

# Diagnostyka laboratoryjna boreliozy z Lyme



Fot. Jarosław Dzierżek

Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki  
w Lublinie

Zakład Biologicznych Szkodliwości  
Zdrowotnych i Parazytologii

## Choroby przenoszone przez kleszcze:

- Borelioza z Lyme
- Kleszczowe zapalenie mózgu (KZM)
- Ludzka anaplazmoza granulocytarna (HGA)
- Babeszjoza
- Tularemia
- Gorączka Q

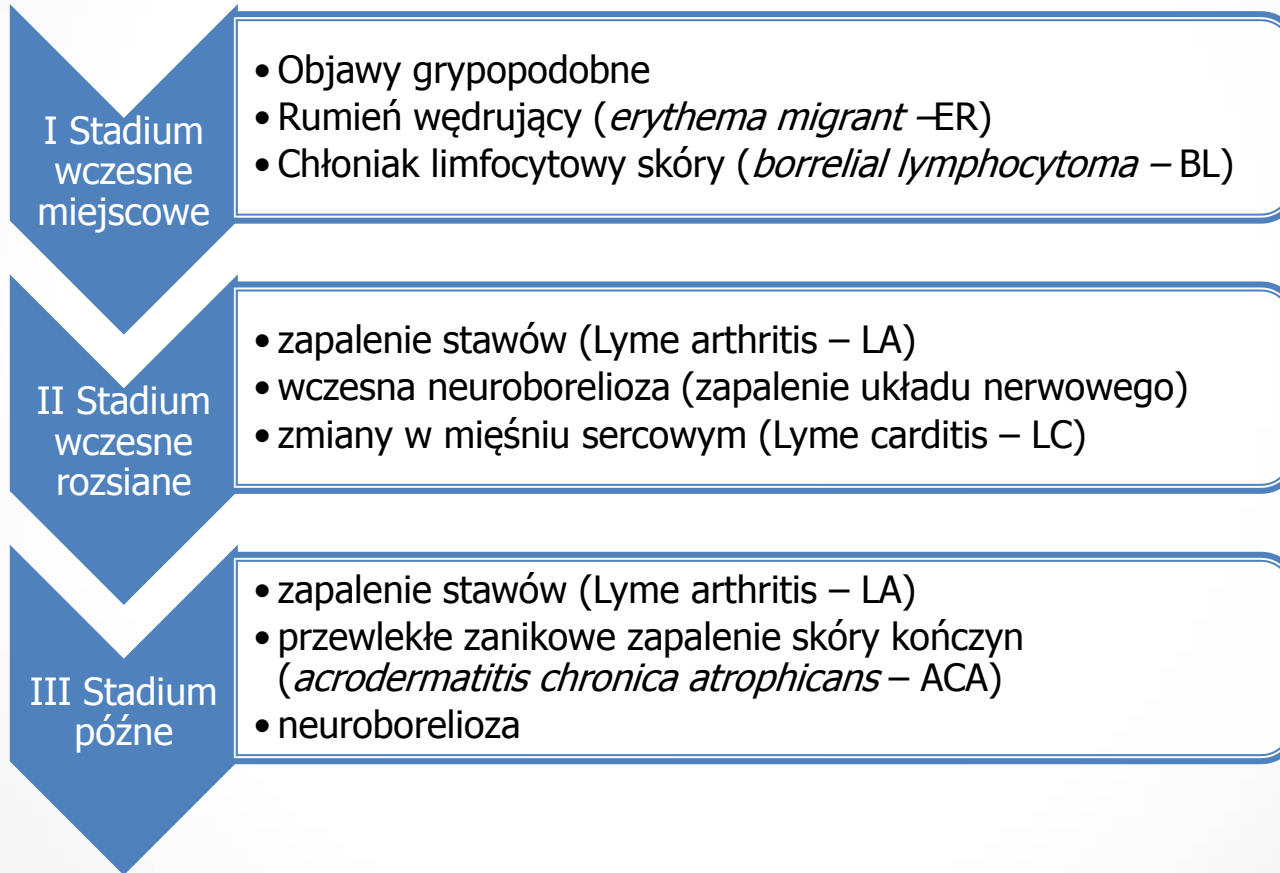
# Borelioza z Lyme

Borelioza (borelioza z Lyme) jest wielonarządową i przewlekłą chorobą odzwierzęcą wywołaną przez krętki *Borrelia burgdorferi* sensu lato, przenoszone przez kleszcze, której objawy dotyczą najczęściej skóry, stawów, układu nerwowego oraz serca.

Stadia choroby:

- I stadium wczesne ograniczone (miejscowe)
- II stadium wczesne rozsiane
- III stadium późne

# Borelioza – stadia choroby



## Rumień wędrujący

- Pojawia się w miejscu ukłucia przez kleszcza po ok. 3-30 dniach, występuje u około 60-80% zakażonych.
- Początkowo rumień ma postać plamy, której obwód szybko się powiększa osiągając średnicę  $\geq 5$  cm i wykazuje centralne przejaśnienie.
- Mogą pojawić się nietypowe postacie rumienia o nieregularnym kształcie, bez centralnego przejaśnienia, jednak jeżeli zmiany te wykazują tendencje do powiększania średnicy (ponad 5 cm), należy je traktować jak rumień wędrujący.
- Dodatkowe objawy (ból głowy, gorączka, dreszcze, zmęczenie, powiększenie węzłów chłonnych, ból mięśniowo-stawowe) występują rzadziej.





Rozpoznanie rumienia nie wymaga potwierdzenia badaniami laboratoryjnymi. Diagnostyki laboratoryjnej wymagają zmiany nietypowe, ale po upływie co najmniej 2 tygodni od wystąpienia zmiany. Po zastosowaniu odpowiedniej antybiotykoterapii rumień wędrujący zanika po kilku dniach, nie oznacza to jednak eliminacji zakażenia.

Często w miejscu po usunięciu kleszcza pojawia się niewielkie zaczerwienienie o charakterze plamisto-grudkowym stopniowo zanikające. Stanowi ono miejscowy odczyn zapalny w wyniku reakcji na kontakt z wydzielanymi przez kleszcze substancjami, który bardzo często mylony jest z rumieniem wędrującym.



# Chłoniak limfocytowy skóry

- Pojawia się kilka tygodni po pokłuciu w postaci pojedynczego, niebolesnego zgrubienia (guzka), zwykle na małżowinie usznej, mosznie, brodawce sutkowej.
- Występuje u mniej niż 1% chorych, najczęściej u dzieci.
- BL może utrzymywać się nawet kilka lat, po czym samoistnie ustąpić.
- Rozpoznanie wymaga potwierdzenia badaniami serologicznymi oraz potwierdzenia histopatologicznego.



# Zmiany w mięśniu sercowym

- Zmiany czynności serca widoczne w EKG występują we wczesnej fazie choroby po ok. 21 dniach.
- Częściej chorują mężczyźni niż kobiety.
- Zmiany ustępują nawet bez leczenia w ciągu kilku tygodni.
- Rozpoznanie wymaga potwierdzenia badaniami serologicznymi (najczęściej stwierdza się przeciwciała IgM).



# Zapalenie stawów

- Jest częstym objawem zarówno w boreliozie wczesnej jak i późnej.
- Może objawiać się poprzez:
  - wędrujące bóle kości, mięśni, stawów i ścięgien
  - nawracające bóle kostne, stawowe lub tkanek okołostawowych
  - nawracające zapalenie stawów
  - przewlekłe zapalenie stawów.
- Dolegliwości zwykle występują asymetrycznie i dotyczą pojedynczych, dużych stawów (kolanowych, ramienno-barkowych, łokciowych, nadgarstkowych, biodrowych), którym towarzyszy obrzęk i ograniczenie ruchomości, czasem zaczerwienienie
- Zmiany rzadko dotyczą drobnych stawów rąk i nóg oraz stawu skroniowo-żuchwowego.
- Rzadko pojawiają się symetryczne zapalenia wielostawowe.
- Rozpoznanie wymaga potwierdzenia badaniami serologicznymi.



# Neuroborelioza

- We wczesnym rozsiałym stadium może przebiegać jako:
  - porażenie nerwów czaszkowych (najczęściej nerwu twarzowego),
  - zapalenie opon-mózgowo rdzeniowych,
  - zapalenie mózgu,
  - zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego.
- W stadium późnym neuroborelioza może przebiegać jako:
  - zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego,
  - obwodowa neuropatia (m.in. zaburzenia czucia, niedowład, drętwienie),
  - przewlekła encefalopatia (upośledzenie pamięci, koncentracji, senność oraz zmiany osobowości).
- Konieczne są badania serologiczne na obecności przeciwciał anty-*Borrelia burgdorferi* w surowicy krwi i płynie mózgowo-rdzeniowych.



# Przewlekłe zanikowe zapalenie skóry kończyn

- Są to czerwone lub sinoczerwone zmiany, początkowo z cechami obrzęku zapalnego, później zaniku skóry, które pojawiają się kilka/kilkanaście lat po zakażeniu.
- Zmiany zwykle pojawiają się na skórze dystalnych części kończyn (rzadziej na tułowie).
- ACA najczęściej stwierdza się u osób w podeszłym wieku, przeważnie u kobiet.
- W badaniach laboratoryjnych należy potwierdzić obecność przeciwciał anti-*Borrelia burgdorferi* w klasie IgM lub IgG w surowicy oraz potwierdzenia histopatologicznego.



# Diagnostyka laboratoryjna boreliozy z Lyme

Do właściwego rozpoznania boreliozy niezbędna jest znajomość obrazu klinicznego choroby oraz zastosowanie odpowiednich testów laboratoryjnych. Standardem jest dwustopniowa diagnostyka serologiczna: w pierwszej kolejności wykonuje się test o mniejszej swoistości i dużej czułości, a następnie w celu weryfikacji wykonuje się test potwierdzający (immunoblot).

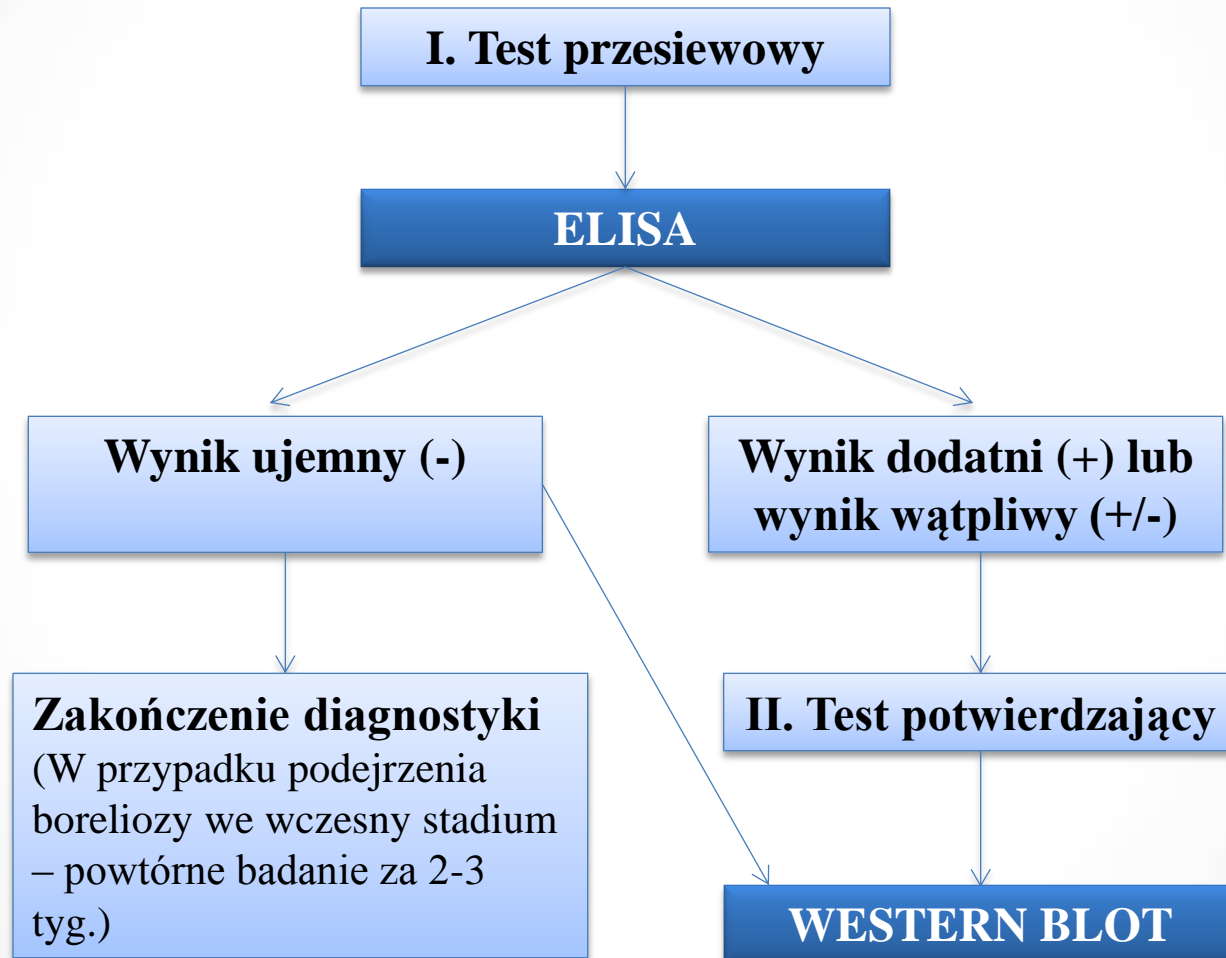
Wyniki badań serologicznych powinny być interpretowane z ostrożnością. Powinny jedynie wspomagać postawienie diagnozy w połączeniu z obrazem klinicznym pacjenta.

# Badania serologiczne

- Testy serologiczne stosowane w diagnostyce boreliozy wykrywają specyficzne przeciwciała, które są produkowane przez układ immunologiczny w odpowiedzi na zakażenie. Testy te nie wykrywają bezpośrednio bakterii *B. burgdorferi*.
- Wytwarzanie przeciwciał w organizmie w odpowiedzi na infekcję może trwać kilka tygodni, stąd zaleca się wykonywanie badań po upływie 3-4 tygodni od momentu pokłucia przez kleszcza.
- Przeciwciała mogą być obecne u pacjenta nawet po zakończeniu infekcji, z tego powodu nie zaleca się stosowania badań serologicznych dla oceny skuteczności leczenia boreliozy.

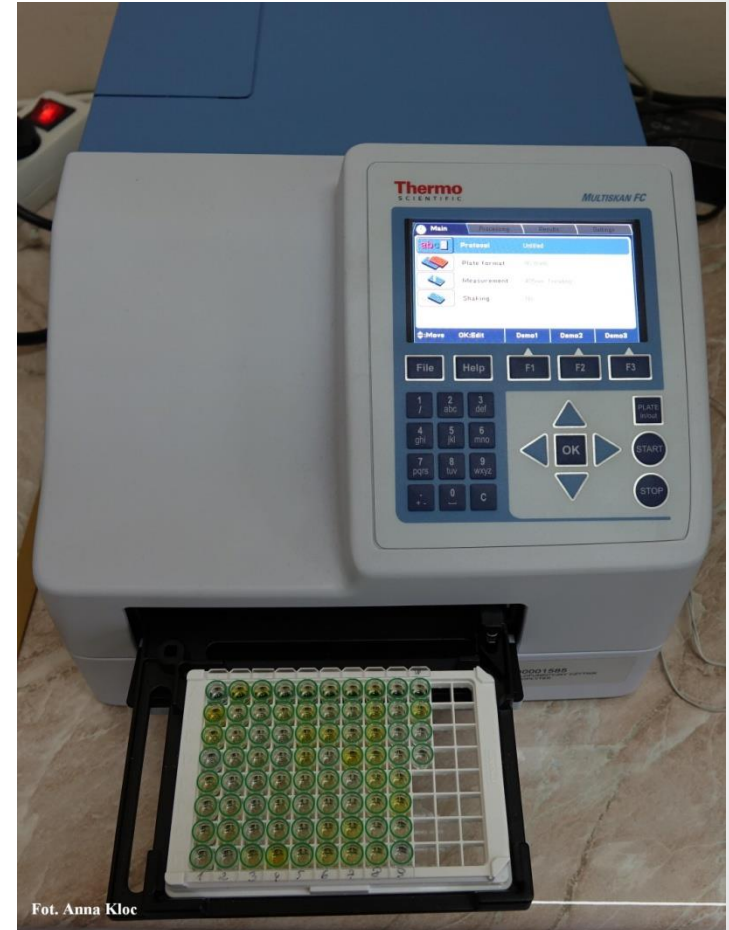


# Dwuetapowy protokół diagnostyczny



# Test ELISA

- Jest metodą immunoenzymatyczną do ilościowego lub półilościowego oznaczania przeciwciał IgM oraz IgG anty-*Borrelia* w surowicy krwi lub płynie mózgowo rdzeniowym.
- Metoda ELISA jest badaniem przesiewowym charakteryzującym się bardzo wysoką czułością (nawet do 100%), stąd wszystkie wyniki dodatnie oraz wątpliwe należy weryfikować w drugim etapie za pomocą testu Western blot.
- Zaleca się, aby zestawy stosowane do rutynowej diagnostyki zawierały antygeny rekombinowane, które wpływają na zwiększenie czułości oraz specyficzności testów, co redukuje wyniki fałszywie dodatnie/ujemne.
- Zestawy diagnostyczne do oznaczeń metodą ELISA dzielą się na testy I, II i III generacji. Zestawy III generacji są wzbogacane o rekombinowane lub syntetyczne antygeny, najczęściej C6, OspC, p100, p18, p41 i VlsE.

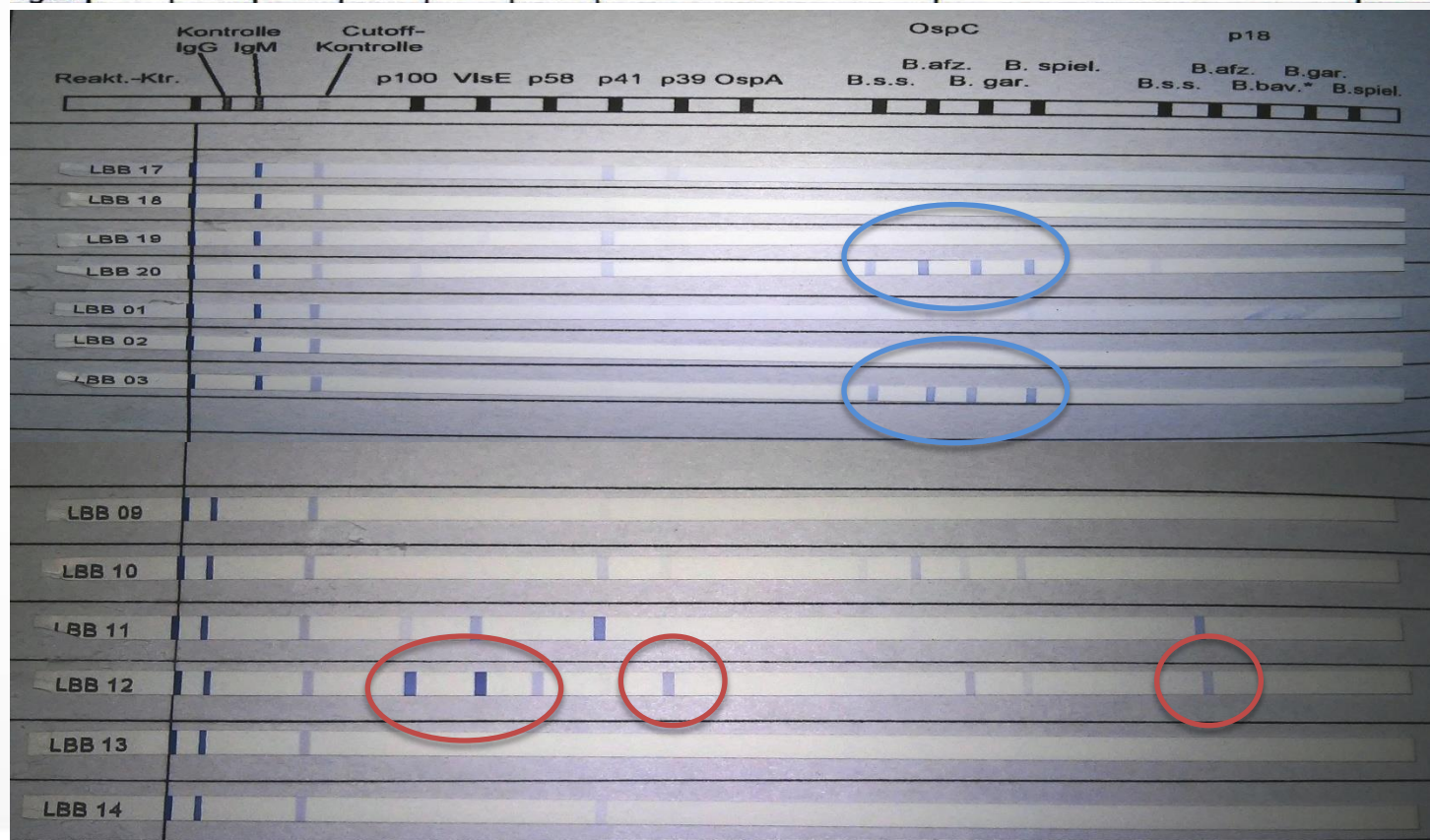


- Western blot jest testem pozwalającym na jakościowe oznaczenie przeciwciał klasy IgM i IgG przeciw antygenom *B. burgdorferi*.
- W celu odpowiedniej interpretacji wyników badań diagnostycznych, badanie metodą immunoblot w kierunku przeciwciał przeciw *B. burgdorferi* nie powinno być wykonywane bez równoczesnego ilościowego testu, takiego jak test ELISA.
- Western blot jest najczęściej używany jako test potwierdzający w przypadku uzyskaniu wyniku pozytywnego metodą ELISA.





|     | Antigenbanden<br>Antigen bands |      |     |     |     |      | negativ<br>negative<br>≤ 5 |            |            |               | fraglich<br>borderline<br>6 |            | positiv<br>positive<br>≥ 7 |            |               |   |
|-----|--------------------------------|------|-----|-----|-----|------|----------------------------|------------|------------|---------------|-----------------------------|------------|----------------------------|------------|---------------|---|
|     | P100                           | VIeE | P58 | P41 | P39 | OspA | OspC                       |            |            |               | p18                         |            |                            |            |               |   |
|     |                                |      |     |     |     |      | B. sensu stricto           | B. afzelli | B. garinii | B. spielmanni | B. sensu stricto            | B. afzelli | B. bavaricus*              | B. garinii | B. spielmanni | M |
| IgG | 5                              | 5    | 4   | 1   | 5   | 5    | 5                          |            |            |               | 5                           |            |                            |            |               |   |
| IgM | 5                              | 5    | 4   | 1   | 4   | 5    | 8                          |            |            |               | 5                           |            |                            |            |               |   |



IgM:

•OspC

IgG:

•P100

•VIeE

•p58

•P39

•p18

| Wynik testu serologicznego   | Ocena  |
|--|--|
| Negatywny  | Zakażenie jest mało prawdopodobne. W przypadku świeżego zakażenia wyniki mogą być jeszcze ujemne. Jeżeli podejrzewa się boreliozę należy wykonać ponowne badanie z nowej próbki surowicy po ok. 3 tyg. od pobrania pierwszej próbki. |
| Wątpliwy   | Zakażenie jest wątpliwe. W przypadku świeżego zakażenia wyniki mogą być wątpliwe. Jeżeli podejrzewa się boreliozę należy wykonać ponowne badanie z nowej próbki surowicy.  |
| Pozytywny wynik. W western blot tylko kilka prążków pozytywnych (IgM i/lub IgG)  | Kontakt z <i>B. burgdorferi</i> potwierdzony – prawdopodobnie wczesna faza zakażenia, do 6 miesięcy.   |
| Pozytywny wynik. W western blot wiele prążków pozytywnych w klasie IgG. IgM zwykle negatywne ale mogą być obecne.  | Kontakt z <i>B. burgdorferi</i> potwierdzony – prawdopodobnie późna faza zakażenia, powyżej 6 miesięcy.  |
| Pozytywne wyniki w klasie IgM mają największe znaczenie w pierwszych 4 tygodniach od zakażenia.  |  |
| Jeżeli podejrzewa się, że od zakażenia upłynęło więcej niż 4-6 tygodni a wyniki w Western blot w klasie IgG są nadal negatywne to prawdopodobnie można wykluczyć boreliozę, nawet jeżeli IgM są pozytywne. |  |



# Materiał do badań:

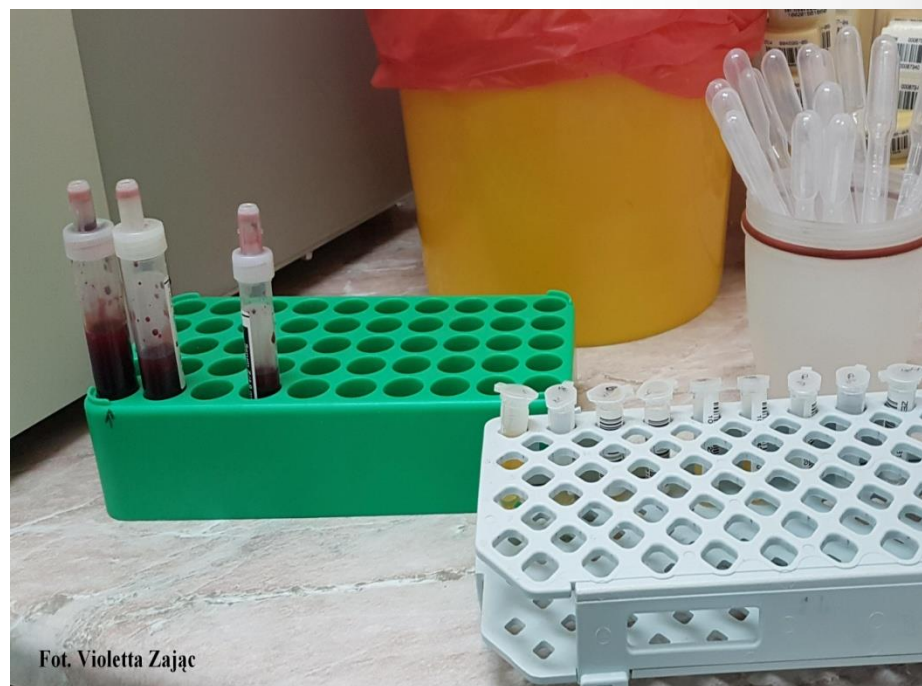
- surowica krwi
- płyn mózgowo rdzeniowy (PMR) – w przypadku objawów neurologicznych
  - Oznaczenie swoistych przeciwciał w PMR należy równocześnie prowadzić z oznaczeniem w surowicy krwi pobranej w tym samym czasie.

W przypadku objawów neuroboreliozy należy określać indeks PMR/surowica, pozwalający wykryć śródoponową produkcję przeciwciał.



## Zalecenia dla pacjenta przed pobraniem materiału:

- Pacjent nie powinien spożywać posiłku bezpośrednio przed pobraniem krwi
- Przed zgłoszeniem się na pobranie należy unikać intensywnego wysiłku fizycznego
- Od pacjenta pobierana jest próbka krwi żyłnej na skrzep (najczęściej w zgięciu łokciowym, rzadziej z grzbietu dłoni) w objętości ok. 4-5 ml.
- Za przygotowanie pacjenta do pobrania płynu mózgowo-rdzeniowego odpowiada lekarz.



Fot. Violetta Zajac

## Diagnostyka molekularna (PCR)

- Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR) jest metodą bezpośrednio wykrywającą *B. burgdorferi*. Nie jest powszechnie stosowana ponieważ wymaga specjalistycznego sprzętu oraz wykwalifikowanego personelu.
- *B. burgdorferi* może być wykrywana w tkankach pobranych ze skóry, PMR, krwi, surowicy i płynie stawowym.
- W diagnostyce najczęściej wykrywane są sekwencje genów kodujących flagelinę, białka błony zewnętrznej (Osp) i 16S RNA.



Fot. Anna Kloc

# Diagnostyka molekularna (PCR)

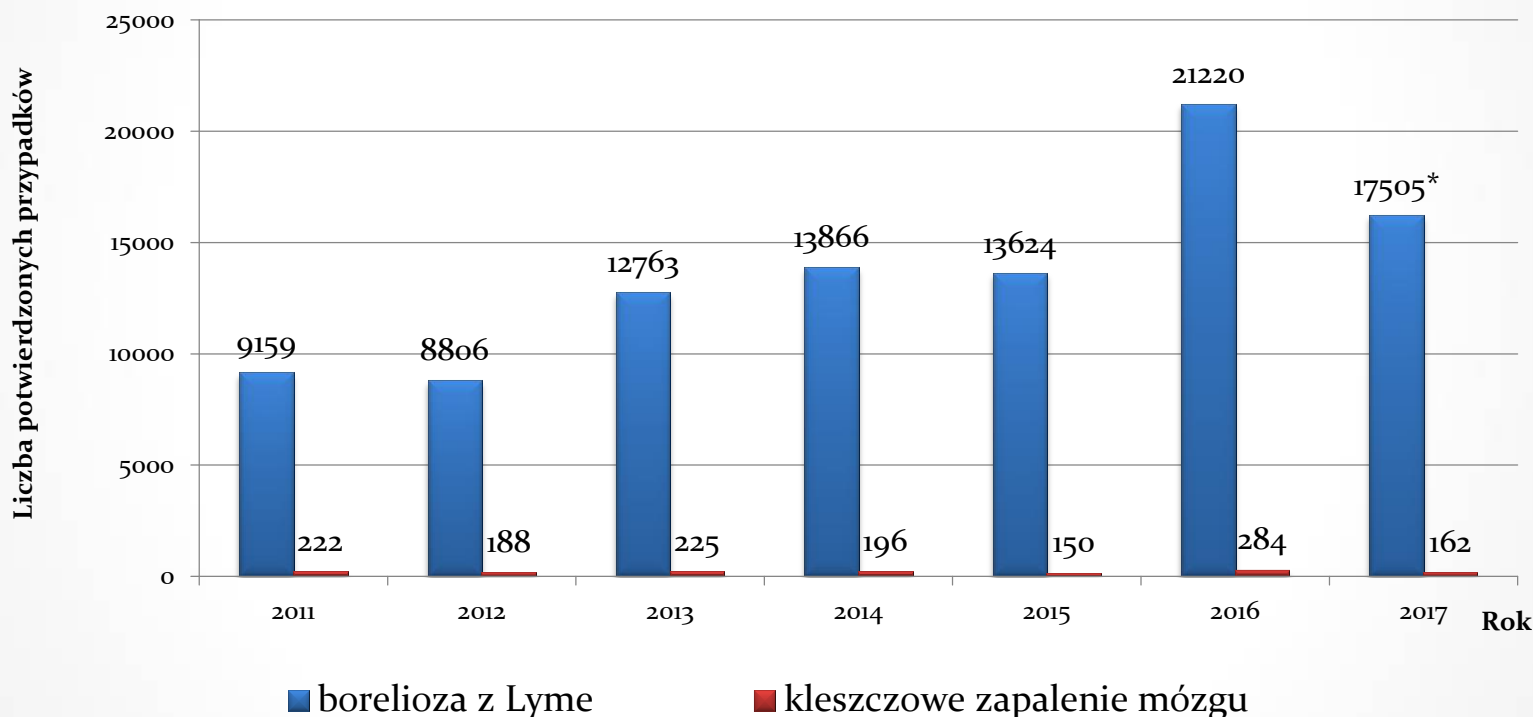
- U pacjentów z obniżoną odpornością lub w trakcie leczenia immunosupresyjnego technika PCR może być skuteczniejszą metodą diagnostyczną niż metody serologiczne. W takich przypadkach zaleca się badania wycinka skóry (rumień wędrujący, ACA); PMR lub płynu stawowego.
- Ograniczeniem tej metody jest właściwy wybór materiału biologicznego do badania.



Fot. Anna Kloc



# Liczba zachorowań na boreliozę z Lyme i KZM w Polsce w latach 2011-2017



Na podstawie danych z meldunków epidemiologicznych Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego–Państwowego Zakładu Higieny

\* Stan na 31.10.2017 r.



## Borelioza jako choroba zawodowa

- Grupą podwyższonego ryzyka są pracownicy sekcji rolnictwa, leśnictwa, łowiectwa i rybactwa.
- W 2015 roku w tej sekcji stwierdzono 568 przypadków chorób zawodowych, wśród których 506 – stanowiły choroby zakaźne lub pasożytnicze. W tej grupie chorób najczęściej rozpoznawano boreliozę – 98,2%, na drugim miejscu – kleszczowe zapalenie mózgu (1,8%).
- Zgodnie z zestawieniem KRUS, w 2016 roku liczba stwierdzonych chorób zawodowych zakończonych wypłatą jednorazowego odszkodowania wyniosła 268, z czego borelioza stanowiła 226 przypadków (84,3%).

# Postępowanie po pokłuciu przez kleszcza

- Po pokłuciu przez kleszcza należy wykonać badania serologiczne po upływie ok. 4 tyg. (wcześniejsze wykonanie badań może skutkować otrzymaniem wyników fałszywie ujemnych).
- U pacjentów, u których zostanie rozpoznany rumień wędrujący zaleca się zastosowanie terapii antybiotykowej, nie ma potrzeby wykonywania testów serologicznych (czułość testów serologicznych w takim przypadku jest niska).
- W przypadku gdy po pokłuciu przez kleszcza u pacjenta pojawi się zaczerwienienie w miejscu jego wbicia, bóle mięśni, złe samopoczucie czy stany podgorączkowe, należy niezwłocznie zgłosić się do lekarza.
- Po wyjęciu kleszcza ze skóry można go zachować do badań molekularnych na obecność DNA krętlów *B. burgdorferi*, należy jednak pamiętać, że samo ukłucie przez zakażonego kleszcza nie jest równoznaczne z zachorowaniem.
- Profilaktyczne podanie antybiotyku powinno być rozpatrywane indywidualnie przez lekarza, biorąc pod uwagę wiele czynników m.in. w przypadkach wielokrotnych pokłuć przez kleszcze oraz podczas pobytu na terenie endemicznego występowania choroby.

Dziękuję za uwagę