

Tomasz Chmielewski, Stanisława Tylewska-Wierzbanowska

WYSTĘPOWANIE PRZECIWCIAŁ SWOISTYCH DLA *BORRELIA BURGENDORFERI* U LUDZI ZDROWYCH NA TERENIE POLSKI

Zakład Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: S. Kałużewski

*Zbadano częstość występowania przeciwciał swoistych dla *Borrelia burgdorferi* u ludzi zdrowych (krwiodawców) na terenie Polski. Obecność przeciwciał stwierdzono metodą ELISA u około 12% badanych. Świadczy to o kontakcie z tym drobnoustrojem i możliwości bezobjawowego przebiegu zakażenia. Porównując wyniki badań przeprowadzonych w okresie wiosennym i jesiennym zaobserwowano wzrost częstości występowania przeciwciał klasy IgM we wrześniu, wskazujący na sezonowość występowania zakażeń i tym samym na możliwość zachorowań zgodną z cyklem biologicznej aktywności wektora, kleszcza *Ixodes ricinus*.*

Słowa kluczowe: borelioza z Lyme, badania serologiczne, rozpowszechnienie
Key words: Lyme borreliosis, serosurvey, prevalence

WSTĘP

Borelioza z Lyme jest wieloukładową chorobą zakaźną, której czynnikiem etiologicznym są krętki *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Jest to choroba odzwierzęca, której wektorem są kleszcze z rodzaju *Ixodes*. Zasięg występowania boreliozy z Lyme pokrywa się z zasięgiem ich występowania i obejmuje Amerykę Północną, Europę i centralną część Azji. Może ona przybierać formy od bezobjawowego zakażenia z podwyższonym poziomem swoistych przeciwciał w surowicy krwi, do ciężkich przypadków ze zmianami w obrębie układu nerwowego, kostno-stawowego i krążenia.

Dotychczas przeprowadzone w Polsce badania częstości występowania przeciwciał swoistych dla *Borrelia burgdorferi* obejmowały osoby z grup ryzyka. Wśród pracowników leśnych z makroregionu lubelskiego przeciwciała w surowicy krwi stwierdzono u 27,7% (1), z Białowieży u 43,4% (2) i z Karkonoszy u 67% (3). Ocenia się, że u 2,2% osób, u których stwierdza się przeciwciała, w ciągu najbliższych 6 miesięcy wystąpią objawy choroby (4).

Celem prezentowanej pracy była ocena częstości występowania przeciwciał swoistych dla *B. burgdorferi* w populacji ludzi zdrowych na terenie Polski.

MATERIAŁ I METODY

Zgromadzono próbki surowicy krwi krwiodawców z losowo wybranych województw. Dobór próbek był przypadkowy. Pochodziły one z pobrań w dwóch kolejnych dniach, pierwszej połowy marca. Do czasu wykonania oznaczeń, surowice do badań serologicznych przechowywano w temperaturze -70°C .

Poziom przeciwciał swoistych dla *B. burgdorferi* klasy IgM i IgG oznaczono metodą ELISA stosując zestaw diagnostyczny BORRELIA Recombinant IgM i IgG (BIOMEDICA, Austria). Antygenami diagnostycznymi w tym zestawie są białka swoiste dla *B. burgdorferi*, pochodzące z rekombinantów genetycznych. Dla klasy IgM jest to białko OspC i p41 (wewnętrzna część flageliny między 197 a 241 aminokwasem), dla klasy IgG - p41 (wewnętrzna część) i p100.

Poziom przeciwciał określono na podstawie intensywności zabarwienia, mierzonego fotometrycznie w czytniku ELISA (Metertech 960, Austria) przy długości fali światła 450 nm i 600 nm, a wynik wyrażono jako wartość absorbancji. Jako wynik dodatni przyjęto odczyty absorbancji równe lub większe od wartości granicznej. Za wynik ujemny przyjęto odczyty absorbancji mniejsze o 10% od obliczonej wartości granicznej (*cut off*). Wyniki, których wartość absorbancji była większa od wartości ujemnej, a mniejsza od wartości granicznej uznano za wątpliwie dodatnie.

Z czterdziestu dziewięciu województw podziału administracyjnego kraju sprzed 1999 roku utworzono dwie grupy. Do pierwszej grupy włączono województwa, na terenie których występowały liczne, udokumentowane przypadki boreliozy z Lyme lub wykryto kleszcze zakażone krętkiem *B. burgdorferi*, a do drugiej grupy województwa o niewielkich danych na temat występowania tej choroby. W obu grupach województwa uporządkowano w kolejności alfabetycznej. Każdemu województwu przyporządkowano przedział liczbowy, który odpowiadał liczbie mieszkańców wyrażonej w tysiącach. Z każdej z w/w grup wybrano po 4 województwa posługując się tabelą liczb losowych. Przy takim sposobie doboru badanej grupy przyjęto poziom ufności 0,95. Błąd próby mieścił się w granicach 2% (5).

Analizę statystyczną przeprowadzono testem t-Studenta. Hipotezę zerową dotyczącą braku różnic między odsetkami osób zdrowych ze swoistymi przeciwciałami dla *B. burgdorferi* w surowicy krwi w porównywanych grupach województw odrzucono przy poziomie istotności $p < 0,05$ (5).

WYNIKI

Zbadano 1000 próbek surowicy krwi pochodzących od ludzi zdrowych (krwiodawcy) bez objawów klinicznych boreliozy z Lyme. U wszystkich badanych wykluczono kiłę. W 6 województwach pobrano jednorazowo po 100 próbek surowicy krwi w marcu, a w 2 województwach (warszawskie i katowickie) - dwukrotnie: w marcu i we wrześniu.

U ludzi zdrowych mieszkających w województwach, na terenie których rozpoznawane były w tym czasie udokumentowane przypadki boreliozy z Lyme i znajdowano kleszcze zakażone krętkiem *B. burgdorferi* (grupa I), przeciwciała dla tego drobnoustroju wykryto u 51 zdrowych osób (13% ogółu badanych). Obecność przeciwciał w klasie IgM stwierdzono u 12 osób, w klasie IgG u 37 osób, w obydwu klasach u 2 osób (tab. I).

Tab e l a I. Występowanie przeciwciał swoistych dla *B. burgdorferi* u ludzi zdrowych (krwiodawcy) w wybranych województwach Polski

Table I. Occurrence of specific antibodies to *B. burgdorferi* in healthy people (blood donors) in selected voivodeships in Poland

| Grupa | Województwo* | Odsetek badanych z przeciwciałami | | | |
|-------|---------------|-----------------------------------|-----|-----------|-----------|
| | | IgM | IgG | IgM i IgG | RAZEM (%) |
| I | Łódzkie | 7 | 15 | 1 | 23 |
| | Bielskie | 0 | 16 | 0 | 16 |
| | Poznańskie | 5 | 3 | 1 | 9 |
| | Warszawskie | 0 | 3 | 0 | 3 |
| | RAZEM | 12 | 37 | 2 | 13 |
| II | Katowickie | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | Konińskie | 5 | 1 | 0 | 6 |
| | Piotrkowskie | 7 | 8 | 0 | 15 |
| | Tarnobrzeskie | 7 | 15 | 1 | 23 |
| | RAZEM | 19 | 25 | 1 | 11 |

Badanie wykonano u 100 krwiodawców z każdego województwa w porze wiosennej.

* wg podziału administracyjnego obowiązującego do końca 1998 roku

Poziomy przeciwciał w próbkach surowicy krwi ludzi zdrowych (krwiodawcy) oznaczono metodą ELISA i wyrażono jako wartość absorbancji (wartość graniczna 0,250).

U ludzi zdrowych mieszkających w województwach, w których w tym czasie nie rozpoznawano przypadków boreliozy z Lyme (grupa II), przeciwciała stwierdzono u 45 osób (11%): u 19 w klasie IgM, u 25 w klasie IgG i u jednej osoby w obydwu klasach (tab. I).

Tab e l a II. Występowanie przeciwciał swoistych dla *Borrelia burgdorferi* u ludzi zdrowych (krwiodawców) w sezonie wiosennym i jesiennym na terenie województwa katowickiego i warszawskiego

Table II. Occurrence of specific antibodies to *B. burgdorferi* in healthy people (blood donors) in spring and autumn in Katowice and Warsaw voivodeships

| Województwo* | Pora roku | Odsetek surowic dodatnich (średni poziom przeciwciał)** | |
|--------------|-----------|---|--------------|
| | | IgM | IgG |
| Katowickie | wiosna | 0 (< 250) | 1 (2,653) |
| | jesień | 18 (0,504) | 7 (0,911) |
| Warszawskie | wiosna | 0 (< 0,250) | 3 (0,839) |
| | jesień | 14 (0,581) | 4 (0,985) |

Badanie wykonano u 100 krwiodawców z każdego województwa w porze wiosennej i jesiennej.

* wg podziału administracyjnego obowiązującego do końca 1998 roku

** Poziomy przeciwciał w próbkach surowicy krwi ludzi zdrowych (krwiodawcy) oznaczono metodą ELISA i wyrażono jako wartość absorbancji (wartość graniczna 0,250).

W dwóch województwach, w warszawskim z grupy I i w katowickim z grupy II, między marcem a wrześniem odnotowano wzrost częstości występowania przeciwciał klasy IgM z 0% do 18% u mieszkających w województwie katowickim i z 0% do 14% u mieszkających w województwie warszawskim (tab. II).

DYSKUSJA

Obecność przeciwciał swoistych dla *B. burgdorferi* u 11-13% zdrowych ludzi w Polsce świadczy o kontakcie z tym drobnoustrojem, a równocześnie o bezobjawowym przebiegu choroby. Z przeprowadzonych badań wynika, że w poszczególnych województwach zachorowania na boreliozę z Lyme występują z podobną częstością, co wskazuje na równomierne zagrożenie boreliozą z Lyme na terenie całego kraju i sugeruje, że obszar Polski można uznać za endemiczny dla tej choroby.

Borelioza z Lyme jest chorobą odzwierzęcą, a wektorem przenoszącym zakażenie na człowieka i zwierzęta są różne gatunki kleszczy z rodzaju *Ixodes*. W Europie są to kleszcze z gatunku *Ixodes ricinus*, na terenie Europy Wschodniej i Azji - *Ixodes persulcatus*, a na obszarze Ameryki Północnej - *Ixodes scapularis* obejmujący swym zasięgiem środkowo-zachodnią i wschodnią część tego kontynentu oraz *Ixodes pacificus* występujący w jego części zachodniej (6). W Polsce, tak jak w całej Europie, głównym wektorem są kleszcze *Ixodes ricinus*. Największa aktywność tych kleszczy przypada na miesiące: maj-czerwiec oraz wrzesień-październik (6). Z tym związany jest wzrost liczby zachorowań na boreliozę z Lyme w okresie od lipca do października (7). Badając ludzi zdrowych z danego terenu w marcu i we wrześniu, zaobserwowano wzrost częstości występowania przeciwciał klasy IgM. Potwierdzono tym samym sezonowość kontaktu z kleszczami zakażonymi tym drobnoustrojem i możliwość zachorowania zgodną z cyklem biologicznej aktywności kleszczy.

Występowanie boreliozy z Lyme na terenie Europy i Azji pokrywa się z zasięgiem występowania kleszczy i obejmuje niemal cały kontynent wyłączając jego krańce północne, a najwięcej zakażeń stwierdza się na obszarze Europy Środkowej (8, 9). W przeprowadzonych w Austrii badaniach zdrowej populacji 1162 krwiodawców, przeciwciała swoiste dla *B. burgdorferi* wykryto u 7,7% osób, przy czym krew pobierano w okresie wiosennym, latem i jesienią (10). W badaniach 400 zdrowych osób w Irlandii przeciwciała stwierdzono u 9,75% (11). W Danii odsetek osób zdrowych, u których wykryto przeciwciała wynosił od 2% do 17% - w zależności od rejonu kraju (12). W północnej Szwecji swoiste przeciwciała wykrywano u 1-2% ludzi zdrowych, natomiast na południu odsetek ten był wielokrotnie wyższy, szczególnie wśród osób przebywających na terenach leśnych i wynosił 25,7% (13). We wszystkich cytowanych badaniach oznaczono tylko przeciwciała klasy IgG i w związku z tym nie zaobserwowano sezonowości.

Częstość występowania swoistych przeciwciał w zdrowej populacji krajów Europy Środkowej jest podobna. Na tej podstawie można sądzić, że również zapadalność na boreliozę z Lyme jest tu zbliżona. Z danych epidemiologicznych wynika, że zapadalność w południowej Szwecji wynosi 69, w Czechach około 100, w Austrii 130, w Słowenii 120 na 100 tysięcy ludności (14). W Polsce rzeczywista zapadalność jest prawdopodobnie na tym samym poziomie, choć obliczona na podstawie zgłoszeń wynosi 2-4 na 100 tysięcy ludności (15). Jednak porównując powyższe dane można przypuszczać,

że liczba zachorowań jest znacznie wyższa i może wynosić od 70 do 100 na 100 tysięcy ludności.

Wykonanie przedstawionych badań było możliwe dzięki uprzejmości i współpracy dyrektorów i pracowników Wojewódzkich Stacji Krwiodawstwa w Warszawie, Katowicach, Poznaniu, Koninie oraz Działów Epidemiologii Wojewódzkich Stacji Sanitarno-Epidemiologicznych w Bielsku-Białej, Łodzi, Piotrkowie Trybunalskim i Tarnobrzegu.

T Chmielewski, S Tylewska-Wierzbanowska

PREVALENCE OF *BORRELIA BURGDOFFERI* ANTIBODIES IN HEALTHY POPULATION IN POLAND

SUMMARY

The aim of the study was to estimate the prevalence of *Borrelia burgdorferi* antibodies among healthy population of randomly selected voivodeships in Poland. The presence of antibodies was tested by ELISA. Of 1000 blood samples taken from healthy blood donors, antibodies were detected in 11-13% of samples. The results indicate a contact with infecting agent and a possibility of asymptomatic course of the Lyme borreliosis. Frequencies of *B. burgdorferi* antibodies in blood donors in spring and in autumn were compared. An increase in the proportion of persons positive for IgM antibodies in September may indicate a seasonal transmission and possibility of Lyme borreliosis acquirement according to the biological activity of ticks.

PIŚMIENNICTWO

1. Badora J, Umiński J, Cisak E, i in. Wstępne badania seroepidemiologiczne w kierunku boreliozy z Lyme na terenie makroregionu lubelskiego. Materiały Międzynarodowego Sympozjum nt.: Borelioza z Lyme i inne choroby przenoszone przez kleszcze; 1995 28-29.04; Białowieża.
2. Flisiak R, Wiercińska-Drapało A, Kalinowska A, i in. Sezonowość występowania przeciwciał przeciw *Borrelia burgdorferi* wśród mieszkańców Białowieży. Materiały Międzynarodowego Sympozjum nt.: Borelioza z Lyme i inne choroby przenoszone przez kleszcze; 1995 28-29.04; Białowieża.
3. Dobracki W, Dobracka B, Sobieszczkańska B, i in. Epidemiologia zakażeń *Borrelia burgdorferi* wśród pracowników leśnych terenu Karkonoszy. Materiały Naukowe XIII Zjazdu PTEiLCZ; 1994 23-24.09 Poznań.
4. Fahrer H, van der Linden MS, Sauvain M-J, i in. The prevalence and incidence of clinical and asymptomatic Lyme borreliosis in a population at risk. J Infect Dis 1991;163:305-10.
5. Jabłoński L. Obliczenia statystyczne w epidemiologii. W: Jabłoński L, red. Epidemiologia. Lublin: Wydawnictwo Foliu; 1996:105-29.
6. Anderson JF. Epizootiology of Lyme borreliosis. Scand J Infect Dis Suppl 1991;77:23-34.
7. Asbrink E, Olsson I, Hovmark A. Erythema chronicum migrans in Sweden. A study on 231 patients. Zbl Bakt Hyg 1986;263:229-36.
8. Berglund J, Eitrem R, Ornstein K, i in. An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. New Engl J Med 1995;333:1319-27.
9. O'Connell S, Grandstrom M, Gray JS, i in. Epidemiology of european Lyme borreliosis. Zbl Bakt 1998;287:229-40.
10. Pierer K, Kock T, Freidl W, i in. Prevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* flagellin in Styrian blood donors. Zbl Bakt 1993;279:239-43.

11. Smith HV, Gray JS, Mickenzie G. A Lyme borreliosis human serosurvey of asymptomatic adults in Ireland. *Zbl Bakt* 1991;275:382-9.
12. Report of WHO workshop on Lyme borreliosis diagnosis and surveillance; WHO/CDS/VPH/95. 1995 20-22 June; Warsaw, Poland.
13. Gustafson R, Svenungsson B, Forsgren M, i in. Two-year survey of the incidence of Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis in a high-risk population in Sweden. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:894-900.
14. Stanek G. Lyme Borreliosis in Europe (Abst. 43). In: VIII International Conference on Lyme Borreliosis and other Emerging Tick-Borne Diseases; 1999 June 20-24; Munich, Germany.
15. Czarkowski MP, Cielebąk E, Stępień E, i in. Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce w 2000 roku. Warszawa: Biuletyn PZH - Zakład Epidemiologii;2001:39.

Adres autorów:

Tomasz Chmielewski
Zakład Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny
ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa