

# Puukborrelioos Saaremaal

Ülle Parm<sup>1,2</sup>, Egle Niitvägi<sup>3</sup>, Kaido Beljaev<sup>3</sup>, Tiiu Aro<sup>4</sup>, Evi Aotäht<sup>2</sup>, Kai Raska<sup>4</sup>, Jevgenia Epstein<sup>4</sup>, Marje Oona<sup>5</sup>, Irja Lutsar<sup>1</sup>

**Taust.** Puukborrelioosi riskirühmaks on sageli metsas viibivad isikud. Diagnostika põhineb antikehade sisalduse suurenemisel, kuid pole teada nende foontase ja ELISA-testi tulemuste kinnitamise vajadus immunoblotuuringuga.

**Eesmärk.** Selgitada puukborrelioosivastaste antikehade esinemine tervete jahimeeste vereseerumis ning hinnata ELISA-testi ja immunoblotuuringu omavahelist korrelatsiooni.

**Meetodid.** Saaremaal küsitleti jahimehi (n = 184) varasema borrelioosi võimaliku esinemise suhtes ning määrati IgM- ja IgG-tüüpi antikehad ELISA-meetodil. Perearstide poole pöördunud 181 ELISA-testi järgi positiivse tulemusega (109 testi näitas IgM-tüüpi ja 123 IgG-tüüp antikehi) patsienti anketeeriti ja nende veri testiti üle immunoblotuuringuga.

**Tulemused.** Jahimeestest olid IgG- ja IgM-tüüpi antikehad olemas vastavalt 47%-l ja 5%-l. Metsas käimise sagedus ja puugirünnete osakaal antikehade olemasolu ei mõjutanud, küll aga oli IgG-tüüpi antikehade olemasolu sagedasem vanematel ja pikema jahimehestaažiga isikutel. ELISA-testi immunoblotiga kinnitamisel ilmnas, et IgM- ja IgG-tüüpi antikehade valepositiivseid tulemusi oli vastavalt 24%-l ja 19%-l. ELISA-testi positiivne prognoosiv väärtus IgM-tüüpi antikehade korral oli 76% (95% uv 67–84) ja IgG-tüüpi antikehade korral 81% (73–88). *Erythema migrans*'i esinemissagedus oli väike ega olnud seotud antikehade positiivsete tulemustega.

**Järeldused.** Seropositiivsus jahimeeste hulgas on suur, mistõttu ei saa pelgalt antikehade ja ebaspetsiifiliste kliiniliste sümptomite alusel puukborrelioosi diagnoosida. ELISA-testi spetsiifilisus on vähene antikehade piiripealsete või nõrgalt positiivsete väärtuste korral ja seega on vajalik tulemused kinnitada immunoblotuuringuga.

Puukborrelioos ehk Lyme'i tõbi on looduskoldeline infektsioonhaigus, mille esinemissagedus on viimase aastakümne jooksul vähemalt üheksas Euroopa riigis suurenenud (1). Haiguse esinemist on täheldatud aprillist novembrini (2). Ka Eesti on puukborrelioosi endemiline piirkond. Eriti suured haigusnäitajad on Saaremaal (2011. aastal 1045 juhtu 100 000 elaniku kohta) (3) ning see on tinginud ka arutelu võimalikust haiguse ülediagnoosimisest.

Euroopas kandub haigus inimesele *Ixodes*'e perekonda kuuluvate puukide vahendusel (4, 5), kes nakatuvad põtrade, kitsede, näriliste või muude loomade vere imemisel (4) ning kellest on infitseeritud ligikaudu 14–36% (6–8). Haigustekitaja paljuneb puugi süljenäärmetes ja kõige tõenäolisem ülekande toimub 36–48 tundi pärast puugihammustust; minimaalseks

nakatumisajaks võib olla 17–24 tundi pärast puugihammustust (2, 9).

Nii haigestumise kui ka antikehade kõrget taset on täheldatud sageli metsas viibivate inimeste seas (10), kellest nii Austrias, Jaapanis kui ka Hollandis on varem uuritud jahimehi (11–13). Nendest uuritavatest selgus, et pärast puugihammustusi esines uuritavatel pigem naha sügelust kui löövet (12). Samuti esines jahimeestel sageli veres borreliavastaseid IgG-tüüpi antikehi (54%), mille sagedus oli positiivses korrelatsioonis vanusega (11) ja jahimehestaažiga (14), ning see võib viidata elukondlikule immuniseerumisele.

Seega ei ole Lyme'i tõbi, eriti tüüpilise erüteemi puudumise korral (3) ja piirkondades, kus antikehade tase rahvastiku seas on kõrge (15), kergesti diagnoositav ning kindlasti on vaja arvestada anamneesis

Eesti Arst 2015; 94(4):203–210

Saabunud toimetusse: 13.10.2014  
Avaldamiseks vastu võetud: 03.03.2015  
Avaldatud internetis: 30.04.2015

<sup>1</sup> TÜ mikrobioloogia instituut,  
<sup>2</sup> Tartu Tervishoiu Kõrgkool,  
<sup>3</sup> Quattromed HTI Laborid OU,  
<sup>4</sup> Terviseamet,  
<sup>5</sup> TÜ peremeditsiinikliinik

Kirjavahetajaautor:  
Ülle Parm  
ylleparm@nooruse.ee

Võtmesõnad:  
puukborrelioos,  
jahimehed, ELISA-test,  
immunoblotuuring

esinenud puugirünnet, tüüpilist kliinilist pilti ja laboratoorseid uuringuid (16, 17).

Laboratoorses praktikas soovitatakse kasutada kaheastmelist antikehade määramist (18, 19). Esmalt määratakse neid ensüümikaudsel immunosorptsioonimeetodil (ELISA-test), mis on tundlik, kuid ei pruugi olla piisavalt spetsiifiline ning eri firmade testid võivad anda erinevaid tulemusi (20). Selleks et välistada ELISA-testi valepositiivseid tulemusi, tuleks testiga saadud positiivsed ja piiripealsed vastused kinnitada spetsiifilisel immunoblotmeetodil (18, 19, 21, 22). IgM-tüüpi antikehad ilmuvad verre tavaliselt 2.–4. nädalal ja neid ei ole mõtet määrata kliiniliselt diagnoositava *erythema migrans*'i esinemisel, kuna oluline on võimalikult varane ravi alustamine (3, 22). Varase neuroborrelioosi korral on haigestunute seropositiivsus ligikaudu 80% (18). IgG-tüüpi antikehad ilmuvad verre umbes kuu pärast puugi hammustust (9). Püsivad immuunsust pärast haiguse põdemist ei kujune (9). Serokonversiooni ei pruugi tekkida varase ja efektiivse ravi rakendamise korral (17).

Töö ajendiks olid Saaremaa suured haigestumusnäitajad, mistõttu pidasime oluliseks hinnata sealsete sageli metsas viibivate isikute – jahimeeste – borreliavastaste antikehade taset ning analüüsida, kas ja millal vajab ELISA-test immunoblotuurin-guga kinnitamist.

Töö üks eesmärke oli selgitada puukborrelioosivastaste IgM- ja IgG-tüüpi antikehade esinemissagedus Saaremaa jahimeeste vereseerumis. Teiseks eesmärgiks oli selgitada, kui suur osa puukborrelioosi diagnoosimisel ELISA-testi järgi positiivsetest tulemustest osutub positiivseteks ka immunoblotuurin-gut kasutades. Lisaks analüüsiti puugi-hammustuste, varasemate haigusjuhtude või haigussümptomite esinemissagedust ja ennetusmeetmete kasutamist nii antikehade esinemise kui ka mitteesinemise korral.

## METOODIKA

Töö põhineb kahe teineteist täiendava uuringu tulemustel. Esimene osa tööst (edaspidi jahimeeste uuring) viidi läbi koostöös Saare Jahimeeste Seltsiga nende XXII kokkutulekul, mis toimus 2012. aasta 30. juunil (23). Uuringusse kaasati 184 osalejat, kellest 17,4% olid naised. Uuritavate vanuse ja jahimehestaazi mediaan oli vastavalt 41 (kvartiilid 29–50) ja 10 (kvartiilid 5–24,5) aastat. Meeste (keskmine  $41,1 \pm 13,6$  a)

ja naiste (keskmine  $38,7 \pm 12,4$ ) vanus oli sarnane, kuid meeste jahimehestaaz (mediaan 12,5; kvartiilid 6–25,5) võrreldes naistega (mediaan 6; kvartiilid 2–10) oli oluliselt pikem ( $p < 0,001$ ).

Jahimeeste vereseerumist määrati ELISA-testiga nii IgM- kui ka IgG-tüüpi antikehi. Lisaks küsitleti neid puukide esinemise sageduse, varasemate puukborrelioosi diagnooside, haigusele viitavate sümptomite esinemise ja ennetusabinõude rakendamise kohta. Uuritavatelt võeti 4 ml verd, seerum eraldati tsentrifuugimisel 4 tunni jooksul ja säilitati maksimaalselt 3 päeva  $+4$  °C juures, misjärel analüüsiti seda Tartu Tervishoiu Kõrgkooli mikrobioloogia laboris. Antikehade määramiseks kasutati poolkvantitatiivset Anti-Borrelia ELISA-testi (Euroimmun, Lübeck, Saksamaa). Valguse neelduvuse mõõtmiseks 450 nm lainepikkusel kasutati ELISA plaadilugejat Sunrise (TECAN). Tootja soovitudest lähtudes hinnati nii IgM- kui ka IgG-tüüpi antikehade esinemist järgmiselt: alla 0,8 negatiivne,  $\geq 0,8$  kuni 1,1 piiripealne ja  $> 1,1$  positiivne (Euroimmun 2011). Kuna piiripealse vastusega testid on väheusaldusväärsed (3), ei võetud sellise tulemusega isikuid edasisse andmeanalüüsi.

Teise uuringu korraldasid TÜ mikrobioloogia instituut, TÜ peremeditsiini õppetool, Tervisekaitseinspeksioon (Terviseamet), Saare maakonna perearstid ja Quattromed HTI Laborid. Uuringusse kaasati puukborrelioosi kahtluse tõttu Saare maakonna perearstide poole ajavahemikul 01.08.2009 kuni 15.12.2009 pöördunud 181 patsienti, kes olid ELISA-testi kohaselt seropositiivsed. Patsientide seas korraldati ankeetküsitlus nende isikuandmete ning haiguse anamneesi ja sümptomite registreerimiseks. Ankeedile vastanutest 161-l (89%) võeti proov puukborrelioosi diagnoosi täpsustamiseks; 4 isikul (2,2%) oli testimise põhjuseks kokkupuude puukidega, 6 korral (3,3%) võeti analüüs patsiendi soovil ning 10-l (5,5%) oli muid põhjusi, mida ei täpsustatud. ELISA-testi järgi positiivsed vereseerumid (109 positiivsed IgM- ja 123 IgG-antikehade suhtes) testiti üle immunoblotuurin-guga Quattromed HTI laboris. Edaspidi on seda nimetatud antikehade uuringuks.

Antikehade uuringus ELISA-testi tegemiseks kasutati automaatanalüsaatorit DaVinci Quattro (firma BioMerieux, Marcy l'Etoile, Prantsusmaa). *Borrelia burgdorferi* vastaste

IgM- ja IgG-tüüpi antikehade määramiseks kasutati vastavalt reagente Anti-Borrelia ELISA ja Anti-Borrelia plus VisE ELISA firmalt Euroimmun (Lübeck, Saksamaa). Tootja soovitatud otsustuspiirid olid järgmised: alla 16 RU/ml negatiivne, 17–21,9 RU/ml piiripealne, üle 22 RU/ml positiivne. Immunoblotuuringute tegemiseks kasutati reagente *recomBlot BorreliaNB IgG ja IgM* firmalt Mikrogen (Neuried, Saksamaa) ning sel viisil saadud ebaselged ja negatiivsed tulemused analüüsiti üle teise tootja (Euroimmun) immunobloti reagentiga, milleks olid Anti-Borrelia (IgM) EUROLINE-RN-AT (22 analüüsi) ja Anti-Borrelia (IgG) EUROLINE-RN-AT (22 analüüsi). Analüüsid tehti tootja etteantud juhiste järgi.

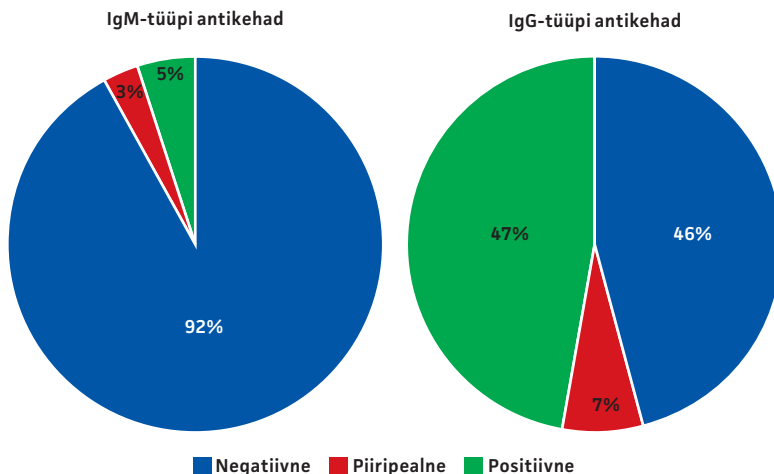
Ankeetidest saadud tulemuste töötlemiseks kasutati rühmade võrdluseks ka t- või  $\chi^2$ -testi (SigmaPlot for Windows 11.0; Jandel Corporation Corporation, USA), kusjuures statistiliselt oluliseks erinevuseks peeti  $p < 0,05$ . Arvestati Saarte Jahimeeste Seltsi kuuluvate jahimeeste arvu ( $n = 830$ ) ja 95% usaldustaseme saavutamist (Win Episcopo 2.0), leiti, et uuringusse tuleb kaasata vähemalt 119 uuritavat. Arvestades ELISA-testi komplekti proovide arvu (sobib 93 uuringuks), otsustati uurida 184 jahimeest. Antikehade uuringu ELISA-testi positiivse prognoosiväärtuse 95% usaldusvahemike (uv) arvutamiseks kasutati Clopperi-Pearsoni meetodit.

Jahimeeste ja antikehade uuringuteks saadi luba Tartu Ülikooli inimuuringute eetika komiteelt (vastavalt 04.04.2012. a luba nr 213/T-6 ja 01.08.2009. a luba nr 185/T-10). Kõik uuringus osalejad allkirjastasid teadliku nõusoleku vormi.

## TULEMUSED

### 1. Antikehade olemasolu uuringus osalenutel

Kahes uuringus osalenute andmed ja puugiründed on esitatud tabelis 1. Kõigist jahimeeste uuringus osalenutest oli ELISA-testiga määratuna 86-l (46,7%) IgG-tüüpi antikehad positiivsed ja lisaks neile peeti 13 isikul väärtus piiripealseks. IgM-tüüpi antikehad olid positiivsed 15-l (8,2%), kellest 5 isiku väärtus oli piiripealne (vt joonis 1). Samas 13 uuritul, kel olid positiivsed IgM-tüüpi antikehad, olid positiivsed ka IgG-tüüpi antikehad, kusjuures ühel juhul olid mõlema väärtused piiripealsed. Seega oli



Joonis 1. Antikehade esinemine Saaremaa jahimeestel ELISA-testi alusel.

vaid kaks jahimeest, kel olid positiivsed vaid IgM-tüüpi antikehad. Seetõttu kajastab edasistel joonistel-tabelitel IgG-tüüpi antikehade positiivsete vastustega rühm peaaegu kogu borrelioosi suhtes seropositiivsete isikute rühma. Antikehade uuringusse immunoblotiga kinnitamiseks võeti 181 anketeeritud patsiendi vereseerumid, millest vastavalt 109 ja 123 olid ELISA-testi järgi IgM- ja IgG-tüüpi antikehade suhtes positiivsed, kusjuures 51 patsiendil olid nii IgG- kui ka IgM-tüüpi antikehade väärtused positiivsed.

### 2. Antikehade kinnitamine immunoblotmeetodil

Immunoblotmeetodiga kinnitamiseks kaasati 109 IgM-tüüpi ja 123 IgG-tüüpi ELISA-testiga *B. burgdorferi* vastaste antikehade suhtes positiivse tulemusega vereseerumit. IgM-tüüpi antikehade keskmine tiiter oli 54,8 (minimaalne 17,1 ja maksimaalne 219) ning IgG-tüüpi antikehadel 36,8 (minimaalne 17,0 ja maksimaalne 250,0). Immunobloti võrdlemisel ELISA-testiga ilmnas, et ELISA-meetodil oli IgM-tüüpi antikehade valepositiivseid tulemusi 26-l (23,9%) ja IgG-tüüpi antikehade valepositiivseid 23 (18,7%) patsiendil. Seega oli ELISA-testi positiivne prognoosiv väärtus IgM-tüüpi antikehade korral 76% (95% uv 67–84%) ja IgG-tüüpi antikehade korral 81% (95% uv 73–88%). Selgus, et kaheastmelise testimise rakendamine on eriti oluline ELISA-testiga saadud piiripealsete ja väikeste positiivsete väärtuste juures, kuigi usalduspiirid on ka suuremate kontsentratsioonide juures laiad. ELISA-testi positiivseid vastuseid immunoblot-

uuringuga kinnitavad tulemused koos 95% usaldusvahemikuga on esitatud joonistel 2 A ja B.

### 3. Jahimeeste metsaskäigu sagedus ja puugiründed anamneesis

Üle poole jahimeestest käis metsas üle ühe korra ja umbes viiendik korra nädalas (vt tabel 1). Nii neil, kel IgM- või IgG-tüüpi antikehad olid positiivsed, kui ka nendel, kel spetsiifilised antikehad puudusid, oli metsas käimise harjumus sarnane. Samuti on neis rühmades sarnane viimase viie aasta jooksul puugiründe all kannatanud inimeste osakaal, olles keskmiselt 69%.

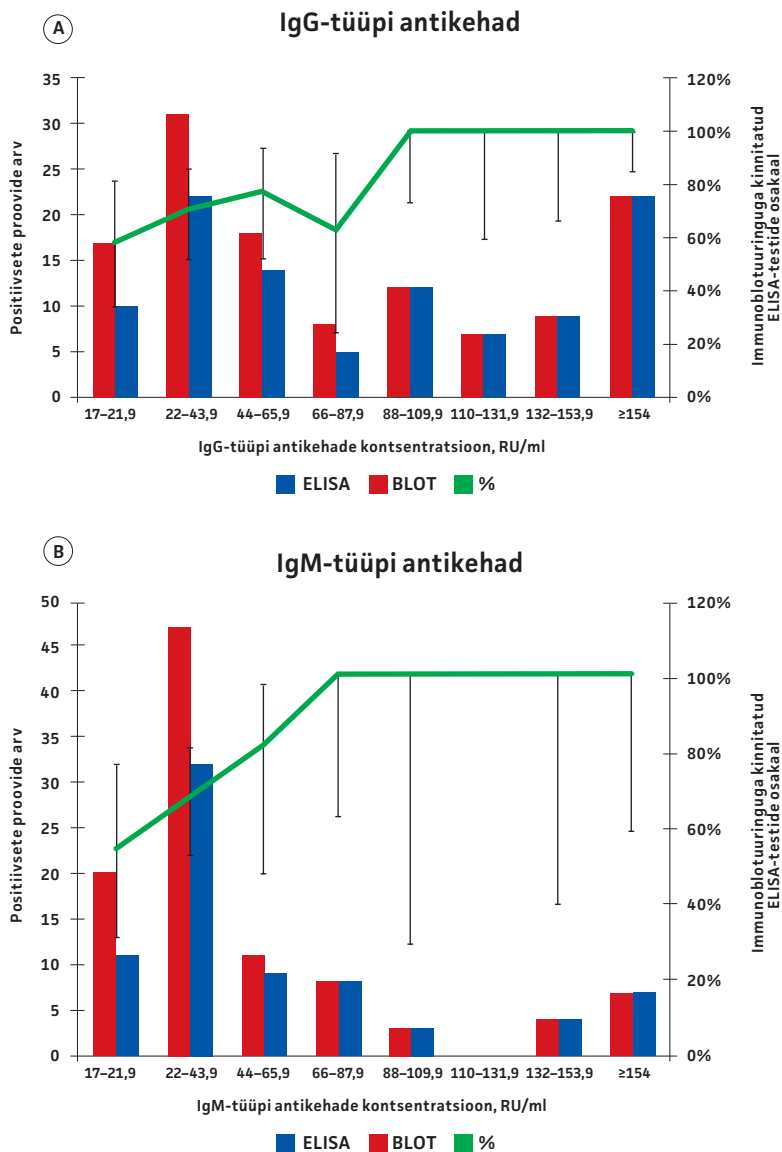
Viimase viie aasta puugiründe olemasolu ei mõjutanud antikehade olemasolu. Küll aga on vanus ja jahimehestaaz IgG-tüüpi antikehade positiivsete väärtustega rühmas suuremad võrreldes nendega, kel spetsiifilised antikehad puudusid. Antikehade uurimise osakaal oli osalenute seas anamneesis puugihammustusi 95%-l.

### 4. Puugirünnete esinemine kuude kaupa ning varasem Lyme'i tõve diagnoos ja ravi

Jahimeeste uuring kinnitab teadaolevat fakti, et puukide aktiivsus on suurem kevadest sügiseni (2, 12, 24). Antikehade olemasolu ei sõltu puugiründe ajast. Lyme'i tõbe oli varem diagnoositud 21,7%-l jahimeestest, kusjuures vastav diagnoos oli pandud 20%-le, kel oli uuringu ajal IgM-tüüpi antikehade määramise testi vastus positiivne; 32,2%-le IgG-tüüpi antikehade testi positiivse vastusega isikule ja 12%-le neist, kel spetsiifilised antikehad puudusid. Seitse uuringus osalejat väitsid, et neil on haigus eelnevalt diagnoositud kahel korral, ja kolm, et kolmel korral. Tulemus on analoogne antikehade uurimise osalejatega, kellest 27,6%-l (n = 50) oli haigus ka varem diagnoositud. Ka varasema ravi poolt on kahe uuringu tulemused sarnased. Nimelt oli seda varem saanud 20,7% jahimeestest ja 31,5% (n = 57) antikehade uurimise osalenutest.

### 5. Sümptomid pärast puugihammustust

Mõlemas uurimises selgitati võimalike puukborrelioosile viitavate sümptomite olemasolu ja andmed nende esinemise kohta on esitatud tabelis 2. Sellele küsimusele vastas 125 uurimises osalenud jahimeest, kes olid enda arvates terved ja kellest 48,8%-l antikehad puudusid. Antikehade uurimise osakaal puudusid kõigi haigusele viitavate sümptomite statistilised erinevused nii IgM- kui ka IgG-tüüpi antikehade rühmas valepositiivsete (ELISA-testi tulemusi immunoblot ei kinnitanud) ja immunoblotuuringu järgi positiivse vastusega gruppide vahel ning samuti jahimeeste uuringu kõigi rühmade vahel (IgM- ja IgG-tüüpi antikehad positiivsed ning need, kellel antikehad puudusid). Haiguse peamise sümptomi – *erythema migrans*'i – esinemine oli igas rühmas vähene ega olnud seotud haigust diagnoosima tulnutel antikehade esinemisega.



Joonis 2. ELISA-testi positiivne prognoosiv väärtus koos 95% usaldusvahemikuga.

## 6. Ettevaatusabinõud puukide vältimiseks ja nende kasutamise sagedus

Ettevaatusabinõusid kasutas iga kord 46%, tihti 24%, harva 12% ja mitte kunagi 18% jahimeestest ning seda tegid ühtmoodi nii need, kel esinesid haigusevastased

antikehad veres, kui ka need, kel neid ei esinenud. Sagedamini kasutati enda kaitseks pikki riideid (77%), kummikuid (69%), repellente (40%), püksisäärte panekut soki sisse (39%), aga ka küüslauku (7%). Uuringu tulemuste järgi antikehade olemasolu ettevaatusabinõud ei mõjuta.

**Tabel 1.** Uuritavate andmed, metsaskäimise sagedus ja puugirüüded

	Jahimehed			Antikehade uuring	
	IgM	IgG	Ig-ta	IgM	IgG
Uuritavate arv	n = 10	n = 86	n = 83	n = 109	n = 123
Elukoht linn (%)	10	13,9	31,3	45	39,6
Vanus (mediaan; kvartiilid)	42; 31–50	46; 36–55a	35; 26–43a	48; 35–61c	59; 46–66
Jahimehestaaž (mediaan; kvartiilid)	13; 6–25	17; 6–28b	7; 4–18b	AP	AP
Sugu: M / N (%)	90 / 10	83,7 / 16,3	79,5 / 20,5	30 / 70	30,7 / 69,3
<b>Metsas käimise sagedus (%)</b>					
kaks korda kuus	0,0	11,1	14,5	AP	AP
kord kuus	20,0	8,1	9,6	AP	AP
üks kord nädalas	0,0	17,2	26,5	AP	AP
> korra nädalas	80,0	62,6	49,4	AP	AP
Puugihammustus anamneesis	66,7	67,7	71,1	95	95
<b>Puugirüünete arv viimasel 5 aastal (%)</b>					
1	20,0	26,9	37,3	AP	AP
2 kuni 5	60,0	50,7	54,2	AP	AP
6 kuni 10	10,0	13,4	5,1	AP	AP
11 kuni 20	10,0	9,0	3,4	AP	AP
40	0,0	1,5	0,0	AP	AP

AP – andmed puuduvad; Ig-ta – spetsiifilised antikehad puuduvad; a, b, c – p < 0,001

**Tabel 2.** Puukborrelioosile viitavate sümptomite esinemissagedus (%)

	IgM		IgG		IgM	IgG	Ig-neg
	Vale-positiivne	Positiivne	Vale-positiivne	Positiivne			
n	26	83	22	101	4	52	61
Erüteem	3,8	13,8	17,4	8,9	30	31,4	21,7
Peavalu	15,4	22,5	30,4	27,7	10	14,0	12,0
Liigesevalu	38,5	42,5	39,1	36,6	0	25,6	21,7
Muu valu	15,4	20	17,4	15,8	0	17,4	14,5
Pearinglus	0	3,8	4,3	12,9	10	15,1	7,2
Palavik	11,5	3,8	4,3	5	AP	AP	AP
Nõrkus	7,7	13,8	4,3	9,9	AP	AP	AP
liveldus	AP	AP	AP	AP	0	3,5	2,4
Nahasügelus	AP	AP	AP	AP	40	38,4	49,4
Rütmihäired	AP	AP	AP	AP	0	2,3	2,4
Väsimus	34,6	43,8	52,2	43,6	AP	AP	AP

AP – andmed puuduvad



## ARUTELU

Jahimeeste seas korraldatud uuring näitab, et Saaremaal esinevad rohkem kui pooltel tervetel sageli metsas viibivatest isikutel veres borrelioosivastased IgG-tüüpi antikehad, kusjuures IgM-tüüpi antikehi oli vaid 5%-l uuritustest. Lisaks sellele kinnitas uuring ELISA-testi vähest spetsiifilisust. Immunoblotuuringuga kinnitati vaid kolmveerand ELISA-testi järgi positiivsetest tulemustest, kusjuures antikehade väiksema kontsentratsiooni juures oli ka immunoblotuuringuga kinnitatud ELISA-testi järgi positiivsete tulemuste arv väiksem.

Sarnaste tulemustega uuringuid jahimeeste seas on tehtud ka teistes riikides (11, 14). Näiteks olid Austrias (11) 1253 uuringus osalenud tervest jahimehest 54%-l IgG-tüüpi antikehad positiivsed (meie uuringus 47%-l). Hollandis (13) oli IgG-tüüpi antikehadega jahimehi 68%, kellest 94%-l ei olnud esinenud puukborrelioosile viitavaid sümptomeid. Mõneti väiksem seropositiivsus (16%) esines Jaapanis (12, 14) Hokkaido jahimeeste seas (n = 587) ning see võib olla tingitud mõneti erinevast geograafilisest piirkonnast ja sealsetest keskkonningimustest, mis määravad puukide asustustiheduse, infitseerituse ja ka nende aktiivsuse (7, 24).

Kuigi tänapäeval soovitatakse kahestmelisest antikehade määramist (18, 19), kasutati jahimeeste uuringus vaid esmakasutamiseks soovitatud ELISA-testi, mis on tundlik, kuid ei pruugi olla spetsiifiline, eriti piiripealsete väärtuste korral (20). Seda kinnitaski antikehade uuring, kus ELISA-testi piiripealsete ja positiivsete tulemuste immunoblotuuringuga kinnitamise tase oli madal ja seda eriti antikehade väiksema kontsentratsiooni korral. Näiteks oli alates väärtusest 90 RU/ml ELISA-testi positiivne prognoosiv väärtus 100%, kuigi usalduspiirid olid laiad ka suuremate kontsentratsioonide juures. Seega ei saa välistada, et jahimeeste uuringus on valepositiivseid tulemusi, kuid ülevaate olukorrast see siiski annab. Eeskätt oleks piiripealsed tulemused tulnud kinnitada immunoblotuuringuga (18, 19, 22). Selliseid ELISA-testi järgi piiripealseid tulemusi oli jahimeeste uuringus 17-l (13-l IgG-tüüpi ja 5 isikul IgM-tüüpi antikehad), s.o 9,2%-l osalejatest.

Tuleb arvestada, et ELISA-meetodil võivad valepositiivseid tulemusi anda ka näiteks antikehad, mis esinevad patsientide

seerumis teiste haiguste korral: autoimmuunhaigused (nt reumatoidartriit), Epstein-Barri viirusinfektsioon, bakteriaalne endokardiit, süüfilis, teised spiroheetide põhjustatud haigused, anaplasmoos või *Helicobacter pylori* infektsioon (25, 26). Ennekõike on aga asümptoomsetel isikutel antikehade esinemise põhjuseks asjaolu, et puukborrelioosivastased antikehad võivad püsida aastaid (9, 27). Kinnitav immunoblotuuring on küll spetsiifiline, kuid tulemuste tõlgendamine on subjektiivne, kui seda tehakse visuaalselt (25). Alati ei välista ka see meetod valepositiivset vastust ning haiguse ülediagnoosimist (3).

Ka antikehade olemasolu korral on sageli raske otsustada, kas tegemist on esmase haigestumise, haiguse generalisatsiooniga või elukondliku immuniseerumisega. Kui jahimeeste uuringus oli haigus varem diagnoositud üle viiendikul uuringus osalenutest (n = 40), siis uuringu ajal olid neist IgG-tüüpi antikehad positiivsed 21,7%-l ja 5%-l oli positiivne ka IgM-tüüpi antikehade leid. Seega ei pruugi haigust põdenutel neid enam olla, kuna antikehad ei ole alati püsivad ja nende olemasolu ei saa arvestada ka ravi edukuse hindamisel (27). Lisaks tuleb ka arvestada, et immuunsus pole eluaegne ja korduvad nakatumised, eriti neil, kes said pärast haigestumist kohe ravi, on võimalikud (9). Jahimeeste uuringus oli puukborrelioosi korduvalt diagnoositud kümnel uuringus osalenul, kusjuures neist kolmel kolm korda. Samas ei olnud ligikaudu pooltel uuritavatest, kel esinesid spetsiifilised antikehad, haigusele viitavaid sümptomeid kunagi esinenud. Kahjuks ei saa töö põhjal otsustada antikehade püsivuse üle, kuna ankeedis ei küsitud haiguse esinemise aastat.

Mõlema Saaremaal korraldatud uuringu põhjal võib öelda, et vaid ebaspetsiifiliste sümptomite ja antikehade olemasolu ei võimalda puukborrelioosi diagnoosida. Nimelt prevaleerisid antikehade uuringus osalejate seas peamiselt haiguse mittespetsiifilised sümptomid nagu pea- ja liigesevalu, mis esinevad sageli selle haiguse korral lisaks halvale enesetundele, jõuetusele, väsimusele, meeleolumuutusele, palavikule ja lihasevalule (18, 22). Siiski on see andnud aluse tõendusel mittepõhineva arusaama levikuks, et nende sümptomite olemasolu viitab kohe Lyme'i tõvele (28). Samas on *erythema migrans* spetsiifiline kliiniline sümptom, kuid see pole alati seotud

antikehade olemasoluga, samuti võivad antikehad puududa varase neuroborreliosis korral (22). Võimalik, et kiiresti teostatud efektiivse ravi tõttu ei teki serokonversiooni (17). Samas esines *erythema migrans*’it antikehade uuringus vaid umbes kümnendikul uuringus osalejatest, seejuures leidusid IgM-tüüpi antikehad vaid 13,8%-l ning see paneb mõneti kahtlema selle diagnoosi tõepärasuses. Jahimeeste uuringus oli *erythema migrans* esinenud 47,5%-l isikutest, kes olid varem Lyme’i tõbe põdenud. Siiski ei saa me olla ka täiesti kindlad selle esinemissageduses, kuna küsiti vaid erüteemi esinemist. Tuleb arvestada, et tegemist võis olla ka reaktsiooniga puugihammustusele, bakteriaalse tselluliidi, roosinfektsiooni või kontaktdermatiidiga (3).

Profülaktikanõuded on iseenesestmõistetavad, kuid kolmandik jahimeestest ei kasuta neid üldse või teeb seda harva. Ülejäänud siiski arvestavad metsameestele mõeldud üldisi soovitusi, mille kohaselt välditakse puugirünnet õige riietumisega, kandes looduses pikkade käistega särke ja pannes püksisääred sokkide sisse (18, 19). Samuti on soovitatav kasutada repellenti (9, 18). Töö tulemused näitavad siiski, et kaitsevahendite kasutamine ei mõjutanud antikehade olemasolu.

## JÄRELDUSED

Jahimeeste seas korraldatud uuring kinnitab, et seropositiivsus borreliosis suhtes Saaremaa jahimeeste hulgas on kõrge, mistõttu pelgalt antikehade esinemise ja ebaspetsiifiliste kliiniliste sümptomite alusel Lyme’i tõbe diagnoosida ei saa. Veelgi enam, arvestades ELISA-testi vähest spetsiifilisust just antikehade väikeste väärtuste korral, tuleks piiripealsed ja nõrgalt positiivsed tulemused alati kinnitada immunoblotmeetodil, kuid viimast meetodit pole ilmtingimata tarvis kasutada ELISA-testi järgi määratud antikehade suure kontsentratsiooni korral. Kaheastmelise diagnostika rakendamine võimaldab vähendada analüütiliselt valepositiivsete tulemuste osakaalu ja sellest potentsiaalselt tingitud puukborreliosisi ülediagnoosimist. Meie uuringute tulemused lubavad järeldada, et puukborreliosisi suur haigestumus Saaremaal võib osaliselt olla tingitud antikehade olemasolu ületähtsustamisest ja seda eriti isikutel, kellel puukborreliosisi tüüpilised sümptomid puuduvad.

## TÄNUAVALDUS

Täname Tartu Tervishoiu Kõrgkooli rakendusuuringute nõukogu, kes rahastas Egle Niitvägi läbiviidud jahimeeste uuringut; Saarte Jahimeeste Seltsi ja kõiki jahimehi, kes nõustasid uuringus osalema; Kuressaare Haiglat ja perearste (Anu Kriscka, Kersti Tuuling, Ain Aus, Kerli Jaagosild, Eve Nurmekivi, Eha Tali, Katrin Kallasmaa, Mari Soots, Lea Uutsalu, Elo Lember, Eve Piipuu, Ingrid Tamm, Jaan Kirs, Kaalep Koppel, Merike Rüütel, Sille Väli, Tiina Tarkin ja Triin Nirgi), kes aitasid andmeid koguda; Terviseametit antikehade uuringuks vajalike immunoblotreaktiivide ostmise rahastamise eest ja selle töötajaid Natalia Kerbot ning Linda Jõed; Quattromedi ja selle töötajaid (Piret Kedars, Kai Jõers, Kristi Lokko ja Pilvi Jürisaar), kes aitasid uuringut läbi viia.

## VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Artikkel on valminud autori sõltumatu uurimistöö tulemusel.

## SUMMARY

### Lyme borreliosis in Saaremaa

Ülle Parm<sup>1,2</sup>, Egle Niitvägi<sup>3</sup>, Kaido Beljaev<sup>3</sup>, Tiit Aro<sup>4</sup>, Evi Aotäht<sup>2</sup>, Kai Raska<sup>4</sup>, Jevgenia Epštein<sup>4</sup>, Marje Oona<sup>5</sup>, Irja Lutsar<sup>1</sup>

**Background:** Estonia is an endemic country of Lyme borreliosis with an especially high prevalence in Saaremaa. Previous studies have shown high antiborrelial antibody levels in populations that spend a significant amount of time outdoors in endemic areas. Although the two-step serological testing has been recommended for Lyme borreliosis in most guidelines, in practice only immunoenzymatic (ELISA) tests are often used.

**Aim:** We aimed (1) to determine the level of anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies (IgG and IgM) in otherwise healthy hunters; (2) to compare the results of ELISA and immunoblotting in terms of IgM and IgG antibodies; (3) to describe reasons for testing for borreliosis.

**Methods:** Two studies were carried out in Saaremaa. In 2012, 184 hunters filled in a questionnaire and gave blood samples to measure IgM and IgG antibodies with ELISA. The other study was conducted by general practitioners in 2009. Within that study 181 subjects who had been tested seropositive by ELISA (109 had IgM antibodies and 123 had IgG antibodies) filled in the questionnaire and had their blood samples retested by immunoblotting.

**Results:** Altogether 86 (46.7%) and 10 (5.4%) hunters were seropositive for IgG and IgM

<sup>1</sup> Department of Microbiology, University of Tartu, Tartu, Estonia

<sup>2</sup> Tartu Health Care College, Tartu, Estonia

<sup>3</sup> Quattromed HTI Laboratories, Tallinn, Estonia

<sup>4</sup> Health Board, Tallinn, Estonia

<sup>5</sup> Department of Family Medicine, University of Tartu, Tartu, Estonia

Correspondence to: Ülle Parm  
ylleparm@nooruse.ee

**Keywords:** Lyme borreliosis, hunters, ELISA, immunoblotting

antibodies, respectively. Seropositivity was not related to frequency of visiting forest and/or to number of tick bites in the past 5 years (69%), however, IgG seropositivity was positively correlated with age and with duration of hunting activities.

The mean titres of IgM and IgG were 54.8 (17.1- 219) and 36.8 (17.0- 250.0) in patients tested by GPs, respectively. Comparison of the ELISA and immunoblotting results showed that 26 (23.9%) and 23 (18%), respectively, were false positive by ELISA. The positive predictive value was 76% in testing IgM (95% CI 67-84%) and 81% in testing IgG (95% CI 73-88%). The prevalence of *erythema migrans* was low and did not correlate with presence of antibodies.

**Conclusions:** As the background seropositivity of Lyme borreliosis in hunters in Saaremaa is high, antibody testing can support the diagnosis only when typical clinical findings of Lyme borreliosis are present. In the case of low antibody levels, immunoblotting is required to confirm positive ELISA results.

KIRJANDUS/REFERENCES

1. Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, et al. Driving forces for changes in geographical distribution of Ixodes ricinus ticks in Europe. *Parasit Vectors* 2013;6:1–11.
2. Bratton RL, Whiteside JW, Hovan MJ, Engle RL, Edwards FD. Diagnosis and treatment of Lyme disease. *Mayo Clin Proc* 2008;83:566–71.
3. Prükk T, Maimets M, Lutsar I. Lyme'i tõve nüüdisaegne diagnostika ja ravi. *Eesti Arst* 2012;91:141–7.
4. Norris SJ. How do Lyme borrelia organisms cause disease? The quest for virulence determinants. *Open Neurol J* 2012;6:119–23.
5. Tilly K, Rosa PA, Stewart PE. Biology of infection with *Borrelia burgdorferi*. *Infect Dis Clin North Am* 2008;22:217–34.
6. Ader M, Jõgi E. Puukide asustustihedus, *Borrelia burgdorferi* sensu lato kandvus ja erinevate genotüüpide esindatus Pärnu- ja Valgamaa puukide seas. Rmt: Varik M, toim. Tartu Tervishoiu Kõrgkooli uurimistöde kogumik VIII. Tartu: Paar OÜ, 2014:9–23.
7. Rauter C, Hartung T. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in Ixodes ricinus ticks in Europe: a meta-analysis. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:7203–16.
8. Hengge UR, Tannapfel A, Tyring SK, Erbel R, Arendt G, Ruzicka T. Lyme borreliosis. *Lancet Infect Dis* 2003;3:489–500.
9. Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. Lyme borreliosis. *Lancet* 2012;379:461–73.

10. Buczek A, Rudek A, Bartosik K, Szymanska J, Wojcik-Fatla A. Seroepidemiological study of Lyme borreliosis among forestry workers in southern Poland. *Ann Agric Environ Med* 2009;16:257–61.
11. Cetin E, Sotoudeh M, Auer H, Stanek G. Paradigm Burgenland: risk of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection indicated by variable seroprevalence rates in hunters. *Wien Klin Wochenschr* 2006;118:677–81.
12. Kubo N, Arashima Y, Yoshida M, et al. Questionnaire surveys of cases of tick bite and Lyme borreliosis in hunters in Hokkaido with reference to detection of anti-*Borrelia burgdorferi* antibody. *Intern Med* 1992;31:1163–8.
13. Goossens HA, van den Bogaard AE, Nohlmans MK. Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in The Netherlands. *J Clin Microbiol* 2001;39:844–8.
14. Kubo N, Arashima Y, Kawabata M, Kawano K, Nakao M, Miyamoto K. Study of the anti *Borrelia burgdorferi* antibody of hunters in Hokkaido. *Kansenshogaku Zasshi* 1992;66:45–50.
15. Aucott J, Morrison C, Munoz B, Rowe PC, Schwarzwald A, West SK. Diagnostic challenges of early Lyme disease: lessons from a community case series. *BMC Infect Dis* 2009;9:79.
16. Prükk T, Kisand K. Puukborrelioos. *Eesti Arst* 2009;88:830–34.
17. Glatz M, Golestani M, Kerl H, Mullegger RR. Clinical relevance of different IgG and IgM serum antibody responses to *Borrelia burgdorferi* after antibiotic therapy for erythema migrans: long-term follow-up study of 113 patients. *Arch Dermatol* 2006;142:862–8.
18. British Infection Association. The epidemiology, prevention, investigation and treatment of Lyme borreliosis in United Kingdom patients: a position statement by the British Infection Association. *J Infect* 2011;62:329–38.
19. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2006;43:1089–134.
20. Ang CW, Notermans DW, Hommes M, Simoons-Smit AM, Herremans T. Large differences between test strategies for the detection of anti-*Borrelia* antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011;30:1027–32.
21. Robertson J, Guy E, Andrews N, et al. A European multicenter study of immunoblotting in serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol* 2000;38:2097–102.
22. Stanek G, Fingerle V, Hunfeld KP, et al. Lyme borreliosis: clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:69–79.
23. Niitvägi E, Aotäht E, Treial M. Puukborrelioosi tekitajate vastaste antikehade esinemine Saaremaa jahimeeste vereseerumis ja nende teadlikkus puukborrelioosist VII. Rmt: Varik M, editor. Tartu Tervishoiu Kõrgkooli uurimistöde kogumik. Tartu: Paar OÜ, 2013:47–54.
24. Kurtenbach K, Hanincova K, Tsao JI, Margos G, Fish D, Ogden NH. Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. *Nat Rev Microbiol* 2006;4:660–9.
25. Lindsay L, Bernat K, Dibernardo A. Laboratory diagnostics for Lyme disease. *Canada Communicable Disease Report CCDR* 2014;40-11. ISSN 1481-8531 (On-line) <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/14vol40/dr-rm40-11/dr-rm40-11-lyme-2-eng.php>.
26. Brouqui P, Bacellar F, Baranton G, et al. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:1108–32.
27. Kalish RA, McHugh G, Granquist J, Shea B, Ruthazer R, Steere AC. Persistence of immunoglobulin M or immunoglobulin G antibody responses to *Borrelia burgdorferi* 10–20 years after active Lyme disease. *Clin Infect Dis* 2001;33:780–5.
28. Feder HM, Jr., Johnson BJ, O'Connell S, et al. A critical appraisal of "chronic Lyme disease". *N Engl J Med* 2007;357:1422–30.