16, 25).

MATERIAŁ I METODY

Celem pracy była ocena częstości występowania przeciwciał przeciw *B. burgdorferi* wśród mieszkańców północno-wschodniej Polski.

Badaniami przesiewowymi objęto 1765 osób w tym 610 kobiet w wieku od 3 do 67 lat ($\bar{x}=35$) oraz 1155 mężczyzn w wieku od 3 do 78 lat ($\bar{x}=40,5$) mieszkańców województw: białostockiego, suwalskiego i łomżyńskiego.

Do wykrycia przeciwciał przeciw *B.b.* IgM i IgG stosowano test immunoenzymatyczny ELISA z użyciem zestawów: 1. Borrelia Recombinant – firmy Biomedica (Austria), (antygen p. 21, p. 41 i p. 100) 2. Lyme Borreliosis – firmy DAKO (Dania) pozwalający wykrywać przeciwciała klasy IgM i IgG przy użyciu antygeny p. 41. U każdego badanego w czasie pobierania krwi analizowano wywiad epidemiologiczny wg ankiety uwzględniającej dane takie jak: pokłucie przez kleszcze, czas i miejsce ekspozycji, zawód, obecność rumienia wędrującego i objawów neurologicznych, dolegliwości ze strony układu sercowo-naczyniowego oraz układu ruchu.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu testu t. Studenta dla danych łączonych w pary i dla dwóch średnich. Wartość $p < 0,05$ przyjęto jako istotność statystyczną. Badania przeprowadzono od stycznia 1993 do czerwca 1995 roku.

WYNIKI

Wśród 1765 osób objętych badaniami przesiewowymi u 418 (23,7%) stwierdzono obecność we krwi przeciwciał przeciw *B.b.* W grupie 610 badanych kobiet wykryto ich obecność u 136 (22,3%), natomiast spośród 1155 badanych mężczyzn u 282 (24,4%) osób. U 677 mieszkańców miast obecność przeciwciał przeciw *B.b.*

stwierdzono u 149 (22,0%) a wśród 1088 mieszkańców wsi u 269 (24,7%). Spośród 895 osób na stałe związanych z pracą w lesie (leśnicy, pracownicy leśni, drwale, szkółkarze, rolnicy i żołnierze służb nadgranicznych) obecność przeciwciał wykazano u 219 osób (24,5%). W grupie pozostałych 870 osób okresowo odwiedzających lasy (wyjazdy rekreacyjne, zbieracze grzybów, jagód) obecność przeciwciał stwierdzono u 199 (22,9% badanych).

Jak wynika z tabeli I obecność przeciwciał wykryto w każdej grupie wieku. Najmłodsza osoba, u której stwierdzono ich obecność miała 4 lata, a najstarsza 78 lat. Najwięcej osób posiadających przeciwciała stwierdzono w grupie wieku 11–20 lat tj. u 36 (30,2%) badanych. Zwraca uwagę fakt, iż u osób aktywnych zawodowo, tj. w wieku od 21 do 60 lat obecność przeciwciał stwierdzono w podobnym odsetku 23 do 24%. U osób powyżej 60 r. życia odsetek dodatnich serologicznie był znacznie niższy (tab. I).

Tabela I. Wykrywalność przeciwciał przeciw *Borrelia burgdorferi* klasy IgM i IgG wśród 1765 przebadanych osób w poszczególnych grupach wiekowych

Wiek w latach	Liczba badanych osób n	Liczba osób z obecnością przeciwciał przeciw <i>Borrelia burgdorferi</i> n=418							
		Ogółem		IgM		IgG		IgM + IgG	
		n	%	n	%	n	%	n	%
0–10	51	12	23,5	–	–	12	2,9	–	–
11–20	119	36	30,2	–	–	36	8,6	–	–
21–30	213	49	23,0	4	1,0	45	10,8	–	–
31–40	496	119	24,0	14	3,3	101	24,2	4	0,9
41–50	418	100	23,9	11	2,6	85	20,3	4	0,9
51–60	365	87	23,8	5	1,2	80	19,1	2	0,5
61–70	85	13	15,3	–	–	13	3,1	–	–
> 70	18	2	11,1	1	0,2	1	0,2	–	–
Razem	1 765	418	23,7	35	8,3	373	89,2	10	2,3

W grupach wieku od 0 do 20 i od 61 do 70 lat stwierdzono przeciwciała p. *B.b.* jedynie w klasie IgG. Natomiast u osób aktywnych zawodowo, tj. w wieku od 21 do 60 lat, wykazano ich obecność również w klasie IgM. Najliczniejszą grupą badanych były osoby w wieku 31–40 lat, u których w 14 przypadkach (3,3%) wykryto obecność przeciwciał p. *B.b.* klasy IgM a u 101 badanych (24,2%) klasy IgG. Tylko u 4 osób tej grupy (0,9%) wykazano obecność przeciwciał w obu klasach tj. IgM i IgG. Podobnie w grupie wieku 41–50 lat obecność przeciwciał p. *B.b.* klasy IgM wykryto u 11 osób – 2,6%, klasy IgG u 85 badanych – 20,3% a ich obecność w obu klasach u 4 (0,9%) badanych. Również u osób w grupie wieku 51–60 lat wykazano przeciwciała p. *B.b.* w klasie IgM u 5 badanych (1,2%), w klasie IgG u 80 (19,1%) a u 2 badanych zarówno w klasie IgM jak i IgG (tab. I).

W grupie 418 osób, u których wykazano we krwi obecność przeciwciał p. *B.b.* przeprowadzono analizę częstości zgłaszanych pokluc przez kleszcze. Jak uwidoczniło w tabeli II najliczniejszą grupę, tj. 78,5%, stanowiły osoby, które podały w wywiadzie wielokrotne poklucia przez kleszcze. Zwraca uwagę fakt, że 24 (5,7%) osoby stanowczo

Tabela II. Częstość zgłaszanych pokuć przez kleszcze w grupie 418 osób z obecnością przeciwciał p. *B. burgdorferi*.

Ukłucia	Ogółem		Przeciwciała przeciw <i>Borrelia burgdorferi</i> w klasie					
			IgM		IgG		IgM + IgG	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Jednorazowe	66	15,8	5	14,2	59	15,8	2	20,0
Wielokrotne	328	78,5	29	82,0	291	78,0	8	80,0
Nie ustalono	24	5,7	1	2,9	23	6,2	–	–
Razem	418	100	35	100	373	100	10	100

Tabela III. Liczba osób z wykrytymi przeciwciałami przeciw *B. burgdorferi* wśród mieszkańców badanych miejscowości

Nazwa miejscowości	Liczba badanych	Liczba osób z wykrytymi przeciwciałami p. <i>B. burgdorferi</i>	%
Drygały	61	12	19,6
Gruszki	78	16	21,8
Głęboki Bród	101	25	24,85
Hajnówka	8	1	12,5
Dojlidy	119	27	22,7
Żednia	91	16	17,6
Pisz	71	16	22,6
Ruciane Nida	111	36	32,4
Białystok Dyr. Lasów	46	16	34,8
Suwałki	115	25	22,6
Szczebra	111	20	28,0
Białystok Biuro Urządzania Lasów	57	8	14,0
Rajgród	70	17	25,0
Nieznany Bór	51	9	17,6
Białowieża	25	2	8,0
Wierobie	49	21	42,9
Gródek	25	6	24,0
Osoby badane w Kl. Chor. Pasożytniczych i Neuroinfekcji	574	145	25,3
Razem	1765	418	23,6

wykluczyły kontakt z kleszczem. Osoby, u których wykazano obecność przeciwciał klasy IgM, IgG oraz IgM + IgG najczęściej podawały wielokrotne ukłucia, co odpowiednio wynosi: w klasie IgM – 82%, w klasie IgG – 78% i IgM + IgG – 80% (tab. II).

Analizując miejsce zamieszkania badanych stwierdzono, iż największy odsetek osób posiadających przeciwciała p. *B.b.*, wynoszący 42,86%, wykryto u mieszkańców wsi Wierobie leżącej na obszarze Puszczy Knyszyńskiej (tab. III). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż zaledwie u 8% badanych mieszkańców Białowieży wykazano obecność przeciwciał p. *B.b.*

OMÓWIENIE

W Polsce ukazują się coraz liczniejsze doniesienia o występowaniu boreliozy zwłaszcza na terenach zalesionych: Pomorza i Pojezierza Zachodnim, Mazurach, Puszczy Białowieskiej, Karpackiej oraz w Karkonoszach (4, 18, 24, 25, 26). Odsetek osób z dodatnimi odczynami w kierunku boreliozy w grupach wysokiego ryzyka wg różnych autorów waha się od 3,2% w województwie ostrołęckim, 12,2% szczecińskim, 13,2% krośnieńskim, 20% w słupskim, 25% olsztyńskim do 34% w Karkonoszach (4, 18, 24, 25, 26). W Białowieży wg *Flisiaka* i wsp. odsetek ten wynosił 49,7% (11). W Europie częstość wykrywania przeciwciał p. *B.b.* wynosi w Holandii 19%, w Szwecji 19–25%, w Szwajcarii 22,1%, w Bawarii 34,7% a w Chorwacji 43% (1, 8, 12, 13, 14, 15).

Zyskane przez nas wyniki wskazują na obecność przeciwciał p. *B.b.* u 23,8% ogółu badanych: w grupie wysokiego ryzyka u 24,5% badanych i w grupie osób nie związanych zawodowo z pracą w lesie u 22,9% badanych. Do grupy tej należały osoby uczęszczające do lasu w celach rekreacyjnych oraz zajmujące się zbieraniem runa leśnego. Wykazane różnice były niewielkie i były nieistotne statystycznie ($p < 0,43$).

Białostoczczyzna obfituje w liczne obszary leśne, położone blisko miast. *Buczek* i wsp. wykazali także, iż kleszcze *I. ricinus* występują nie tylko w lasach ale również w parkach i ogrodach miast, co stwarza dogodne warunki do częstej infestacji ludzi (4). Potwierdzeniem tych informacji są przytoczone powyżej wyniki naszych badań.

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt wykrycia obecności przeciwciał p. *B.b.* aż u 34,8% pracowników Okręgowej Dyrekcji Lasów Państwowych, mieszczącej się w Białymstoku. Pracownicy ci z racji pełnionych funkcji jedynie okresowo przebywali w ostępach leśnych Polski północno-wschodniej (wizytacje, kontrole terenowe) i nie zawsze w wywiadzie zgłaszali pokłucie przez kleszcze.

Natomiast wśród pracowników Nadleśnictwa Dojlidy – położonego częściowo w obrębie granic miasta Białegostoku odsetek dodatnich odczynów serologicznych wykazujących obecność przeciwciał p. *B.b.* wynosił 22,7%. Świadczyć to może o tym, iż do zakażenia krętkiem *B. burgdorferi* może dojść w różnych okolicznościach i nie zawsze konieczne jest długie narażenie człowieka na ekspozycję kleszczy.

Wg *Kantora* i *Piesmana* przekazanie zakażającej dawki krętka *B. burgdorferi* wymaga pozostania kleszcza w skórze człowieka przez 36–48 godzin (19, 23). Może to tłumaczyć fakt, iż w naszym materiale tylko 15,8% osób z obecnością przeciwciał p. *B.b.* zgłaszało jednorazowe pokłucie przez kleszcze, natomiast aż u 78,5% osób surowiczo-dodatnich były to pokłucia wielokrotne. Jednak 5,7% badanych mimo wykrycia w surowicy obecności przeciwciał p. *B.b.* zaprzeczało możliwości jakichkolwiek kontaktów z kleszczami.

Z badań *Wegner* i wsp. wynika, że zakażenie krętkiem *B. burgdorferi* w Puszczy Białowieskiej dorosłych kleszczy wynosi 14%, a nimf 6,4% a na terenie Puszczy Knyszyńskiej odpowiednio 9,3% i 6,3%. Krętki stwierdzano przez cały okres badań tj. od kwietnia do października (26).

W badaniach własnych u 25 mieszkańców Białowieży wykryto tylko u 8% badanych obecność przeciwciał p. *B.b.* co w porównaniu z wynikami badań *Flisiaka* i wsp.

jest odsetkiem znacznie niższym (11). Różnice w uzyskanych wynikach tłumaczymy faktem badania przez nas pracowników służb pogranicza przebywających od roku na terenie Puszczy Białowieskiej.

Wg danych zamieszczonych w Morbidity and Mortality Weekly Report w 1990 r. za region endemiczny boreliozy uważa się taki, w którym wykryto i potwierdzono co najmniej 2 przypadki zachorowań u ludzi a u kleszczy wykryto obecność krętka *Borrelia burgdorferi* (22). Ocena stanu zdrowia 418 osób z obecnością przeciwciał p. *B.b.* będzie przedmiotem następnego doniesienia.

PODSUMOWANIE

W oparciu o przeprowadzoną analizę wyników badania 1765 mieszkańców północno-wschodniej Polski stwierdzono że:

1. 23,68% osób posiada w surowicy przeciwciała p. *B. burgdorferi*. Podobny odsetek osób dodatnich serologicznie wykryto zarówno wśród stałych pracowników leśnych jak i osób nie związanych zawodowo z pracą w lesie.

2. Region północno-wschodni Polski można uznać za region endemiczny występowania krętka *B. burgdorferi*.

S.A. Pancewicz, A. Januszkiewicz, T. Hermanowska-Szpakowicz

DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST *BORRELIA BURGDORFERI* AMONG INHIBITANTS OF NORTH EASTERN POLAND

SUMMARY

The aim of this work was to estimate the detection of antibodies against *Borrelia burgdorferi* among inhabitants in North Eastern Poland 1765 persons from Białystok, Łomża and Suwałki voivodships were examined. Among them 1101 persons were from high-risk of exposition to ticks group (forest workers, people living close to forests). 418 (23,68%) persons from group of 1765 had antibodies against *B.b.* There was no differency of incidence of antibodies against *B.b.* in high-risk group and the others. The results show that North Eastern Poland is the endemic region of occurrence of *B.b.*

PIŚMIENNICTWO

1. Anderson J.F.: Scand. J. Dis. Supp., 1991, 77, 23. – 2. Asbrink E., Hovmark A.M.: Clin. Derm., 1987, 26, 245. – 3. Baranton G. i wsp.: J. Clin. Invest., 1992, 90, 1077. – 4. Buczek A., Deryło A., Horak B., Koryciak-Kamarska H., Sadowski T., Sebesta R., Siuda K., Solarz K., Szilman P.: Mat. Międz. Symp. Borelioza z Lyme. Białowieża 1995. – 5. Burgdorefer W.: Science, 1982, 216, 1317. – 6. Cooper J.D., Schoen K.T.: Curr. Opin. Rheumatol., 1992, 4/4, 52. – 7. Dennis D.T.: Proceedings of the Second National Conference on the Serologic Diagnosis of Lyme Disease. Dearborn MJ. October 28–29 1994. – 8. Dmitrovic R.: WHO/CDC/95, 141. – 9. Dressler F., Whalen J.A. i wsp.: J. Infect. Dis., 1993, 167, 392. – 10. Feder H.M. Jr., Gerber M.A., Lauger S.W., Ryan R.W.: Clin. Inf. Dis., 1992, 15, 788.

11. Flisiak R., Prokopowicz D., Flisiak I., Bobrowska F., Mięgoć H., Grzeszczuk A., Sulik E., Okolów Cz.: *Przeg. Epid.*, 1994, 3, 211. – 12. Gern L.: WHO/CDS/VPH/95, 141, 12. – 13. Gray J., Cutler S., Robertson J., O'Connell S.: WHO/CDS/VPH/95, 141, 7. – 14. Gustafson R.: *Scand. J. Infect. Dis., Sup.* 92, 1994, 8. – 15. Guy E., Robertson J.: WHO/CDS/VPH/95, 141, 13. – 16. Hansen K.: *Clin. Derm.*, 1993, 11/3, 407. – 17. Huppertz H.J., Schmidt H., Karch H.: *Eur. J. Pediatr.* 1993, 152, 414. – 18. Januszkiewicz J., Kieda A.: *Przeg. Epid.*, 1987, 41, 324. – 19. Kantor F.S.: *Świat Nauki* 1994, XI, 19. – 20. Matuschka F.R., Eiffert H., Ohlenbusch A., Spielman A.: *J. Infect Dis.*, 1994, 170, 122. – 21. Matuschka F.R., Fiszer P., Hiller M., Blumcke S., Spielman A.: *Parasitology Res.*, 1992, 78/8, 695. – 22. *Morbidity and Mortality Weekly Report* January 28, 1991, 40/25, 417. – 23. Piesman J., Maupin G.O. i wsp.: *J. Infect. Dis.*, 1991, 163, 895. – 24. Siński E., Karbowski G., Siuda K., Buczek A., Jongejan F.: *Przeg. Epid.*, 1994, 4, 385. – 25. Tylewska-Wierzbanowska S., Kruszezewska D.: *Nowa Medycyna* 1995, 1, 7. – 26. Wegner Z., Stańczak J., Racewicz M., Kruminis-Łozowska W., Kubica-Biernat B.: *Mat. Międz. Symp. Borelioza z Lyme. Białowieża* 1995.

Adres: Klinika Chorób Pasożytniczych i Neuroinfekcji
15-540 Białystok, ul. Żurawia 14