

# LABORATORNÍ LISTY

č. 30/2019

Září 2019

Vážené kolegyně a kolegové,

v dnešním čísle laboratorních listů Vám přinášíme podrobnější informace o diagnostice lymeské boreliózy. Příjemné čtení.

## DIAGNOSTIKA LYMESKÉ BORELIÓZY – INFORMACE Z NRL

Lymeská borelióza je nejrozšířenější onemocnění přenášené vektory. Hlavním vektorem lymeské boreliózy je v Evropě klíště *Ixodes ricinus*. Patogenem způsobujícím toto onemocnění je komplex spirochet *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Onemocnění postihuje mnoho orgánů a projevuje se rozmanitými klinickými symptomy od nespecifických chřipkovitých příznaků a nejčastější kožní manifestaci, erythema migrans, po pozdní kožní manifestace, záněty kloubů, neurologické symptomy a postižení srdce či oka.

Diagnostika lymeské boreliózy je založena na sérologickém průkazu protilátek. Molekulární metody jsou pomocné a doplňující.

V současné době není k dispozici vakcína pro humánní účely. Jedinou účinnou prevencí je používání repelentů, vhodného oděvu a obuvi při pobytu v přírodě. Důležité je i rychlé odstranění přisátého klíštěte a následná dezinfekce ranky.

### Nepřímá diagnostika lymeské boreliózy

Průkaz specifických protilátek je základem plošné diagnostiky LB. Hlavní výhodou je vysoká senzitivita těchto metod. Nepřímá diagnostika je založená na průkazu časných IgM a pozdních IgG protilátek. Časně protilátky se tvoří nejčastěji ve 3. až 6. týdnu od přisátí klíštěte, poté jejich hladina v krvi většinou klesá. Pozdní IgG protilátky se tvoří v nejvyšší míře v 6. až 10. týdnu od přisátí klíštěte, poté jejich syntéza pozvolna klesá, může však přetrvávat i řadu let po infekci.

Sérologická diagnostika LB spočívá v dvoustupňovém testování. Prvním krokem je vyhledávací test, dnes většinou enzymová imunoanalýza (ELISA), dříve nepřímá imunofluorescence (IFA). V případě pozitivního či hraničního výsledku je potřeba provést druhý – konfirmační krok metodou Western blot (WB) ve třídách IgM a IgG. Pouze takto konfirmovaný test lze považovat za pozitivní.

Jako vhodný materiál pro sérologické vyšetření je možné využít sérum, mozkomíšni mok či synoviální tekutinu.

Při hodnocení laboratorních výsledků je nutno počítat s tím, že až u desetin procent zdravých osob v ČR lze prokázat přítomnost protilátek a to i vysokých titrů. Výška titru protilátek neznačí vážnost infekce.

Sérologické metody mohou být falešně negativní při brzkém vyšetření pacienta. Protilátky třídy IgG (méně často i IgM) mohou přetrvávat řadu let po naze, ale jejich přítomnost neznačí přetrvávání infekce. Bylo prokázáno, že ve zvláštních případech (nedostatečná imunitní stimulace, imunosuprese pacientů) může syntéza specifických protilátek zcela chybět. Při hodnocení výsledků je také třeba myslet na možnou zkříženou reaktivitu s jinými patogeny stimulujícími imunitu (EBV). Při dlouhodobé pozitivitě protilátkových testů je nutné zvažovat současně probíhající nebo boreliózou spuštěná autoimunitní onemocnění.

## Nepřímá imunofluorescence - IFA

Princip testu spočívá v navázání antiborreliových protilátek v séru pacienta na borrelie fixované na sklíčku a v následné vazbě fluorescenčně značeného antiséra proti lidskému imunoglobulinu. Vizualizace testu se provádí pod fluorescenčním mikroskopem. Metoda je pracná, nákladná, hodnocení subjektivní.

## Enzymová imunoanalýza – ELISA, EIA

Principem je navázání protilátky v séru pacienta na antigen vázaný na dně jamky mikrotitrační destičky. Na antiborreliovou protilátku se váže protilátka proti lidskému imunoglobulinu s navázaným enzymem. Ten pak štěpí substrát za vzniku barevného produktu. Vizualizace se provádí spektrofotometricky. Výhodou metody je objektivní semikvantitativní hodnocení a možná automatizace. Nevýhodou pak možná falešná pozitivita u autoimunitních chorob a zkřížená reakce s jinými mikroorganismy.

## Western Blot – Immunoblot

Je technika používaná k detekci specifických protilátek v séru pacienta na antigeny vázané na nitroceluló-zovou membránu. Výhodou je větší senzitivita i specificita díky individuálním antigenům. Test je nicméně časově náročnější, dražší a vyžaduje větší množství vzorku. Hodnocení WB se liší v Evropě a v USA.

## Přímá diagnostika lymeské boreliózy

Spočívá v přímém průkazu borrelií nebo jejich částí metodami mikroskopickými, histologickými a kulturač-ními nebo v průkazu nukleových kyselin (DNA) molekulárními metodami.

## Molekulární metody

Nejčastěji používanou molekulární metodou je polymerázová řetězová reakce (PCR). Průkaz specifické DNA není schopen rozlišit mezi DNA živých a mrtvých borrelií, a proto pozitivní výsledek nelze považovat auto-maticky za průkaz aktivní infekce ani použít k hodnocení úspěšnosti antibiotické léčby. Test může být užitečný při použití v některých tělních tekutinách nebo v některých fázích infekce a může fungovat jako doplňkové vyšetření.

## Kultivace

Kultivace borrelií je časově a finančně náročná metoda. Využívá se pro výzkumné účely, nikoliv pro rutinní diagnostiku. Borrelie jsou nutričně náročné a kultivují se ve speciálních tekutých mediích v mikroaerofilních podmínkách. Úspěšná kultivace může trvat 4 až 12 týdnů. Vizualizace kultury během růstu se provádí mikroskopicky v temném poli a rovněž se úspěšnost kultivace kontroluje pomocí PCR. Vhodným materiá-lem pro kultivaci jsou biopsie tkání, tělní tekutiny jako synoviální tekutina, mozkomíšní mok a krev.

### Literatura

Jiří Beneš, *Infekční lékařství*

*Zprávy CEM 7-8, ročník 27 červenec, srpen 2018*



**Institut laboratorní  
medicíny**

**Sang Lab - klinická laboratoř, s. r. o.**  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary  
**Karlovarské imunologické centrum s. r. o.**  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary  
**TECTUM spol. s r. o.**  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary  
**Jiří Voženílek spol. s r. o.**  
Pražská 258, 276 01 Mělník

**Hematocentrum s. r. o.**  
nám. Dr. M. Horákové 1313/8, 360 01 Karlovy Vary  
**VARAPALO s. r. o.**  
nám. Dr. M. Horákové 1313/8, 360 01 Karlovy Vary  
**ALERGOAMB s. r. o.**  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary

[www.labin.cz](http://www.labin.cz)