

## Borelioza z Lyme

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Akademii Medycznej, ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok

W 1975 r. State Health Department w stanie Connecticut (USA) zwrócił uwagę na coraz liczniejsze zachorowania na nietypowe zapalenia stawów dotyczące dzieci w rejonie miasteczka Old Lyme. Intensywne badania epidemiologiczno-kliniczne doprowadziły w 1982 r. do zidentyfikowania przez Burgdorfera czynnika etiologicznego choroby, znanej obecnie pod nazwami: choroba z Lyme (Lyme disease) lub borelioza z Lyme (Lyme borreliosis) (6, 12). Okazało się, że jest to schorzenie dotyczące nie tylko narządu ruchu, ale pierwotnie manifestujące się zmianami skórnymi, a w późniejszym okresie choroby również objawami ze strony serca i układu nerwowego (32).

Zachorowanie na boreliozę opisano u zwierząt domowych w połowie lat 80 (14, 20, 26). Równocześnie pojawiły się doniesienia o udanych przeniesieniach zakażeń na zwierzęta doświadczalne (16, 27). Borelioza z Lyme wydaje się być mało znana wśród lekarzy weterynarii, chociaż – jak wynika z danych piśmiennictwa – jest ona rozpowszechniona u zwierząt domowych (14, 19). Jej wczesne rozpoznanie umożliwia rozpoczęcie skutecznego leczenia, mogącego zapobiec poważnym powikłaniom.

**Etiologia.** Gatunek *Borrelia* wraz z *Leptospira* i *Treponema* należy do rodzaju *Spirochaeta*. Podobnie do innych krętków, *Borrelia* (*B.*) posiada błonę fałującą i błonę zewnętrzną, która jest tylko luźno związana ze strukturami pod nią znajdującymi się (8).

*Borrelia burgdorferi* jest bakterią najdłuższą w swoim gatunku, osiągając wymiar podłużny 20 do 30  $\mu\text{m}$ . Spośród ponad 30 białek znajdujących się na powierzchni błony zewnętrznej tych zarazków, rola jedynie części z nich jest znana. Dwa najważniejsze: ospA (outer surface protein A; 30-32 kd) i ospB (outer surface protein B; 34-36 kd), produkowane są w oparciu o materiał genetyczny jednego z dziewięciu pozachromosomalnych plazmidów, niespotykanego u innych prokariotycznych organizmów (8, 10, 17). Większość z pozostałych antygenów tak białkowych, jak i lipopolisacharydowych, jest podobna do występujących u innych krętków, a także bakterii gram-ujemnych (33). Udało się wykazać istnienie pewnych różnic pomiędzy szczepami wyhodowanymi w Ameryce i Europie. Dotyczą one tak morfologii *Borrelia burgdorferi*, jak też białek ospA i ospB, plazmidów, a także DNA (9, 18, 33).

Stwierdzono, że ospA i B mogą podlegać zmianom struktury antygenowej i reaktywności z monoklonalnymi przeciwciałami tak w trakcie hodowli *B. burgdorferi in vitro*, jak i w przebiegu infekcji. Ogranicza to znacznie możliwości diagnostyki serologicznej (9, 10). Wykazano, że utrata zakaźności w hodowli *in vitro*, występująca zwykle po 10-15 pasażach, koreluje z zanikiem kolejnych plazmidów (10, 31).

Izolacja tego zarazka, łatwa z kleszczy, jest znacznie trudniejsza od człowieka i zwierząt. Rośnie on najlepiej w temperaturze 33°C na złożonym podłożu płynnym Barbour-Stoener-Kelly'ego. W porównaniu z innymi bakte-

riami wzrost jest powolny, a podziały dokonują się co 12-24 godziny (7).

**Epidemiologia i epizootologia.** Rezerwuarem *B. burgdorferi* są zwierzęta wolno żyjące, które wykazując tolerancję wobec bakterii nie chorują, stanowią jednak źródło zakażenia dla kleszczy żerujących w różnych fazach rozwojowych (1). Sprzyja temu utrzymywanie się długotrwałej bezobjawowej bakteriemii (9-13 miesięcy), której nie towarzyszy stymulacja mechanizmów obronnych (15). W przeciwieństwie do zwierząt wolno żyjących objawy chorobowe występują u zwierząt domowych (psów, koni, bydła), będących żywicielami tych samych kleszczy, co ludzie żyjący w danym środowisku (14, 20, 26).

Przenosicielami *B. burgdorferi* są kleszcze z gatunku *Ixodes*. W Eurazji są to *Ixodes ricinus* i *persulcatus*, a w Ameryce Północnej *I. dammini*, *scapularis* oraz *pacificus*. W Australii, pomimo występowania kleszczy z tego gatunku, nie potwierdzono dotychczas ich roli w przenoszeniu *B. burgdorferi*. W Afryce Północnej odnotowano pojedyncze zachorowania, a w innych regionach świata brak jest informacji tak na temat występowania kleszczy, jak i boreliozy z Lyme (2, 3). Pomimo wykazania *B. burgdorferi* u innych gatunków kleszczy, a także u moskitów, pcheł, much, gzów, jedynie kleszcze z gatunku *Ixodes* wydają się mieć istotne znaczenie w przenoszeniu tych krętków na człowieka (23, 25).

Jedne z wczesnych identyfikacji *B. burgdorferi* w kleszczach *I. ricinus* na terenie Czechosłowacji i Rosji przeprowadzili Krjučečnikov i wsp. w 1988 r. (22). Według Szechińskiego i wsp. (34) muzealne okazy kleszczy wykazują obecność tych bakterii.

*I. ricinus* i *persulcatus* rozpowszechnione w Polsce, a zwłaszcza w jej regionie północno-wschodnim, żerują zwykle jednorazowo w każdym z trzech stadiów, trwającego przeważnie dwa lata cyklu życiowego. Larwa żywi się krwią gospodarza jednorazowo, późnym latem. Ma to ponownie miejsce w stadium nimfy, na przełomie wiosny i lata roku następnego. Wreszcie postać dojrzała żeruje jesienią (3, 37).

Przeniesienie *B. burgdorferi* następuje poprzez ślinę, po ukąszeniu przez kleszcza w każdym z trzech stadiów, jednak najczęściej odpowiedzialne są za to nimfy, najbardziej agresywne (37). Według Piesmana i wsp. (28) prawdopodobieństwo zakażenia jest wprost proporcjonalne do czasu kontaktu z kleszczem, wynoszącym co najmniej 24 godziny. Jednakże możliwość ta jest 100% po upływie co najmniej 72 godzin pod warunkiem obecności *B. burgdorferi* w kleszczu (29). Dotychczasowe badania nie potwierdziły przenoszenia krętków *B. burgdorferi* poprzez transfuzje preparatów krwiopochodnych lub też drogą seksualną. Bakterii tych nie wyizolowano dotychczas z moczu, śliny czy nasienia (4).

Rozprzestrzenienie choroby na danym terenie zależy od zalesienia, występowania kleszczy, a także obecności preferowanych przez nie gospodarzy. Dodatkową, naturalną drogę rozprzestrzenienia się zakażonych kleszczy na duże odległo-

ści stanowią ptaki w czasie swych lotów migracyjnych (1, 2). Kleszcze wykazują pewne preferencje w wyborze gospodarza. Północnoamerykański *I. dammini*, który jest w niektórych rejonach USA w 100% nosicielem *B. burgdorferi*, w stadium nimfy i larwy najchętniej żeruje na dzikich białych myszach (*Peromyscus leucopus*) lub szopach praczach, a osobniki dojrzałe na jeleniach (2, 24, 33). Europejski *I. ricinus* w 36% zakażony *B. burgdorferi*, w stadium nimfy i larwy najchętniej żeruje na gryzoniach, jaszczurkach i ptakach, zaś postacie dojrzałe preferują średnie i duże ssaki tak dzikie, jak i domowe (2, 35). Z kolei drugi z występujących w Polsce kleszczy, *I. persulcatus*, bardziej odporny na warunki klimatyczne, w stadium nimfy i larwy najchętniej żeruje na małych leśnych ssakach i ptakach, a postacie dojrzałe na krowach, dzikich kopytnych, zającach, jeźcach (2). *I. pacificus* oraz *scapularis* występujące w Kalifornii wydają się być „niewydolnym” przenosicielem krętków, co wynika prawdopodobnie z preferencji wobec jaszczurek, które nie są dobrym rezerwuarem tego krętka, czego skutkiem jest wyjątkowo niskie (<3%) zakażenie kleszczy na tym obszarze, a także stwierdzane znaczące odrębności antygenowe *B. burgdorferi* (11).

Wykazano udział innych stawonogów w szerzeniu się inwazji tych bakterii, ale według Szechińskiego i wsp. (34) zjawisko to ma małe znaczenie w epidemiologii boreliozy.

Najwięcej zachorowań na boreliozę wśród ludzi odnotowano w USA, gdzie zarejestrowano ją w 43 stanach (w okresie 1980-88 – 13 795 zachorowań). Tylko w pierwszej połowie 1992 r. Centers for Diseases Control zarejestrowało 1820 zachorowań, z czego około 45% dotyczyło stanu New York (upstate) (28, 33). W ostatnich latach odnotowano liczne zachorowania w państwach Europy Środkowej i Skandynawii (2, 33). W Polsce wciąż choroba ta jest dość rzadko rozpoznawana, a badania własne wskazują na duże jej rozpowszechnienie na obszarach leśnych regionu północno-wschodniego.

**Obraz kliniczny boreliozy ludzi i zwierząt.** Najbardziej stałym i najwcześniejszym objawem występującym u prawie 80% ludzi jest rumień wędrujący, *erythema migrans*, który ujawnia się 1-3 tygodnie po zakażeniu. W typowych przypadkach jest on owalny, o średnicy co najmniej 5 cm, z charakterystycznym przejaśnieniem centralnym. Inna zmiana skórna o charakterze łagodnego chłoniaka – *lymphadenosis benigna cutis* pojawia się znacznie rzadziej, tj. u około 1% chorych (33, 36).

Objawy neurologiczne, z których najczęstszymi są limfocytarne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i porażenia nerwu twarzonego, pojawiają się u 15-20% pacjentów wskutek przejścia zakażenia w stadium rozsiewu tych krętków do różnych narządów organizmu. Objawy ze strony serca pod postacią przemijającego bloku przedsionkowo-komorowego o zmiennym stopniu dotyczą 4-8% chorych (33).

Ponadto asymetryczne zapalenia stawów pojawiają się u ok. 60% chorych z boreliozą. Te zmiany narządowe występują najczęściej w 6 miesięcy po ujawnieniu się choroby. Zwykle poprzedzone są epizodami bólów mięśniowo-stawowych. Stan zapalny w obrębie stawów prowadzić może do zniszczenia chrząstki stawowej, a nawet kości w wiele lat po zakażeniu (33).

U części chorych występują późne objawy uszkodzenia układu nerwowego związane z postępującą demielinizacją włókien nerwowych lub zmiany zanikowe skóry kończyn, znane jako *acrodermatitis chronica atrophicans*. W tym okre-

sie choroby próby leczenia tych nieodwracalnych i prowadzących do kalectwa zmian zwykle nie przynoszą efektu (33).

Objawy kliniczne choroby, opisywane u zwierząt domowych, były podobne jak u ludzi. Badania serologiczne wykazały występowanie przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* u psów, koni i krów (2, 5, 14, 19, 20, 26).

Dominującym objawem, jaki obserwowano u krów, jest zapalenie stawów, które początkowo manifestuje się obrzękiem, a następnie zeszywnieniem ze znacznym ograniczeniem ruchomości. Opisywano również zapalenie mięśnia sercowego. We krwi nowo narodzonych cieląt, a także cieląt poronionych wykrywano obecność przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi*, co wskazuje na możliwość zakażeń wewnątrzmacicznych, mogących być przyczyną niesklasyfikowanych poronień (13, 14, 19). U zakażonych doświadczalnie królików i świnek morskich obserwowano objawy przypominające występujące u ludzi rumień wędrujący (21). Natomiast u myszy stwierdzano zapalenia wielostawowe oraz zapalenia mięśnia sercowego (27, 30).

Rozpoznanie boreliozy z Lyme, tak u ludzi, jak i u zwierząt, opiera się głównie na typowych objawach klinicznych. Wykrycie przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* w surowicy stanowi potwierdzenie rozpoznania. Należy jednak mieć na uwadze wyniki fałszywie dodatnie, jak i fałszywie ujemne. Najbardziej uzasadnione jest wykorzystanie różnych modyfikacji testów immunoenzymatycznych (EIA, ELISA, ELFA). Inne współczesne metody diagnostyczne, takie jak „Western blot” czy „polimerazowa reakcja łańcuchowa” (PCR), wymagają dalszych badań na szerszą skalę oraz oceny przydatności. Wartość metody immunofluorescencji pośredniej, stosowanej początkowo w diagnostyce boreliozy, jest ograniczona ze względu na jej niską czułość i swoistość (36).

Własne doświadczenia wskazują na dużą przydatność praktyczną metody ELFA, opartej o technikę fluorescencyjno-immunoenzymatyczną. Wynika to z badań wykonywanych tą metodą przy użyciu aparatu Mini Vidas firmy BioMerieux w Klinice Obserwacyjno-Zakaźnej AM w Białymstoku w okresie ostatniego roku.

Istnieje potrzeba uświadomienia pracowników służb medycznych i weterynaryjnych co do aktualności boreliozy w Polsce oraz upowszechniania metod diagnostycznych w tym zakresie. Wydaje się, że dalsze badania pozwolą uzupełnić wiedzę o powiązaniach tej choroby między ludźmi i zwierzętami.

#### Piśmiennictwo

1. Anderson J. F.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 539, 180, 1988.
2. Anderson J. F.: Rev. Infect. Dis. 11, 1451, 1989.
3. Anderson J. F.: Scand. J. Infect. Dis. 77, 23, 1991.
4. Aoki S. K., Holland P. V.: Transfusion 29, 646, 1989.
5. Arashima Y.: Jpn. J. Clin. Pathol. 39, 869, 1991.
6. Ariole V. T.: Rev. Infect. Dis. 11, 1433, 1989.
7. Barbour A. G.: Yale J. Biol. Med. 57, 521, 1984.
8. Barbour A. G., Hayes S. F.: Microbiol. Rev. 50, 381, 1986.
9. Barbour A. G.: J. Clin. Microbiol. 26, 475, 1988.
10. Benach J. L., Coleman J. L., Golightly M. G.: J. Immunol. 140, 265, 1988.
11. Brown R. N., Lane R. S.: Science 256, 1439, 1992.
12. Burgdorfer W., Barbour A. G., Hayes S. F., Benach J. L., Grunwaldt E., Davis J. P.: Science 216, 1317, 1982.
13. Burgess E. C.: Am. J. Vet. Med. Ass. 191, 1468, 1987.
14. Burgess E. C.: Ann. NY. Acad. Sci. 539, 235, 1988.
15. Donahue J. G., Piesman J., Spielman A.: Am. J. Trop. Med. Hyg. 36, 92, 1987.
16. Galbe J. L., Guy E., Zapatero J. M.: Microb Pathog. 14, 187, 1993.

17. Howe T. R., LaQuier F. W., Barbour A. G.: Infect. Immunol. 54, 207, 1986.
18. Hovind-Hougen K., Asbrink E., Stiernstedt G., Steere A. C., Hovmark A.: Zentbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. A 263, 103, 1986.
19. Isogal H., Isogal E., Masuzawa T., Yanagihara Y., Matsubara M., Shimanuki M., Seta T., Fukai K., Kurosawa N., Enokidani M., Nakamura T., Tajima M., Takahashi K., Fujii N.: Microbiol. Immunol. 36, 1029, 1992.
20. Kornblatt A. N., Urband P. H., Steere A. C.: J. Am. Vet. Med. Ass. 186, 960, 1985.
21. Krinsky W. L., Brown S. J., Askenase P. W.: Exp. Parasitol. 53, 381, 1982.
22. Krjučečnikov V. N., Korenberg E. I., Ščerbakov C. V., Goretova H. B., Juržcova E., Galouzka J., Gubatek E., Kovalevskij J. V., Levin M. L., Bunikis I. A.: Ž. M. E. J. 6, 10, 1990.
23. Luger S. W.: N. Engl. J. Med. 322, 1752, 1990.
24. Magnarelli L. A., Anderson J. F., Chappell W. A.: Yale J. Biol. Med. 57, 619, 1984.
25. Magnarelli L. A., Anderson J. F.: J. Clin. Microbiol. 26, 1482, 1988.
26. Marcus L. C., Patterson M. M., Gilfillan R. E., Urband P. H.: Am. J. Vet. Res. 46, 2570, 1985.
27. Masuzawa T., Beppu Y., Kawabata H., Yanagihara Y., Iwamoto Y., Shimizu T., Johnson R. C.: J. Clin. Microbiol. 30, 3016, 1992.
28. Morbidity and Mortality Weekly Report. US Public Health Service Publ. Centers for Diseases Control. 41, 425, 1992.
29. Piesman J., Mather T. N., Sinsky R. J., Spielman A.: J. Clin. Microbiol. 25, 557, 1987.
30. Achaible U. E., Kramer M. D., Museteanu C., Zimmer G., Mossmann H., Simon M. M.: J. Exp. Med. 170, 1427, 1989.
31. Schwan T. G., Burgdorfer W., Garon C. F.: Infect. Immunol. 56, 1831, 1988.
32. Steere A. C., Malavista S. E., Hardin J. A., Ruddy S., Askenase W., Andiman W. A.: Ann. Intern. Med. 86, 685, 1977.
33. Steere A. C.: N. Engl. J. Med. 321, 586, 1989.
34. Szechiński J., Kowalewski M., Sobieszkański B., Gościński G.: Przeg. Epid. 46, 317, 1992.
35. Radda A., Burger I., Stanek G., Wewalka G.: Zentbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. 263, 79, 1986.
36. Rahn D. W., Malavista S. E.: Ann. Intern. Med. 114, 472, 1991.
37. Wilson M. L., Spielman A.: J. Med. Entomol. 22, 408, 1985.

Adres autora: dr med. Robert Flisiak, ul. Wierzbowa 9/63, 15-743 Białystok

JAN KISZA, JACEK DOMAGAŁA\*

artykuł przeglądowy

## Aflatoksyny w paszach i mleku – występowanie, oznaczanie i metody eliminacji

Instytut Technologii Mleczarskiej, Wydział Technologii Żywności ART, Blok 35, 10-718 Olsztyn – Kortowo

\*Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydział Rolniczy AR, Al. 29 Listopada 52, 31-425 Kraków

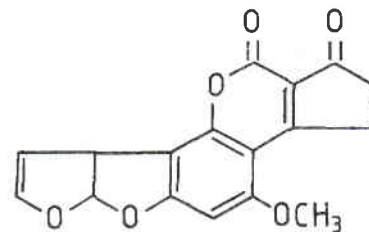
Na początku lat 60. Alcroft i Carnaghan wykazali, że spożywanie przez krowy mleczne paszy zanieczyszczonej aflatoksyną B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) prowadzi do pojawienia się w mleku czynnika toksycznego już w kilka godzin po przyjęciu paszy. Czynnikiem ten nazwano aflatoksyną M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>).

Fakt, że mleko, jeden z najważniejszych i najcenniejszych pokarmów, może być skażone aflatoksynami wywołał lawinę badań naukowych, których wyniki do dzisiaj nie zostały jeszcze jednoznacznie rozstrzygnięte. Do badań tych zostały zaangażowane różne dyscypliny naukowe, jednak szczególna uwaga skoncentrowana została na studiach toksykologicznych, na rozwijaniu nowoczesnych metod oznaczania AFB<sub>1</sub> w paszach oraz AFM<sub>1</sub> w mleku i produktach mleczarskich, a także na produkcji standardów AFB<sub>1</sub> i AFM<sub>1</sub> dla celów analitycznych. Podejmowano też wiele badań nad występowaniem tych toksyn w paszach, mleku i produktach mleczarskich, jak również nad ich stabilnością oraz wpływem różnych metod przetwarzania żywności i możliwością ich eliminacji z pasz i żywności. Różne kraje określiły dopuszczalne limity występowania AFB<sub>1</sub> w paszach i AFM<sub>1</sub> w mleku (4).

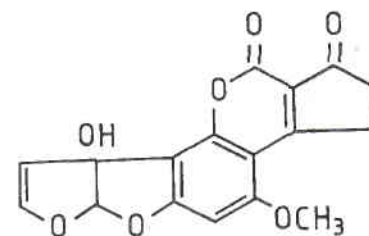
### Struktura chemiczna, właściwości, występowanie

Aflatoksyny stanowią grupę wtórnych metabolitów produkowanych głównie przez pleśń *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*, wykazujących działanie toksyczne i rakotwórcze. AFB<sub>1</sub> jest pochodną związku pierścieniowego kumaryny połączonej z dwufuranem i pentanonem. Jej masa cząsteczkowa wynosi 312, a wzór sumaryczny C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>.

AFM<sub>1</sub> jest 4-hydroksypochodną aflatoksyny B<sub>1</sub> o wzorze sumarycznym C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub> i masie cząsteczkowej 328. Strukturę chemiczną aflatoksyn B<sub>1</sub> i M<sub>1</sub> przedstawia ryc. 1 (4, 11).



Aflatoksyna B<sub>1</sub>



Aflatoksyna M<sub>1</sub>

Ryc. 1. Struktura chemiczna aflatoksyn B<sub>1</sub> i M<sub>1</sub>