



Možnosti diagnostiky Lymfské boreliózy

MVDr. Mašková Romana
Odd. parazitologie a lékařské zoologie Karviná



Lymská borelióza /LB/

Multisystémové onemocnění

Původce: bakteriální spirocheta **Borelia burgdorferi sensu lato**

Patogenní kmeny:

B.burgdorferi sensu stricto

B.garinii

B.afzelii

/B.valaisiana/

Vektor : klíště obecné / **ixodes ricinus/**

všechna vývojová stadia / larva, nymfa - často přehlédnutelné /



Lymfská borelióza /LB/ - Klinické příznaky

Klinické formy LB:

67% kůže

17% muskuloskeletární systém

13% nervový systém

Dále oční, srdeční a jiná forma...

Rozdělení do 3 stadií:

1. Časné lokalizované

2. Časné diseminované

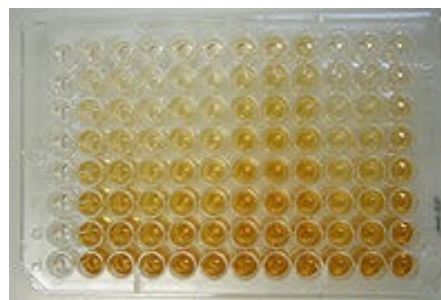
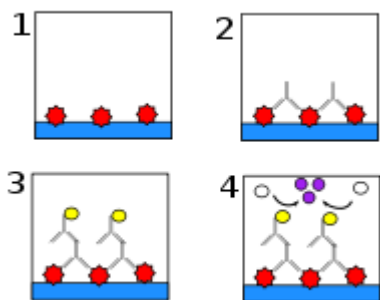
3. Pozdní diseminované

/1., 2. vyvolané samotným působením spirochet

3. možný vliv imunopatologický /

Metody průkazu onemocnění - ELISA

- **základní metodou** laboratorního průkazu LB
- jde o **průkaz specifických antiboreliových protilátek ve třídě IgG a IgM** v lidském séru, plazmě, synoviální tekutině a mozkomíšním moku
- nejčastěji se využívá metody imunoenzymatické analýzy (**EIA, ELISA**) / interakce antigenu se specifickými protilátkami in vitro za tvorby imunokomplexu , který je následně označen enzymatickou značkou /





Metody průkazu onemocnění - ELISA - interpretace

- první protilátky / IgM / zhruba za 10 dní po přisátí **klíštěte**, obvykle i později /pokud odebereme krev bezprostředně po přisátí klíštěte, pak vhodné opakovat za 2-5 týdnů /
- ve stadiu **erythema migrans (EM)** protilátky často nemusí být vyvinuty
- v průběhu terapie může ještě dojít k dodatečnému vzestupu hladin protilátek
- po úspěšné terapii mohou přetrvávat protilátky
- **séroprevalence** antiborreliových protilátek v populaci je vyšší než počet zaznamenaných onemocnění / přetrvávající protilátky po asymptomatické infekci nebo infekci latentní / – **důležitá klinika**



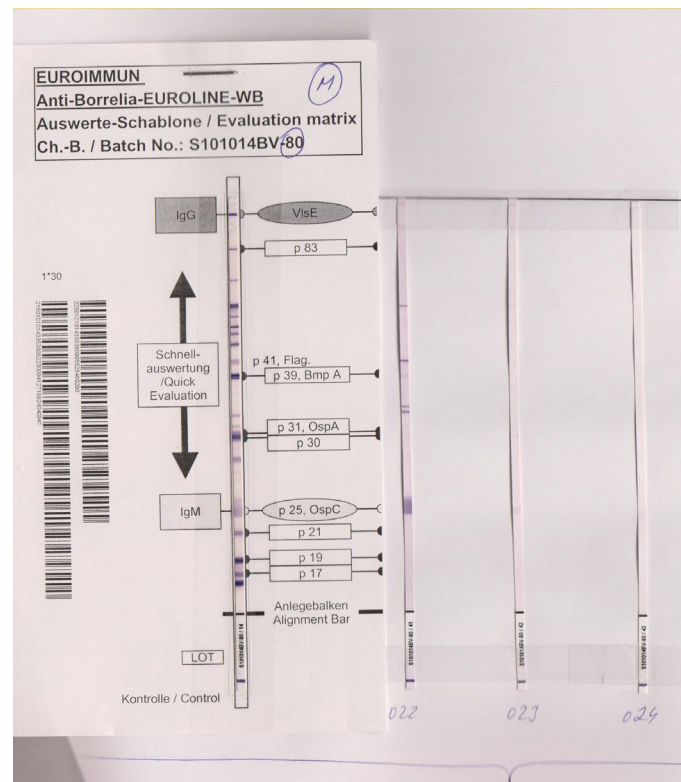
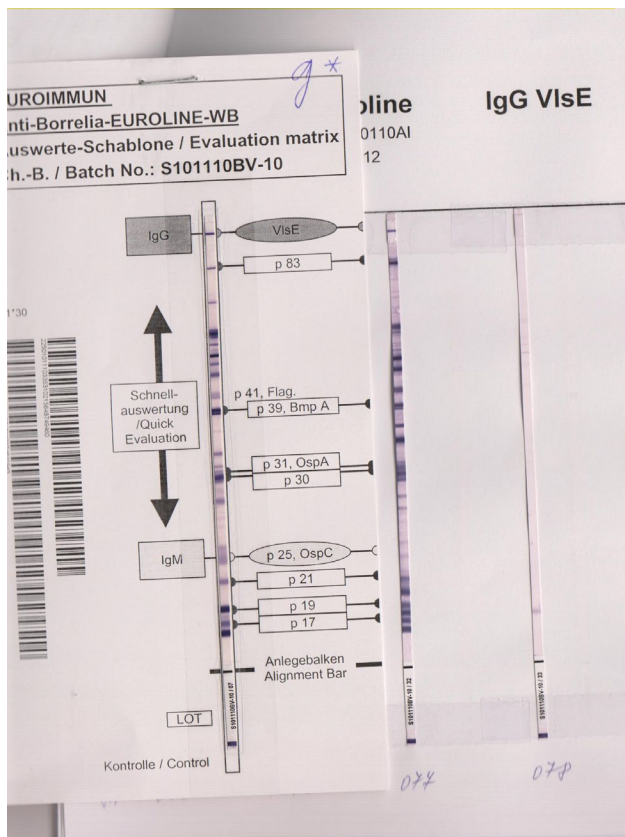
Metody průkazu onemocnění - WesternBlot

- druhou- **konfirmační metodou** pro vyšetření hraničních a pozitivních vzorků v ELISA
- jde o průkaz protilátek proti **jednotlivých vysoce specifických antigenům** Borelia b.sensu lato ve třídě IgG i IgM

Princip testu : jednotlivé proteinové antigeny Borelia b.sensu lato jsou elektroforeticky rozděleny a nanесeny na nitrocelulóзовou membránu, v případě přítomnosti specifických protilátek dochází k jejich vazbě na separované antigeny a následnému označení

- ve třídě IgG doplněn celkový antigen o rekombinantní antigen **VlsE**
/variable major protein-like sequence, expressed/ - zvyšuje citlivost testu
- ve třídě IgM hlavní markerem **akutní**, časně **infekce** antigen **OspC**

Metody průkazu onemocnění – WesternBlot – ukázka testů



Metody průkazu onemocnění – AI – Antibody index

- průkaz **intratekální syntézy** specifických protilátek proti *Borelia sp.*
- AI - vyjadřuje poměr koncentrací specifických protilátek v likvoru a séru ve vztahu ke **stavu hematolikvorové bariéry** a koncentraci celkových imunoglobulinů v likvoru a séru
- podmínky stanovení – **párový odběr likvoru a séra**
- **interpretace :**
 - syntéza může perzistovat i roky po infekci, může ale i předcházet serologický záchyt
 - dílčí vyšetření pro **diagnostiku neuroboreliózy**
/dle EUCALB,EFNS doporučení pro diagnostiku LNB :
 1. AI
 - 2.průkaz zánětlivých změn v likvoru / pleocytóza /
 - 3.průkaz oligoklonálních pásů IgG
 - 4.klinický nález
 - 5.kultivace, PCR ?? /

Metody průkazu onemocnění – AI – Antibody index

Intratekální syntéza - Borrelia IgG a IgM (Antibody index)

Vyšetření

Pacient	Odstrčilová Ludmila	Sérum č.	51728
Rodné č.	465815/452	Likvor č.	51729
Oddělení	neuroI.FN-OVA	Odběr vzorku	15.4.2011

Laboratorní výsledky

	Albumin	IgG	IgM	Jednotka
Sérum	43,10	10,80	-	g/l
Likvor	180,00	18,70	-	mg/l

Hematolikorová bariéra	
QAlb	4,18

Hodnota QAlb	Stav hematolikorové bariéry
< 5	normální
5 - 10	lehká porucha
10 - 15	střední porucha
> 15	těžká porucha

Specifické protilátky

	Absorbance		Arbitrární jednotky	
	IgG	IgM	IgG	IgM
Sérum	0,312	-	5,40	-
Likvor	0,200	-	1,90	-

Výsledky

Antibody index	Intratekální syntéza		
	AI (IgG)	AI (IgM)	
	4,03	-	POZITIVNÍ výsledek
			nelze určit (netestováno)

Poznámky



Metody průkazu onemocnění - PCR , KULTIVACE

Metoda PCR

- vyšetření nádstavbové, vhodné pro dořešení komplikovaných stavů
- **důležité načasování odběru !**
- krev k vyšetření nevhodná- bakteriémie velmi krátká !
- využití : kloubní postižení – **punktát**
: neuroborelióza - **likvor**
- nepřeceňovat – jsou zde možné falešné negativy
/ není záchyt pokud malá koncentrace bakterií v klinickém materiálu/
- většinou **záchyt v časných stádiích** / často serologický doprovod ve třídě IgM/
- k vyšetření potřeba cca 0,5ml klinického materiálu

Metoda kultivace

- náročná, neefektivní



Diagnostika onemocnění LB

Diagnostika LB založena na :

- laboratorních testech
- anamnéze
- **klinickém obrazu**

Pro stanovení specifických protilátek je dle EUCALB doporučeno dvoukrokové schéma :

1. Screeningové vyšetření vzorků pomocí **ELISA** testů
2. Konfirmační vyšetření hraničních a pozitivních vzorků pomocí **westernblot** testů

Metody průkazu onemocnění LB

Děkuji za pozornost

