

Borelioza z Lyme – diagnostyka molekularna (odcinek 41/2011)

Zastosowanie testów molekularnych w diagnostyce boreliozy

Metody z zakresu biologii molekularnej umożliwiają bezpośrednie wykrycie obecności krętków *Borrelia spp.* w badanym materiale. Znajdują one szczególne zastosowanie w diagnozowaniu przypadków boreliozy niemożliwych do identyfikacji przy użyciu powszechnie stosowanych technik serologicznych (ELISA, Western-blot). Dotyczy to głównie diagnostyki wczesnej fazy zakażenia, w której nie dochodzi jeszcze do rozwinięcia odpowiedzi immunologicznej oraz serologicznie ujemnych przypadków choroby.

Testy molekularne przydatne są również w celu weryfikacji nietypowych objawów boreliozy oraz wykluczenia fałszywie pozytywnych wyników diagnostyki serologicznej, wynikających z nieswoistości testów serologicznych, na skutek wystąpienia reakcji krzyżowych powodowanych przez zakażenia, np. krętkami kiły czy gorączki pierwotnej.

Identyfikacja boreliozy w oparciu o Real Time PCR

Obecnie jedną z najbardziej czułych, wysoce specyficznych a zarazem najszybszych metod oznaczania boreliozy jest detekcja DNA *Borrelia spp.* z zastosowaniem techniki PCR w czasie rzeczywistym (ang. Real Time PCR). Przy użyciu tej techniki wykrywane są sekwencje DNA specyficzne dla *Borrelia spp.* - najczęściej w obrębie genu flagelliny, genów kodujących białka błony zewnętrznej OspA i OspB lub genu 16S rRNA. Test stosowany w Laboratorium Medycznym INVICTA wykrywa i rozróżnia patogenne gatunki *Borrelia* bytujące na terenie Europy: *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii* i *Borrelia garinii* a także *B. valaisiana*, *B. lusitanae*, *B. andersonii*, *B. bissettii*, *B. japonica*, *B. tanukii*, *B. turdi*, *B. sinica* nazywane łącznie *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Test ten odznacza się wysoką czułością, pozwalając na wykrycie pojedynczej kopii DNA *Borrelia spp.* na reakcję.



Ryc.1 Krętki *Borrelia burgdorferi*. Obraz uzyskany przy pomocy skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM), sztucznie kolorowany.

Odpowiedni dobór materiału do diagnostyki molekularnej

Przy doborze materiału, na którym zostanie wykonane badanie należy uwzględnić fazę zakażenia oraz symptomy choroby. Biorąc pod uwagę ilość występujących bakterii, najbardziej wskazane jest oznaczenie z wykorzystaniem jako materiału badanego biopsji ze zmian skórnych. Możliwe jest także wykonanie badania z płynów ustrojowych takich jak: krew, płyn mózgowo-rdzeniowy, płyn stawowy, mocz. W osoczu zainfekowanych osób średnio występuje ok. 50 kopii bakterii na ml, rzadko osiąga wartość 5000 kopii/ml. Z uwagi na dostępność materiału badanie najczęściej wykonuje się we krwi pacjenta. W takim przypadku najbardziej wskazane jest wykonanie badania do trzech tygodni od momentu ukąszenia przez kleszcza, zanim bakterie z krwiobiegu przedostaną się do tkanek.

Interpretacja wyniku

Ze względu na wysoką czułość i specyficzność metody Real Time PCR uzyskany wynik dodatni zawsze wskazuje na zakażenie. W przypadku pozytywnego wyniku badania niezbędne jest podjęcie antybiotykoterapii w celu uniknięcia niebezpiecznych powikłań i niedopuszczenia do rozwinięcia się przewlekłej boreliozy. Jednakże często zdarzają się wyniki fałszywie ujemne. Dzieje się tak szczególnie często u chorych z przewlekłym, długotrwałym zakażeniem, kiedy bakterie przeniknęły do tkanek, skąd rzadko przedostają się do krwi. Ujemny wynik badania PCR oznacza, że w badanej próbce krwi nie stwierdzono obecności DNA krętków. Nie świadczy natomiast o ich braku w organizmie chorego!

ZAPAMIĘTAJ !

Ujemny wynik testu molekularnego w kierunku boreliozy nie jest jednoznaczny z brakiem choroby!!!

Przy interpretacji wyniku należy zawsze uwzględnić stan kliniczny pacjenta!!

PYTANIE KONKURSOWE (do artykułu 40/2011)

Czy wykrycie u pacjenta w surowicy krwi przeciwciał IgM przeciwko *B. burgdorferi* wskazuje na aktywne zakażenie tą bakterią?

Odpowiedzi należy udzielić za pośrednictwem formularza dostępnego na stronie: www.invicta.pl/konkurs

Zwycięzcą konkursu z odcinka 39/2011 została
Pani Małgorzata Miryn

Materiał przygotowany przez:

Eksperckie Laboratoria Medyczne INVICTA

Odcinek dostępny na www.pzpoz.pl oraz www.invicta.pl