

Małgorzata Tokarska-Rodak¹Anna Pańczuk¹Maria Koziol-Montewka¹Dorota Plewik²Adam Szepeluk²

MONOINFEKCJA *BORRELIA BURGdorFERI* I WSPÓŁZAKAŻENIA *BORRELIA BURGdorFERI* / *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM* U PRACOWNIKÓW LEŚNICTWA I ROLNIKÓW

MONOINFECTIONS CAUSED BY *BORRELIA BURGdorFERI*
AND *BORRELIA BURGdorFERI* / *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM* CO-INFECTIONS
IN FORESTRY WORKERS AND FARMERS

Państwowa Szkoła Wyższa im. Papieża Jana Pawła II / Pope John Paul II State School of Higher Education, Biała Podlaska, Poland

¹ Katedra Zdrowia / Department of Health

² Centrum Badań nad Innowacjami / Innovation Research Centre

STRESZCZENIE

Wstęp: Występowanie u ludzi koinfekcji patogenami przenoszonymi przez kleszcze jest istotnym zjawiskiem epidemiologicznym, któremu coraz więcej uwagi poświęcają zarówno lekarze, jak i osoby pracujące w warunkach zwiększonego ryzyka uciążliwej pracy przez kleszcze. **Materiał i metody:** Grupa badana obejmowała 93 osoby z obecnymi przeciwciałami immunoglobuliny M/G (IgM/IgG) anty-*Borrelia burgdorferi* i IgG anty-*Anaplasma phagocytophilum*, wyłonione podczas badań przesiewowych z grupy rolników i leśników zawodowo narażonych na pokłucia przez kleszcze. Celem pracy była ocena częstości występowania przeciwciał IgM/IgG dla specyficznych antygenów *B. burgdorferi* oraz poziomu wybranych cytokin u rolników i leśników w zależności od obecności monoinfekcji *B. burgdorferi* lub współzakażenia *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum*. Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej (test Chi², Manna-Whitneya, Kruskala-Wallis). **Wyniki:** U osób z koinfekcją *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum* istnieje silniejsze generowanie przeciwciał IgG dla antygenów *B. burgdorferi*, takich jak VlsE (variable major protein-like sequence expressed) ($p < 0,05$), p19 ($p < 0,02$), p17 ($p < 0,05$) i CRASP3 (complement regulator-acquiring surface protein 3) ($p < 0,02$) w porównaniu z osobami z monoinfekcją *B. burgdorferi*. Nie stwierdza się różnic w poziomie generowanych cytokin interleukiny 6 (IL-6), IL-10, czynnika martwicy nowotworu α (tumor necrosis factor α – TNF- α) u osób z monoinfekcją *B. burgdorferi* i koinfekcją *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum*. **Wnioski:** U pacjentów z jednoczesnym zakażeniem *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum* odpowiedź immunologiczna skierowana przeciwko *B. burgdorferi* jest silniejsza niż w przypadku monoinfekcji. Med. Pr. 2015;66(5):645–651

Słowa kluczowe: *Borrelia burgdorferi*, leśnicy, rolnicy, *Anaplasma phagocytophilum*, cytokiny, współzakażenie

ABSTRACT

Background: The presence of co-infections induced by tick-borne pathogens in humans is an important epidemiological phenomenon. This issue has attracted growing attention of doctors and people working under conditions of an increased risk of being exposed to tick bites. **Material and Methods:** The research group consisted of 93 individuals with current anti-immunoglobulin M/G (IgM/IgG) *Borrelia burgdorferi* or IgG anti-*Anaplasma phagocytophilum*. The respondents were identified during the screening survey in a group of farmers and foresters occupationally exposed to tick bites. The aim of the work was to analyse the frequency of antibodies to specific antigens of *B. burgdorferi* and the levels of cytokines in forestry workers and farmers with *B. burgdorferi* monoinfections and *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* co-infections. Statistical analysis was performed using the Chi², Mann-Whitney U and Kruskal-Wallis tests. **Results:** There is a stronger generation of IgG antibodies to *B. burgdorferi* antigens in patients with *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* co-infections, such as variable major protein-like sequence expressed (VlsE) ($p < 0.05$), p19 ($p < 0.02$), p17 ($p < 0.05$) and complement regulator-acquiring surface protein 3 (CRASP3) ($p < 0.02$) compared to persons with *B. burgdorferi* monoinfections. The discrepancies in the synthesis of cytokines interleukin 6 (IL-6), IL-10, and tumor necrosis factor α (TNF- α) have not been found in persons with *B. burgdorferi* monoinfections and *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* co-infection. **Conclusions:** The immune response directed against *B. burgdorferi* is stronger in patients co-infected with *B. burgdorferi* and *A. phagocytophilum* than in those with monoinfection. Med Pr 2015;66(5):645–651

Key words: *Borrelia burgdorferi*, forestry workers, farmers, *Anaplasma phagocytophilum*, cytokines, co-infection

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Małgorzata Tokarska-Rodak, Państwowa Szkoła Wyższa im. Papieża Jana Pawła II, Katedra Zdrowia, ul. Sidorska 102, 21-500 Biała Podlaska, e-mail: rodak.malgorzata@gmail.com
Nadesłano: 12 kwietnia 2015, zatwierdzono: 18 sierpnia 2015

WSTĘP

Występowanie u ludzi infekcji mieszanych patogenami przenoszonymi przez kleszcze *Ixodes* jest istotnym zjawiskiem epidemiologicznym, któremu coraz więcej uwagi poświęcają zarówno lekarze, jak i osoby pracujące w warunkach zwiększonego ryzyka ukłucia przez kleszcze. Jak wynika z badań, kleszcze mogą być zakażone jednym patogenem lub jednocześnie kilkoma – *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B. burgdorferi* s.l.), *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*), *Babesia microti* (*B. microti*) czy wirusem kleszczowego zapalenia mózgu.

W kleszczu koinfekcje wirusów, bakterii i pierwotniaków tworzą mikropopulacje (parazytocenozy), których skład jest charakterystyczny dla ekologicznie różnych obszarów [1]. Ryzyko nabycia zakażenia mieszanego przez człowieka jest różne i zależy od odsetka kleszczy zainfekowanych tymi patogenami na danym terenie. Określenie stopnia zakażenia kleszczy pozwala także na uznanie badanego rejonu za obszar endemiczny choroby [2–4].

Stopień zakażenia kleszczy ma ścisły związek z liczbą zakażeń identyfikowanych wśród osób zawodowo narażonych na ich ukłucia (pracownicy leśnictwa, rolnicy). Na terenie Polski południowo-wschodniej odsetek występowania swoistych przeciwciał anty-*Borrelia burgdorferi* (anty-*B. burgdorferi*) u leśników wynosi 43%, na obszarze Dolnego Śląska – 66%, a w rejonie zachodniopomorskim – 35–61% [4]. W innych krajach Europy przeciwciała dla tego patogenu u leśników stwierdzane są z różną częstością (w Niemczech – 30%, na Słowacji – 12%, we Włoszech – 7%) [4].

Przeciwciała dla *A. phagocytophilum* u mieszkańców Europy są zróżnicowane w zależności od regionu. U rolników w Wielkiej Brytanii seropozytywność określono na 1,5%, w północnej Grecji – 7,3%, na Krecie – 21,4%, w Republice Czeskiej – 7,9%, a we wschodniej Słowacji – 7% [5]. W Słowenii przeciwciała anty-*A. phagocytophilum* zidentyfikowano u 24% pracowników leśnictwa, a we – Włoszech u 8,6% [4]. W Polsce IgG anty-*A. phagocytophilum* w rejonie Białegostoku (Polska północno-wschodnia) stwierdzono u 3,9% leśników, w rejonie Lublina (Polska wschodnia) – u 23%, w Polsce środkowej – u 17–20%, a w rejonach północnych – u 9,6% [4–6].

Według Wójcik-Fatli patogeny w organizmie kleszcza lokują się niezależnie od siebie, nie wywierając na siebie wzajemnego wpływu [1]. Inni naukowcy wykazują wzajemny wpływ koinfekcji na przebieg transmisji patogenów do organizmu infekowanego, podkreśla-

jąc jednak, że mechanizmy współzakażeń różnymi patogenami wciąż nie są dostatecznie poznane [7–10].

Celem niniejszej pracy była ocena częstości występowania przeciwciał immunoglobuliny G (IgM/IgG) dla specyficznych antygenów *B. burgdorferi* oraz ocena poziomu wybranych cytokin u rolników i leśników w zależności od obecności u nich monoinfekcji *B. burgdorferi* lub współzakażenia *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum*.

MATERIAŁ I METODY

Grupa badana obejmowała 93 osoby z obecnymi IgM/IgG lub IgG anty-*B. burgdorferi*, wyłonione podczas badań przesiewowych z grupy rolników i leśników zawodowo narażonych na pokłucia przez kleszcze. Badani – 74 mężczyzn w wieku 26–64 lat i 19 kobiet w wieku 20–64 lat – pochodzili z północnej części woj. lubelskiego.

Do określenia obecności przeciwciał dla specyficznych białek antygenowych *B. burgdorferi* zastosowano metodę immunoblottingu. Przeciwciała IgM/IgG dla antygenów VlsE (variable major protein-like sequence expressed), p83, p39, p31, p30, p25, p21, p19 i p17 określono, używając testu Euroline-Wb (prod. Euroimmun, Niemcy). Przeciwciała IgG dla antygenów BBA36, BBO323, CRASP3 (complement regulator-acquiring surface protein 3) i pG oznaczono, stosując test *Borrelia* LINE IgG Line Immunoblot (prod. GenzymeVirotech GmbH, Niemcy). Do określenia obecności przeciwciał IgG anty-*A. phagocytophilum* zastosowano metodę immunofluorescencji i użyto testu *Anaplasma phagocytophilum* IFA IgG Antybody Kit (prod. Fuller Laboratories, USA).

W badaniu oceniano częstość występowania przeciwciał IgM i IgG dla specyficznych białek antygenowych *B. burgdorferi* w zależności od stwierdzonej monoinfekcji *B. burgdorferi* lub współzakażenia *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum*.

Wykonano także oznaczenia czynnika martwicy nowotworu α (tumor necrosis factor α – TNF- α), interleukiny 6 (IL-6) i IL-10 (prod. BD, USA), a uzyskane wyniki dotyczące poziomu cytokin analizowano pod kątem monozakażenia *B. burgdorferi* i koinfekcji *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* oraz odniesiono je do wyników grupy porównawczej.

Grupę porównawczą początkowo stanowiło 51 osób (26 mężczyzn w wieku 20–58 lat i 25 kobiet w wieku 20–56 lat) nienarażonych zawodowo na pokłucia przez kleszcze, mieszkających na tym samym obszarze co grupa badana. Ostatecznie grupa porównawcza

liczyła 40 osób, ponieważ wykluczono z niej 2 osoby, u których stwierdzono przeciwciała anty-*B. burgdorferi*, i 9 osób z przeciwciałami anty-*A. phagocytophilum*.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie (decyzja nr KE-0254/12/2013). Wyniki badań poddano analizie statystycznej, za poziom istotności przyjmując $p < 0,05$. Analizy statystyczne (test Chi², Manna-Whitneya, Kruskala-Wallis) przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania komputerowego Statistica v. 7.1 (prod. StatSoft, Polska).

WYNIKI

Przeciwciała anty-*B. burgdorferi* u osób z monoinfekcją *B. burgdorferi* i współzakażeniem *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum*

Dane dotyczące występowania przeciwciał anty-*B. burgdorferi* i anty-*A. phagocytophilum* w badanych grupach zamieszczono w tabeli 1. Współwystępowanie

przeciwciał anty-*B. burgdorferi* i anty-*A. phagocytophilum* stwierdzono u 26 (28%) osób, a u 67 (72%) badanych występowały przeciwciała anty-*B. burgdorferi*.

Przeciwciała IgM/IgG dla poszczególnych antygenów *B. burgdorferi* u leśników i rolników z monoinfekcją *B. burgdorferi* oraz współzakażeniem *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* występowały z różną częstością, co przedstawiono w tabeli 2.

Wykazano, że przeciwciała IgG dla niektórych specyficznych białek antygenowych *B. burgdorferi* występowały statystycznie istotnie częściej u osób z koinfekcją *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* niż u osób z monoinfekcją *B. burgdorferi*. Statystycznie istotnie częściej stwierdzano obecność przeciwciał IgG anty-VlsE (81%, $p < 0,05$), IgG anty-p19 (62%, $p < 0,02$), IgG anty-p17 (81%, $p < 0,05$) i IgG anty-CRASP3 (54%, $p < 0,02$) u osób z koinfekcją *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* niż u osób, u których identyfikowano tylko zakażenie *B. burgdorferi* (IgG anty-VlsE – 57%, IgG anty-p19 – 33%, IgG anty-p17 – 60%, IgG anty-CRASP3 – 27%).

Tabela 1. Obecność IgM/IgG anty-*Borrelia burgdorferi* i IgG anty-*Anaplasma phagocytophilum* w surowicy leśników i rolników
Table 1. The presence of IgM/IgG anti-*Borrelia burgdorferi* and IgG anti-*Anaplasma phagocytophilum* in serum of forestry workers and farmers

| Przeciwciała Antibodies | Badani Respondents (N = 93) [n (%)] | |
|---|---|---|
| | IgM/IgG anty- <i>Borrelia burgdorferi</i> Antibodies IgM/IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> | IgG anty- <i>Borrelia burgdorferi</i> Antibodies IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> |
| Przeciwciała IgG anty- <i>Anaplasma phagocytophilum</i> / Antibodies IgG anti- <i>Anaplasma phagocytophilum</i> | 2 (2) | 24 (26) |
| Brak przeciwciał anty- <i>Anaplasma phagocytophilum</i> / Absence of antibodies anti- <i>Anaplasma phagocytophilum</i> | 12 (13) | 55 (59) |

Tabela 2. Obecność IgM/IgG anty-*Borrelia burgdorferi* w surowicy leśników i rolników z monoinfekcją *Borrelia burgdorferi* i koinfekcją *Borrelia burgdorferi* / *Anaplasma phagocytophilum*

Table 2. The presence of IgM/IgG anti-*Borrelia burgdorferi* in serum of forestry workers and farmers with *Borrelia burgdorferi* monoinfection and *Borrelia burgdorferi* / *Anaplasma phagocytophilum* co-infection

| Antygeny <i>Borrelia burgdorferi</i> Antigens of <i>Borrelia burgdorferi</i> | Badani Respondents (N = 93; 100%) [%] | |
|---|--|--|
| | monoinfekcja <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> monoinfection (N = 67; 72%) | koinfekcja <i>Borrelia burgdorferi</i> / <i>Anaplasma phagocytophilum</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> / <i>Anaplasma</i> <i>phagocytophilum</i> co-infection (N = 26; 28%) |
| IgM anty- <i>Borrelia burgdorferi</i> / IgM anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> | | |

Tabela 2. Obecność IgM/IgG anty-*Borrelia burgdorferi* w surowicy leśników i rolników z monoinfekcją *Borrelia burgdorferi* i koinfekcją *Borrelia burgdorferi* / *Anaplasma phagocytophilum* – cd.

Table 2. The presence of IgM/IgG anti-*Borrelia burgdorferi* in serum of forestry workers and farmers with *Borrelia burgdorferi* monoinfection and *Borrelia burgdorferi* / *Anaplasma phagocytophilum* co-infection – cont.

| Antygeny <i>Borrelia burgdorferi</i> Antigens of <i>Borrelia burgdorferi</i> | Badani Respondents (N = 93; 100%) [%] | |
|---|--|--|
| | monoinfekcja <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> monoinfection (N = 67; 72%) | koinfekcja <i>Borrelia burgdorferi</i> / <i>Anaplasma phagocytophilum</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> / <i>Anaplasma</i> <i>phagocytophilum</i> co-infection (N = 26; 28%) |
| IgG anty- <i>Borrelia burgdorferi</i> / IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> | | |
| VlsE | 57 | 81* |
| p100 | 25 | 38 |
| p83 | 28 | 46 |
| p58 | 33 | 35 |
| p39 | 31 | 42 |
| p31 | 22 | 19 |
| p30 | 42 | 61 |
| p25 | 36 | 27 |
| p21 | 6 | 15 |
| p19 | 33 | 62** |
| p17 | 60 | 81* |
| BBA36 | 22 | 27 |
| BBO323 | 25 | 38 |
| CRASP3 | 27 | 54** |
| pG | 15 | 23 |

* p < 0,05; ** p < 0,02.

Cytokiny w monozakażeniu *B. burgdorferi* i współzakażeniu *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum*

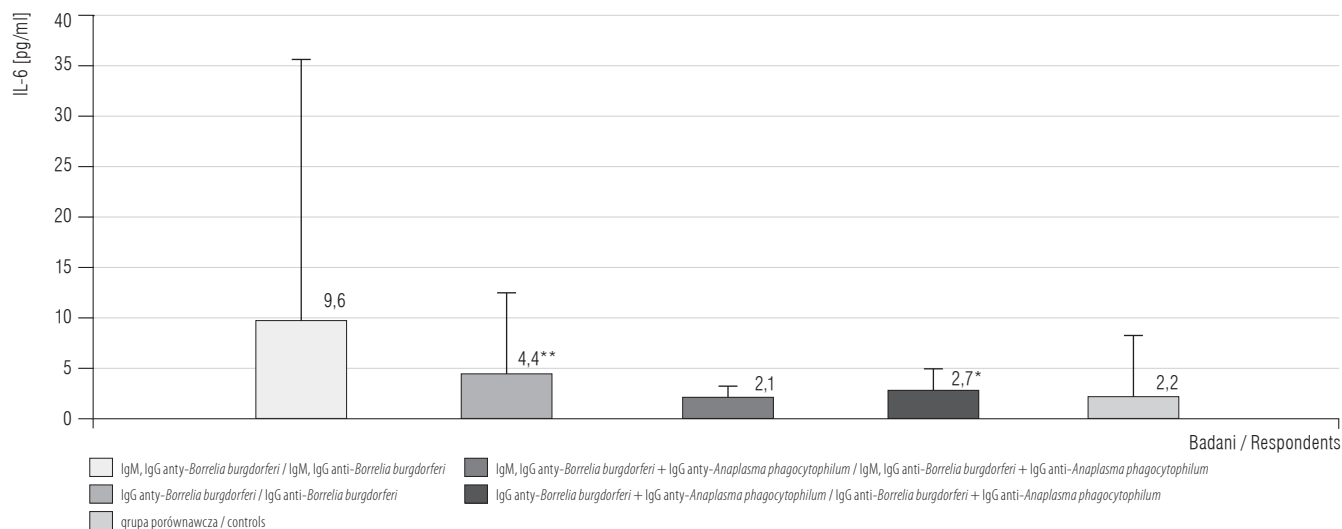
U osób z obecnymi IgM/IgG anty-*B. burgdorferi* poziom TNF- α wynosił średnio 1,6 pg/ml, a u osób z IgG anty-*B. burgdorferi* – 2,5 pg/ml. U badanych z koinfekcją *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* (IgM/IgG *B. burgdorferi* i IgG anty-*A. phagocytophilum*) poziom TNF- α wynosił średnio 1,4 pg/ml, a u osób z IgG anty-*B. burgdorferi* i IgG anty-*A. phagocytophilum* – 2,3 pg/ml. W grupie porównawczej TNF- α wynosił 1,1 pg/ml. Nie stwierdzono zależności statystycznie istotnych dla badanego parametru.

W poziomach cytokin IL-6 i IL-10 nie stwierdzono istotnych różnic między grupami osób z rozwiniętą odpowiedzią anty-*B. burgdorferi* (monoinfekcją) i anty-*B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* (koinfekcją).

Poziom IL-6 był natomiast statystycznie istotnie wyższy u osób z obecnymi IgG anty-*B. burgdorferi* (p < 0,002) niż u osób z grupy porównawczej oraz u osób z IgG anty-*B. burgdorferi* / IgG anty-*A. phagocytophilum* (p < 0,02) niż u osób z grupy porównawczej (ryc. 1). Także poziom IL-10 był statystycznie istotnie wyższy u osób z IgG anty-*B. burgdorferi* (p < 0,005) w porównaniu z osobami z grupy porównawczej (ryc. 2).

OMÓWIENIE

Uważa się, że obszar występowania anaplazmozy granulocytarnej powodowanej przez *A. phagocytophilum* (według dawnej nomenklatury: *Ehrlichia phagocytophila*) pokrywa się z obszarem występowania boreliozy [7], a koinfekcja *B. burgdorferi* / *A. phagocytophi-*

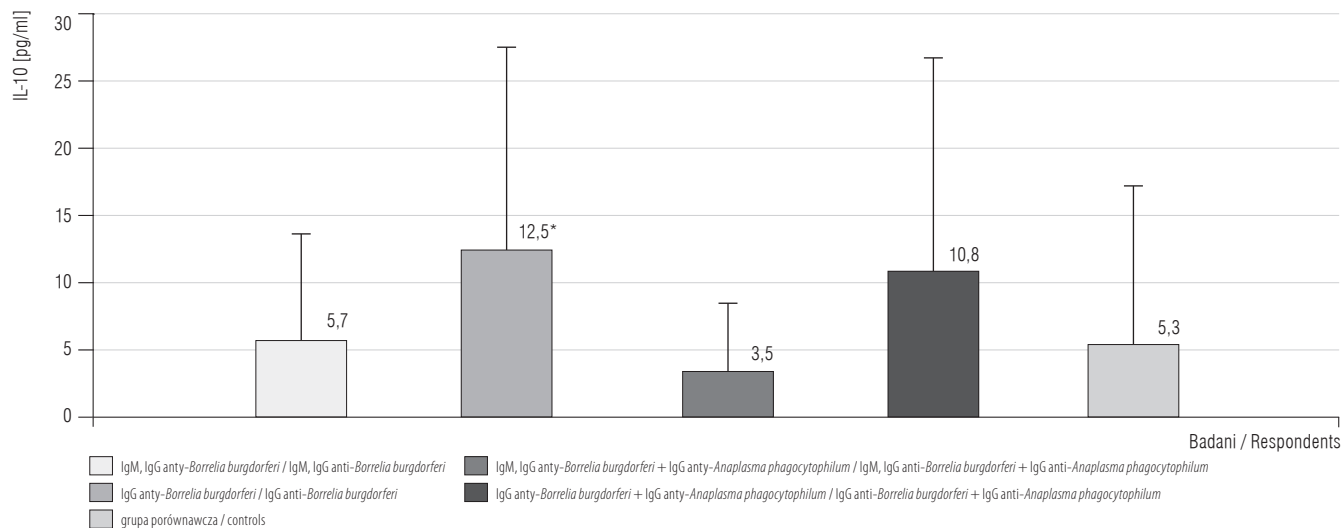


* $p < 0,002$ – IgG anti-*Borrelia burgdorferi* + IgG anti-*Anaplasma phagocytophilum* vs grupa porównawcza / IgG anti-*Borrelia burgdorferi* + IgG anti-*Anaplasma phagocytophilum* vs. controls.

** $p < 0,002$ – IgG anti-*Borrelia burgdorferi* vs grupa porównawcza / IgG anti-*Borrelia burgdorferi* vs. controls.

Ryc. 1. Poziom interleukiny 6 (IL-6) w surowicy leśników i rolników oraz osób z grupy porównawczej

Fig. 1. The interleukin 6 (IL-6) level in serum of forestry workers and farmers and in controls



* $p < 0,005$ – IgG anti-*Borrelia burgdorferi* vs grupa porównawcza / IgG anti-*Borrelia burgdorferi* vs. controls.

Ryc. 2. Poziom interleukiny 10 (IL-10) w surowicy leśników i rolników oraz osób z grupy porównawczej

Fig. 2. The interleukin 10 (IL-10) level in serum of forestry workers and farmers and in controls

lum występująca u kleszczy może skutkować wystąpieniem takiej koinfekcji u człowieka [5]. Kalinová i wsp. wśród osób z podejrzeniem boreliozy z terenów Słowacji wykazali obecność przeciwciał IgG anti-*A. phagocytophilum* u 7% badanych, IgM/IgG anti-*B. burgdorferi* u 20%, a koinfekcję *A. phagocytophilum* / *B. burgdorferi* u 0,93%. Na obszarze, z którego pochodzili badani, 8,3% kleszczy było zainfekowanych *A. phagocytophilum*, 38,3% – *B. burgdorferi*, a u 5% kleszczy zidentyfikowano koinfekcję obydwojoma patogenami [5].

Obraz kliniczny i przebieg boreliozy u ludzi może być trudniejszy do zinterpretowania w przypadku współistnienia zakażeń mieszanych *B. burgdorferi* z *A. phagocytophilum*, *B. microti* czy *Bartonella* spp. Podejrzenia się, że może to wynikać z immunologicznej złożoności odpowiedzi gospodarza na zakażenie mieszane [8]. Koinfekcja *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum* może zaostrzać przebieg boreliozy oraz utrudniać proces diagnostyczny i leczenie. Również jednoczesna infekcja *B. burgdorferi* i *B. microti* może prowadzić do

cięższej postaci choroby niż monoinfekcja poszczególnymi patogenami [8–10].

W badaniach doświadczalnych na myszach wykazano, że pierwotne zakażenie *B. burgdorferi* lub *E. phagocytophila* (według obecnej terminologii: *A. phagocytophilum*) utrudnia zakażenie drugim patogenem – bez względu na to, którego z nich użyto jako pierwszego do zakażenia zwierząt [11]. Chmielewska-Badora i wsp. sugerują, że w zakażeniach patogenami przenoszonymi przez kleszcze – np. *B. microti* i *Bartonella* spp. – może istnieć zjawisko hamowania współwystępowania przeciwciał przeciwko tym 2 czynnikom zakaźnym [8]. Podobną opinię wyrażają Zwoliński i wsp., którzy na podstawie przeprowadzonych badań dotyczących jednoczesnego występowania przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum* sugerują, że możliwe jest hamowanie zakażenia jednym czynnikiem w czasie infekcji drugim [7]. Grzeszczuk i wsp. podają, że u osób seropozytywnych w kierunku *B. burgdorferi* częściej stwierdza się obecność przeciwciał anty-*A. phagocytophilum* ($p < 0,05$) [12].

W niniejszych badaniach wykazano, że u osób z koinfekcją *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum* statystycznie częściej występowały przeciwciała IgG dla antygenów *B. burgdorferi* – VlsE, p19, p17 (DbpA – decorin binding protein A, białko A wiążące dekorynę) i CRASP3 – niż u osób z monoinfekcją *B. burgdorferi*. Wyniki te potwierdzają dominującą rolę antygenów z grupy *in vivo* (jak VlsE i DbpA) w produkcji przeciwciał klasy IgG i równocześnie wskazują na znaczenie innych antygenów z tej grupy, niestosowanych w rutynowej diagnostyce.

Oprócz VlsE i DbpA białka *in vivo* nie są rutynowo stosowane w serologicznej diagnostyce, mimo że wielu badaczy dostrzega w nich duży potencjał diagnostyczny [13–16]. Autorzy niniejszych badań sugerują, że w koinfekcji *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* odpowiedź immunologiczna skierowana przeciwko *B. burgdorferi* jest silniejsza niż w przypadku monoinfekcji. Nie wykluczone, że niektóre białka antygenowe *B. burgdorferi* (np. VlsE, DbpA, CRASP3 czy p19) są silniej ekspresjonowane u osób z koinfekcją *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum*. Wniosek jest spójny z badaniami Chmielewskiej-Badory i wsp., którzy donoszą że poziom przeciwciał anty-*B. burgdorferi* w przypadku koinfekcji może być szczególnie wysoki w porównaniu z monoinfekcją [9].

Na podstawie badań Diterich i wsp. wiadomo, że lipoproteiny *B. burgdorferi* s.l. – szczególnie Osp (outer surface proteins) – inkubowane z wyizolowanymi leukocytami indukują wydzielanie TNF- α , IL1- β i IL-6. Z innej strony lizaty *B. burgdorferi* s.l. indukuje wydzie-

lanie cytokin przeciwzapalnych IL-10 i G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor, czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów) [17]. W niniejszych badaniach własnych nie obserwowano statystycznie istotnych różnic w poziomie IL-6, IL-10 i TNF- α u osób z monoinfekcją *B. burgdorferi* oraz koinfekcją *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum*. Statystycznie istotny wyższy poziom IL-6 i IL-10 autorzy niniejszej publikacji obserwowali u osób z obecnymi IgG anty-*B. burgdorferi* niż u osób z grupy porównawczej. Istotnie wyższy poziom IL-6 niż w grupie porównawczej zanotowano także u osób ze współistniejącymi IgG anty-*B. burgdorferi* i IgG anty-*A. phagocytophilum*.

Także Sjöwall [18] i Jarefors [19] nie obserwowali istotnych różnic w produkcji IL-6, IL-10 i TNF- α między grupami pacjentów z objawowym i bezobjawowym zakażeniem *B. burgdorferi*. Cytowani badacze uważali, że IL-10 zarówno odgrywa rolę w patogenezie boreliozy, hamując nadmierną odpowiedź zapalną, jak i wpływa na odpowiedź immunologiczną w stosunku do *B. burgdorferi*, przyczyniając się do utrzymywania krętków w zatakowanych tkankach. Badania przeprowadzone przez Kisanda dowiodły jednak, że liczba monocytów zaangażowanych w produkcję IL-10 w obecności antygenów *B. burgdorferi* nie odpowiada podwyższonym stężeniom tej cytokiny [20]. Na podstawie wyników niniejszych badań można sądzić, że zarówno infekcja *B. burgdorferi*, jak i koinfekcja *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* mogą wpływać na wytwarzanie niektórych cytokin, lecz poziom ich wydzielania jest warunkowany osobniczo.

WNIOSKI

U osób z koinfekcją *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* generowanie przeciwciał IgG dla antygenów *B. burgdorferi* – VlsE, p19, p17 (DbpA) i CRASP3 – jest silniejsze niż u osób z monoinfekcją *B. burgdorferi*.

PIŚMIENNICTWO

1. Wójcik-Fatla A.: Współzakażenia *Borrelia burgdorferi* i innymi patogenami. W: Cisak E., Zwoliński J. [red.]. Borelioza i inne choroby przenoszone przez kleszcze w aspekcie narażenia zawodowego. Instytut Medycyny Pracy, Łódź 2010 [cytowany 11 marca 2015]. Adres: http://medycynapracy-portal.pl/prawo/wydawnictwa/poradnik_borelioza_dla_lekarzy.pdf
2. Fiecek B., Chmielewski T., Tylewska-Wierzbanowska S.: Zakażenia *Bartonella* spp. ze szczególnym uwzględnieniem chorób oczu. Postępy Mikrobiol. 2012;51:47–53

3. Wójcik-Fatla A., Szymańska J., Buczek A.: Tick-transited diseases. Part I. *Ixodes ricinus* as a reservoir and vector for pathogens. *Zdrow. Publiczne*. 2009;119(2):212–216
4. Wójcik-Fatla A., Szymańska J., Buczek A.: Tick-transited diseases. Part II. *Ixodes ricinus* as a reservoir and vector for pathogens. *Zdrow. Publiczne* 2009;119(2):217–222
5. Kalinová Z., Hálanová M., Čisláková L., Suinowa Z., Jarcuska P.: Occurrence of IgG antibodies to *Anaplasma phagocytophilum* in human suspected of Lyme borreliosis in Eastern Slovakia. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2009;16:285–288
6. Zwoliński J., Wójcik-Fatla A., Chmielewska-Badora J., Cisak E., Buczek A., Dutkiewicz J. i wsp.: Relationship between *Anaplasma phagocytophilum* infection in *Ixodes ricinus* ticks and expose forestry workers on the territory of Lublin region. *Zdrow. Publiczne* 2007;117:134–137
7. Zwoliński J., Chmielewska-Badora J., Cisak E., Buczek A., Dutkiewicz J.: Występowanie przeciwciał przeciw *Anaplasma phagocytophilum* i *Borrelia burgdorferi* u leśników w regionie lubelskim. *Wiad. Parazytol.* 2004;50:221–227
8. Chmielewska-Badora J., Cisak E., Zajac V., Zwoliński J., Dutkiewicz J.: Występowanie współzakażeń *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella* spp. i *Babesia microti* u pacjentów z rozpoznaniem boreliozy. *Med. Ogólna* 2010;16(2):217–225
9. Chmielewska-Badora J., Moniuszko A., Żakiewicz-Sobczak W., Zwoliński J., Piątek J., Pancewicz S.: Serological survey in persons occupationally exposed to tick-borne pathogens in cases of co-infections with *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella* spp. and *Babesia microti*. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2012;19(2):271–274
10. Tylewska-Wierzbanowska S., Chmielewski T.: Zoonozy przenoszone przez kleszcze na terenie Polski. *Postępy Mikrobiol.* 2010;49(3):191–197
11. Levin M.L., Fish D.: Interference between the agent of Lyme disease and human granulocytic ehrlichiosis in a natural reservoir host. *Vector Borne Zoonosis Dis.* 2001;1:139–148, <http://dx.doi.org/10.1089/153036601316977741>
12. Grzeszczuk A., Stańczyk J., Kubica-Biernat B.: Serological and molecular evidence of human granulocytic ehrlichiosis focus in the Białowieża Primeval Forest (Puszcza Białowieska), Northeastern Poland. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2002;21:46–49
13. Aguero-Rosenfeld M.E., Wang G., Schwarz I., Wormser G.P.: Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2005;18(3):484–509, <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.18.3.484-509.2005>
14. Bykowski T., Woodman M.E., Cooley A.E., Brissette A., Wallich R., Brade V. i wsp.: *Borrelia burgdorferi* complement regulator-acquiring surface proteins (BbCRASPs): Expression patterns during the mammal-tick infection cycle. *Int. J. Med. Microbiol.* 2008;298, Supl. 1:249–256, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.10.002>
15. Hofmann H., Wallach R., Lorenz I., Bechtel M.: Comparison of a new line assay using purified and recombinant antigens with a European lysate blot for serodiagnosis of Lyme borreliosis. *Int. J. Med. Microbiol.* 2006;296, Supl. 1:288–290
16. Zajkowska J., Kondrusik M., Pancewicz S., Grygorczuk S., Świerzińska R., Harmanowska-Szpakowicz T. i wsp.: Test Western blot z białkiem VlsE oraz antygenami „in vivo” w diagnostyce boreliozy z Lyme. *Przegl. Epidemiol.* 2006;60:177–185
17. Diterich I., Heter L., Hassler D., Wendel A., Hartung T.: Modulation of cytokine release in *ex vivo*-stimulated blood from borreliosis patients. *Infect. Immun.* 2001;69(2):687–694, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.69.2.687-694.2001>
18. Sjöwall J., Carlsson A., Vaarala O., Bergström S., Ernérudh J., Forsberg P. i wsp.: Innate immune response in Lyme borreliosis: Enhanced tumor necrosis factor- α and interleukin-12 in asymptomatic individuals in response to live spirochetem. *Clin. Exp. Immunol.* 2005;141(1):89–98, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02820.x>
19. Jarefors S., Bennet L., You E., Forsberg P., Ekerfelt C., Berglund J. i wsp.: Lyme borreliosis reinfection: Might it be explained by a gender difference in immune response? *Immunology* 2006;118(2):224–232, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2006.02360.x>
20. Kisand K.E., Prökk T., Kisand K.V., Lüüs S.M., Kalbe I., Uibo R.: Propensity to excessive proinflammatory response in chronic Lyme borreliosis. *APMIS.* 2007;115(2):134–141, http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_538.x