

Przegląd metod służących do wykrycia zakażenia *Borrelia burgdorferi*

Review: *Borrelia burgdorferi* diagnostic methods

Katedra i Zakład Ogólnej Biologii Lekarskiej, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach.

Kierownik Katedry i Zakładu Ogólnej Biologii Lekarskiej: prof. dr hab. n. med. Andrzej Wiczkowski

Adres do korespondencji: Katedra i Zakład Ogólnej Biologii Lekarskiej, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jordana 19, 41-808 Zabrze

Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Borelioza jest chorobą zakaźną wywołaną przez krętki *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Do zakażenia tą bakterią dochodzi zwykle podczas ukąszenia przez zarażonego kleszcza z rodziny *Ixodidae*, m.in. *Ixodes ricinus*, *Ixodes scapularis*, *Ixodes persulcatus*. Za czynniki etiologiczne boreliozy uznawane są następujące genogatunki: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bissettii* oraz *B. spielmanii*. Bakteria ta w organizmie człowieka może atakować różne narządy: skórę, stawy, ośrodkowy układ nerwowy, serce. Poszczególne szczepy związane są z rozwojem różnych obrazów choroby: *Borrelia afzelii* powoduje zazwyczaj rozwój przewlekłego zanikowego zapalenia skóry, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* jest najczęściej odpowiedzialna za rozwój zapalenia stawów, neuroboreliozę może powodować zarówno *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, jak i *B. garinii*. Boreliozę diagnozuje się na podstawie objawów klinicznych, wywiadu epidemiologicznego oraz testów laboratoryjnych, takich jak testy serologiczne w surowicy, a także badania metodą PCR tkanek pacjenta lub organizmu kleszcza odpowiedzialnego za ukąszenie. Najczęściej praktykowanym postępowaniem diagnostycznym jest rekomendowana przez Instytut Roberta Kocha w Berlinie tzw. diagnostyka dwuetapowa boreliozy, polegająca na wykonaniu czulego testu przesiewowego w pierwszym etapie (testy EIA, IIFA, ELISA) oraz weryfikacji dodatnich i wątpliwych wyników w drugim etapie (test Western blot). Ze względu na możliwości zmiany swojej struktury antygenowej krętka *Borrelia burgdorferi sensu lato* mają zdolność do unikania mechanizmów obronnych zainfekowanego organizmu. Jest to główna przyczyna problemów w interpretacji objawów klinicznych, wyników badań laboratoryjnych, a także leczenia zakażenia tą bakterią.

Słowa kluczowe: antygeny, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Borrelia burgdorferi*, borelioza, diagnostyka, kleszcze

Summary

Lyme borreliosis is an infectious disease caused by *Borrelia burgdorferi sensu lato* spirochetes and is transmitted to humans by the bite of an infected tick from the *Ixodidae* family, e.g. *Ixodes ricinus*, *Ixodes scapularis*, *Ixodes persulcatus*. The same species are responsible for causing Lyme borreliosis: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bissettii* and *B. spielmanii*. The infection develops in stages and has various manifestations in the human body. Lyme disease mainly affects the skin, joints, the nervous system and the heart. Different species are bound with different clinical manifestations: *Borrelia afzelii* usually cause acrodermatitis chronica atrophicans, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* is a common agent of arthritis, neuroborreliosis can be caused by *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* and *B. garinii*. Lyme disease is diagnosed based on symptoms, epidemiological history and laboratory tests, e.g. serological tests of the serum or PCR tests from patient tissues or ticks. The most common diagnostic method is the one recommended by the Robert Koch Institute in Berlin. It is a two-stage procedure based on testing by screening assay in the first stage (EIA, IIFA, ELISA tests) and verifying positive and borderline results by Western blot tests during the second stage. Due to high antigenic variability, *Borrelia burgdorferi sensu lato* spirochetes have an ability to avoid defence mechanisms of an infected organism. This is the main cause of problems with interpretation of the clinical symptoms, diagnostics results and also with treatment of this infection.

Key words: antigens, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Borrelia burgdorferi*, borreliosis, diagnostics, ticks

WSTĘP

Borelioza jest chorobą zakaźną wywołaną przez krętki *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Zostały one wyizolowane po raz pierwszy przez Willy'ego Burgdorfera i współpracowników w 1982 roku^(1,2). Są to bakterie Gram-ujemne o spiralnym kształcie, posiadające 7–11 wici na biegunach komórki. Osiągają rozmiary 10–30 μm długości i 0,2–0,5 μm szerokości⁽¹⁾. Do zakażenia tą bakterią dochodzi zwykle podczas ukąszenia przez zarażonego kleszcza z rodziny *Ixodidae*, m.in. *Ixodes ricinus*, *Ixodes scapularis*, *Ixodes persulcatus*⁽²⁻⁷⁾. Wykazano również obecność tych bakterii w organizmach komarów *Culex* i *Aedes*, pcheł *Ctenocephalides felis*, *Ctenophthalmus agyrtes*, *Ctenophthalmus baeticus*, *Megabothris turbidus* i innych owadów krwio pijnych (np. z rodzaju *Chrysops* czy *Hybomitra*), co wpływa na utrzymywanie się krętków w zoonotycznym rezerwarze zwierząt^(3-5,7,8). Do grupy krętków zwanych *Borrelia burgdorferi sensu lato* należy co najmniej 15 genogatunków. Pięć z nich uznawanych jest za czynniki etiologiczne boreliozy z Lyme. Należą do nich: *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bissettii*, *B. spielmanii*⁽⁴⁾. Istnieją również doniesienia o innych chorobotwórczych genogatunkach, tj. *B. valesiana* oraz *B. lusitaniae*^(7,9). W Europie boreliozę mogą wywoływać wszystkie wymienione, najczęściej jednak dotyczy to trzech gatunków: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* oraz *B. garinii*^(10,11). Natomiast w USA chorobę wywołuje tylko jeden gatunek – *B. burgdorferi sensu stricto*⁽⁹⁾. Poszczególne szczepy wiązane są z rozwojem różnych obrazów choroby: *Borrelia afzelii* powoduje zazwyczaj rozwój przewlekłego zanikowego zapalenia skóry, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* jest najczęściej odpowiedzialna za rozwój zapalenia stawów, neuroboreliozę może powodować zarówno *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, jak i *B. garinii*^(6,7,9). Bakteria ta w organizmie człowieka może atakować różne narządy: skórę, stawy, ośrodkowy układ nerwowy, serce. U 50–70% chorych tuż po ukąszeniu występuje charakterystyczny rumień wędrujący (*erythema migrans*)⁽¹²⁾. Pozostałe objawy są niecharakterystyczne (np. bóle głowy, objawy grypopodobne, zaburzenia czucia), co utrudnia rozpoznanie choroby⁽¹³⁾. W Polsce diagnozuje się boreliozę na podstawie objawów klinicznych, wywiadu epidemiologicznego oraz testów laboratoryjnych, takich jak testy serologiczne w surowicy pacjenta, a także badania metodą PCR tkanek pacjenta lub organizmu kleszcza odpowiedzialnego za ukąszenie⁽¹⁴⁾.

ANTYGENY BIAŁKOWE BORRELIA BURGDORFERI S.L.

Głównymi antygenami swoistymi dla *Borrelia burgdorferi s.l.* są białka powierzchniowe OspA (*outer surface protein A*) i OspC (*outer surface protein C*). OspA (p31)

jest główną lipoproteiną powierzchniową tej bakterii o masie 31–34 kDa. Istnieje podział *Borrelia burgdorferi s.l.* na genogatunki ze względu na różnice w budowie tego białka. Określono 18 różnych typów tego antygeny, z czego 10 wyizolowano w Japonii. Występujący w Europie genogatunek *Borrelia burgdorferi s.s.* posiada serotyp 1., *Borrelia afzelii* – serotyp 2., natomiast *Borrelia garinii* odpowiadają serotypy 3.–8. Serotyp 4. jest często wykrywany w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z objawami neuroboreliozy^(1,7).

Białko OspC (p22–25) jest głównym seroreaktywnym antygenem wczesnej fazy infekcji *Borrelia burgdorferi s.l.*^(1,15) Jego masa u różnych odmian gatunkowych *Borrelia burgdorferi s.l.* mieści się w zakresie 20–25 kDa. Określono 16 serotypów tego białka występujących w izolatach z Europy i USA. Białko to jest znacznie bardziej heterogenne od białka OspA. Gatunki *Borrelia burgdorferi sensu stricto* i *Borrelia afzelii* posiadające po jednym serotypie białka OspA mają więcej modyfikacji białka OspC. Gatunek *Borrelia burgdorferi sensu stricto* może posiadać jeden z 6 wariantów tego białka, natomiast *Borrelia afzelii* – jeden z 4 serotypów^(1,7). Do diagnostyki infekcji *Borrelia burgdorferi s.l.* stosowane są rekombinowane proteiny OspC, a także natywne proteiny OspC uzyskiwane w hodowli. Rekombinowane białka OspC, produkowane przez bakterie *E. coli*, mają tendencję do reakcji niespecyficznych. Natomiast ekspresja białek natywnych OspC pochodzących z hodowli zależy od warunków hodowli, takich jak temperatura, pH, stężenie tlenu czy dwutlenku węgla. W związku z tym wyizolowane białka OspC pochodzące z różnych źródeł mogą różnić się reaktywnością, co może być powiązane z doniesieniami o heterogennej ekspresji tego białka^(1,7,16). Rekombinowane białka OspC mogą również słabiej reagować z przeciwciałami IgM w surowicy pacjentów, co prowadzi do uzyskiwania fałszywych wyników⁽¹⁶⁾.

Innym antygenem, silnie immunogennym, jest flagelina (p41), będąca składnikiem wici, jej masa wynosi 41 kDa. Białko to jest mało swoiste, ponieważ występuje w komórkach wielu innych bakterii posiadających wici, np. *Helicobacter pylorii*, *Bacillus subtilis*. Wyizolowano jednak fragment charakterystyczny dla *Borrelia* o masie 14 kDa, zwany białkiem p41 int. W przeciwieństwie do antygeny p41 nie wykazuje on reakcji krzyżowych z innymi bakteriami, dlatego zaleca się jego użycie w diagnostyce boreliozy^(1,13,15,17).

Do celów diagnostycznych wykorzystywane są również takie antygeny, jak: p39, p26, p29, p83/100, p58, p60, p66, p75, p43, p30, p34 (OspB), p21, p14, p19, a także rekombinowane białka: peptyd C6 antygeny VlsE oraz antygen VlsE^(13,17-19).

REAKCJE KRZYŻOWE

Nie wszystkie antygeny rozpoznawane przez ludzki system immunologiczny są swoiste diagnostycznie.

Część z nich wykazuje wysoką swoistość gatunkową, inne wykazują reakcje krzyżowe nawet z innymi rodzajami bakterii. Poza niektórymi antygenami *B. burgdorferi*, które mogą reagować niespecyficznymi (np. antygen wspólny CA, białka szoku termicznego HSP60, HSP70), istnieją również inne czynniki, które mogą być przyczyną fałszywie dodatnich wyników testów serologicznych w kierunku *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Należą do nich: infekcje innymi krętkami tego samego rodzaju oraz z rodzajów *Treponema* i *Leptospira*, niekrętkowe bakteryjne zapalenie wśierdza, infekcja wirusem Epsteina-Barr i świnki, reumatoidalne zapalenie stawów, choroby przyzębia, choroby autoimmunologiczne^(1,7,15).

METODY WYKRYWANIA INFEKCJI *BORRELIA BURGDORFERI SENSU LATO*

Do rozpoznania zakażenia krętkami *Borrelia burgdorferi sensu lato* stosuje się rutynowo testy serologiczne polegające na wykryciu przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom *Borrelia burgdorferi s.l.* w materiale biologicznym pacjenta. Możliwe jest także wykrycie

patogenu poprzez hodowlę lub też z zastosowaniem metody PCR w celu wykrycia materiału genetycznego krętków. Metody te są jednak stosowane tylko jako badania uzupełniające lub dla celów naukowych w placówkach wyspecjalizowanych w tego rodzaju badaniach.

HODOWLA

Badanie bakteriologiczne w kierunku *Borrelia burgdorferi sensu lato* wykonuje się na zmodyfikowanym podłożu Barboura-Stoennera-Kelly'ego (BSK) lub na zmodyfikowanym podłożu Kelly'ego-Pettenkofera w warunkach mikroaerofilnych i temperaturze 30–35°C. Podłoża te różnią się zawartością glukozy, rodzajem i stężeniem albuminy z surowicy bydłowej, stężeniem i sposobem przygotowania surowicy króliczej. Dodatkowo do podłoża BSK dodaje się ekstrakt drożdżowy⁽²⁵⁾. Materiał do badania stanowią bioptaty skóry, płyn mózgowo-rdzeniowy lub płyn stawowy⁽¹⁵⁾. Czulość tej metody wynosi 50–70% dla badania skóry, 10–30% dla płynu mózgowo-rdzeniowego, natomiast w przypadku badania

Nazwa antygeny	Opis	Specyficzność	Uwagi
p14 (p41 int)	Wewnętrzny fragment flagelliny (antygeny p41)	Wysoko specyficzne	Białko pochodzące od <i>B. afzelii</i> ; opisano jako specyficznie immunogenne
p19; OspE	<i>Outer surface protein E</i> – białko zewnętrznej błony komórkowej E	Niespecyficzne	Antygen uzyskany w warunkach eksperymentalnych
Osp17/DbpA	<i>Outer surface protein 17/decorin binding protein A</i> – białko zewnętrznej błony komórkowej 17/białko powierzchniowe wiążące dekorynę	Wysoko specyficzne	Nazwa Osp17 dotyczyła białka pochodzącego od <i>B. afzelii</i> ; białko o dużej ekspresji <i>in vivo</i> , wysoce heterogenne
p21	Należy do rodziny białek Osp	Wysoko specyficzne	Wczesna odpowiedź w I fazie zakażenia; występuje <i>in vivo</i> , nieobecny w hodowlach <i>in vitro</i>
OspC (p22–25)	<i>Outer surface protein C</i> – białko zewnętrznej błony komórkowej C	Wysoko specyficzne	Marker wczesnej odpowiedzi immunologicznej
OspF	<i>Outer surface protein F</i> – białko zewnętrznej błony komórkowej F	Nieznane	Antygen uzyskany w warunkach eksperymentalnych
OspD (p28)	<i>Outer surface protein D</i> – białko zewnętrznej błony komórkowej D	Wysoko specyficzne	Kodowany plazmidowo; zwiększa patogenność bakterii
OspA (p31)	<i>Outer surface protein A</i> – białko zewnętrznej błony komórkowej A	Wysoko specyficzne	Występuje siedem modyfikacji tego białka
OspB (p34)	<i>Outer surface protein B</i> – białko zewnętrznej błony komórkowej B	Wysoko specyficzne	Przeciwciała obecne tylko w późnej fazie zakażenia
BmpA (p39)	<i>Borrelia membrane protein A</i> – białko błonowe A	Wysoko specyficzne	Przeciwciała zwykle krótko po zakażeniu
p41	Flagellina	Niespecyficzne	Daje reakcje krzyżowe z innymi krętkami oraz bakteriami posiadającymi wici
p58	Zostało odseparowane od białka Hsp60	Wysoko specyficzne	Pojawia się często w III stadium choroby
p60; Hsp60; GroEL	Białko szoku termicznego	Niespecyficzne	Przeciwciała pojawiają się często w innych zakażeniach bakteryjnych
p66	Białko związane z błoną; białko szoku termicznego	Niespecyficzne	Przeciwciała towarzyszą innym infekcjom
p75; Hsp75	Białko szoku termicznego	Niespecyficzne	Przeciwciała pojawiają się często w innych zakażeniach bakteryjnych
p83/100	Białko prawdopodobnie związane z flagelliną lub cylindrem protoplazmatycznym	Wysoko specyficzne	Przeciwciała występują zwykle w fazie późnej infekcji
VlsE	<i>Variable major protein (vmp)</i> , lipoproteina zewnętrznej błony komórkowej	Wysoko specyficzne	Duża zmienność antygenowa; silnie stymuluje do produkcji przeciwciał; przeciwciała występują głównie w fazie późnej infekcji, ale mogą występować również we wczesnej fazie infekcji

Tabela 1. Antygeny *Borrelia burgdorferi* wykorzystywane w diagnostyce laboratoryjnej^(6,13,15,17–24)

plynu stawowego bardzo rzadko uzyskuje się wyniki dodatnie. Jest to metoda bardzo czasochłonna, wykorzystywana u pacjentów z osłabioną odpowiedzią immunologiczną czy też jako badanie potwierdzające przy atypowym rumieniu wędrującym^(7,13,15).

BADANIA SEROLOGICZNE

Testy serologiczne do diagnostyki boreliozy to przede wszystkim testy ELISA i Immunoblot w licznych modyfikacjach. Testy ELISA należą do trzech generacji:

- I generacja – do badania wykorzystuje się całe spektrum antygenów *Borrelia*. Zastosowano tutaj całe komórki bakterii (IIFA) lub komórki poddane działaniu ultradźwięków (EIA). Swoistość tej grupy testów wynosi 80–90%. Przykładowym testem z tej grupy jest anti-*Borrelia* IgM i IgG – test immunofluorescencji pośredniej firmy Euroimmun (Niemcy)^(12,15).
- II generacja – do tej grupy zaliczane są testy wykorzystujące oczyszczone antygeny, np. oczyszczone flagellinę, a także testy z zastosowaniem dodatkowej absorpcji z innymi bakteriami, np. krętkami Reitera. Przykładem takiego testu jest *Borrelia* IgG + VlsE oraz *Borrelia* 14kDa + OspC IgM ELISA firmy IBL (Niemcy)⁽¹⁵⁾.
- III generacja – w tej grupie testów wykorzystywane są antygeny rekombinowane: p83/100, p41, p41 int, OspA, OspC, p39, VlsE, DbpA. Do tej grupy zalicza się na przykład *Borrelia* IgM i IgG recombinant – antygen firmy Biomedica (Austria)^(12,15).

Zgodnie z danymi z piśmiennictwa w celu ograniczenia liczby wyników fałszywie dodatnich do diagnostyki choroby powinny być stosowane testy przynajmniej II generacji.

W celu wykrycia specyficznych przeciwciał stosuje się testy Immunoblot w klasach IgM i IgG. Ich główną cechą powinna być co najmniej 95-procentowa specyficzność. Wykorzystywane są tutaj antygeny z całych komórek (w testach II generacji) lub też rekombinowane antygeny, do których należą: p83/100, p41, p41 int, OspA, OspC, p39, VlsE, DbpA (testy III generacji). Istnieją jednak znaczne różnice pomiędzy testami oferowanymi na rynku europejskim, polegające często na stosowaniu różnych zestawów antygenów^(7,15).

Jeżeli badania serologiczne dają wyniki ujemne bądź wątpliwe mimo obecnych objawów klinicznych, rozszerza się diagnostykę o hodowlę bakterii lub badanie metodą PCR^(7,15).

BADANIE METODĄ PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION – POLIMERAZOWA REAKCJA ŁAŃCUCHOWA)

Wykorzystywanie metody PCR do diagnostyki zakażenia *B. burgdorferi* jest wciąż dyskusyjne. Głównym problemem jest sposób zachowania się bakterii

w organizmie zainfekowanym. Jak wiadomo, *Borrelia* charakteryzuje się wysokim polimorfizmem antygenowym, lokalizacją tkankową oraz wewnątrzkomórkową. Takie zachowanie bakterii utrudnia jej wykrycie w płynach ustrojowych. Możliwe jest zastosowanie standardowej metody PCR, jak również metody *nested* PCR, RT-PCR czy też metody *real-time* PCR. Przy zastosowaniu metody *nested* PCR wykonuje się dwukrotnie procedurę amplifikacji próbki, dzięki czemu uzyskiwana jest znaczna poprawa czułości metody. W odmiennie RT-PCR wykorzystywany jest enzym – polimeraza DNA zależna od RNA, który może działać wyłącznie w obecności natywnego RNA (spełnia to warunek wykrycia aktywnego zakażenia krętkami). Z kolei modyfikacja *real-time* PCR pozwala na ilościową ocenę zawartości materiału genetycznego bakterii w próbce badanej. Do namnożenia materiału genetycznego *Borrelia* stosowane są różne sekwencje genów kodujących, np. geny plazmidu kodujące lipoproteiny powierzchniowe OspA lub OspB, geny kodujące białko rzęskowe – flagellinę lub białko p66. Materiałem badanym są biopaty skóry, mocz, płyn mózgowo-rdzeniowy, płyn stawowy, tkanka stawowa, krew pełna. Jednak nie określono w pełni przydatności metody PCR do badania krwi pełnej w kierunku obecności DNA *Borrelia burgdorferi*. Wskazane jest także wykorzystanie tej metody do badania kleszcza usuniętego po ugryzieniu. Przy projektowaniu starterów do reakcji PCR zaleca się wybór więcej niż jednej sekwencji kodującej. Swoistość PCR jest porównywalna do hodowli, jednak czas uzyskania wyniku jest tutaj dużo krótszy. Czułość testów PCR zależy od stężenia krętków w tkankach organizmu żywiciela, a także od stadium choroby i jej nasilenia. Z kolei na specyficzność wpływają przede wszystkim odpowiednio zaprojektowane startery, stężenie poszczególnych składników mieszaniny reakcyjnej, jak również wybór metody PCR^(7,13,15).

BADANIE PŁYNU MÓZGOWO-RDZENIOWEGO

Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego wykonuje się przy podejrzeniu neuroboreliozy, powinno się ono składać z ogólnego badania PMR (m.in. liczba komórek, stężenie białka) oraz określenia obecności swoistych przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* s.l. Wskazaniem do wykonania tego badania są:

- zapalenie opon mózgowych, zapalenie opon mózgowych i mózgu, zapalenie mózgu i rdzenia, ostre zapalenie mózgu;
- zespół Bannwartha, tj. zapalenie opon i korzeni nerwowych, zespół Guillaina-Barrégo;
- zapalenie naczyń mózgu, zapalenie rdzenia kręgowego;
- zapalenie nerwów czaszkowych (zwłaszcza porażenie nerwu twarzowego);
- ostra polineuropatia⁽¹³⁾.

TEST TRANSFORMACJI LIMFOCYTÓW (LTT)

Test transformacji limfocytów jest metodą biologii molekularnej stosowaną w celu określenia zdolności proliferacyjnej limfocytów. Polega on na wyizolowaniu z krwi pacjenta limfocytów i poddaniu ich działaniu antygeny. Wynik testu podaje się jako wskaźnik stymulacji SI (*stimulation index*), który jest stosunkiem wartości otrzymanej dla hodowli z antygenem i hodowli bez antygeny. Obecnie wykorzystywane testy LTT posiadają zwiększoną liczbę limfocytów. Poza tym używane są rekombinowane antygeny swoiste dla *Borrelia*, dzięki czemu dorównują one swoistością testom serologicznym. Pozytywny wynik tego testu sugeruje obecność aktywnej infekcji, nie daje jednak stuprocentowej pewności. Zaletą LTT jest uzyskiwanie pozytywnych wyników we wczesnej fazie zakażenia. Po skutecznej antybiotykoterapii uzyskiwane tą metodą wyniki są z reguły ujemne^(13,26,27).

POSTĘPOWANIE DIAGNOSTYCZNE

Najczęściej praktykowanym postępowaniem diagnostycznym jest rekomendowana przez Instytut Roberta Kocha w Berlinie tzw. diagnostyka dwuetapowa boreliozy, często wykorzystywana w Polsce. Pierwszym etapem tego postępowania jest wykonanie przesiewowych badań serologicznych w klasie IgG i IgM za pomocą testów ELISA. Drugim etapem jest wykonanie testów potwierdzających w obu klasach przeciwciał za pomocą testów Western blot w surowicy pacjentów o wynikach dodatnich i wątpliwych⁽⁴⁾. Jest to jednak postępowanie nie w pełni właściwe, ponieważ istnieje wysoki (około 15%) odsetek pacjentów otrzymujących wyniki fałszywie ujemne po pierwszym etapie diagnostyki⁽⁷⁾. Opisany sposób postępowania diagnostycznego został również włączony do polskich zaleceń udostępnionych na stronie internetowej Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych: www.pteilchz.org.pl/data/standardy/borelioza_z_lyme_2011.pdf w 2011 roku. Powyższe zalecenia budzą jednak wiele kontrowersji, przede wszystkim dlatego, że nie uznają innych możliwości diagnostycznych boreliozy poza opisaną diagnostyką dwuetapową.

Istnieją także Wytyczne Niemieckiego Towarzystwa Boreliozy, przetłumaczone na język polski na zlecenie fundacji BARTEK (Fundacja BARTEK na rzecz Osób z Boreliozą i Innymi Chorobami Odkleszczowymi), z 2011 roku. Zaleca się w nich wykonywanie testu przesiewowego metodą ELISA oraz testu Western blot u wszystkich badanych pacjentów niezależnie od wyniku testu przesiewowego. Testy metodą PCR są uznawane za ważne narzędzie w wykrywaniu czynnika zakaźnego. Dodatkowo sugerowane jest także wykonanie testu LTT⁽¹³⁾.

PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. Wang G., van Dam A.P., Schwartz I., Dankert J.: Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12: 633–653.
2. Burgdorfer W.: Discovery of the Lyme disease spirochete and its relation to tick vectors. *Yale J. Biol. Med.* 1984; 57: 515–520.
3. Kosik-Bogacka D.I., Kuźna-Grygiel W., Jaborowska M.: Ticks and mosquitoes as vectors of *Borrelia burgdorferi* s. l. in the forested areas of Szczecin. *Folia Biol. (Kraków)* 2007; 55: 143–146.
4. Žáková A., Janoušková E., Pejchalová K. i wsp.: Identification and characterization of 31 isolates of *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales, Spirochaetaceae) obtained from various hosts and vectors using PCR-RFLP and SDS-PAGE analysis. *Acta Parasitol.* 2008; 53: 186–192.
5. Zeman P.: Borrelia-infection rates in tick and insect vectors accompanying human risk of acquiring Lyme borreliosis in a highly endemic region in Central Europe. *Folia Parasitol. (Praha)* 1998; 45: 319–325.
6. Grzeszczuk A.: Borelioza w praktyce klinicznej. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2009.
7. Skotarczak B. (red.): Biologia molekularna patogenów przenoszonych przez kleszcze. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2006.
8. Žáková A., Jörková M., Šerý O., Dendis M.: Spirochaetes in *Culex (C.) pipiens* s.l. larvae. *Biologia (Bratisl.)* 2004; 59: 283–287.
9. Wilske B.: Diagnosis of Lyme borreliosis in Europe. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2003; 3: 215–227.
10. Chmielewski T., Tylewska-Wierzbanska S.: Borelioza z Lyme, laboratoryjne metody rozpoznania zakażenia. *Diagnosta Laboratoryjny* 2007; (2): 5–7.
11. Hubálek Z., Halouzka J.: Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genomic groups in Europe, a review. *Eur. J. Epidemiol.* 1997; 13: 951–957.
12. Wojciechowska-Koszko I., Mączyńska I., Szych Z., Giedrys-Kalemba S.: Serodiagnosis of borreliosis: indirect immunofluorescence assay, enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblotting. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* 2011; 59: 69–77.
13. von Baehr R., Becker W., Bennefeld H. i wsp.: Diagnostyka i leczenie boreliozy z Lyme (choroby z Lyme). Wytyczne Niemieckiego Towarzystwa Boreliozy. Deutsche Borreliose-Gesellschaft e.V., Jena 2011.
14. Chmielewska-Badora J., Cisak E., Wójcik-Fatla A. i wsp.: Correlation of tests for detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in patients with diagnosed borreliosis. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2006; 13: 307–311.
15. Wilske B., Zoller L., Brade V. i wsp.: MIQ 12. Lyme-Borreliose. W: Mauch H., Lütticken R. (red.): Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Urban & Fischer Verlag, Monachium 2000.
16. Probst C., Ott A., Scheper T. i wsp.: N-terminal disulfide-bridging of *Borrelia* outer surface protein C increases its diagnostic and vaccine potentials. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012; 3: 1–7.
17. Enders G. i wsp.: Die Labordiagnostik der Borreliose. Adres: www.labor-enders.de/423.html.
18. Hauser U., Lehnert G., Wilske B.: Validity of interpretation criteria for standardized Western blots (immunoblots) for serodiagnosis of Lyme borreliosis based on sera collected throughout Europe. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37: 2241–2247.
19. Hauser U., Lehnert G., Wilske B.: Diagnostic value of proteins of three *Borrelia* species (*Borrelia burgdorferi*

- sensu lato) and implications for development and use of recombinant antigens for serodiagnosis of Lyme borreliosis in Europe. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1998; 5: 456–462.
20. Kawabata H., Myouga F., Inagaki Y. i wsp.: Genetic and immunological analyses of Vls (VMP-like sequences) of *Borrelia burgdorferi*. *Microb. Pathog.* 1998; 24: 155–166.
 21. Schulte-Spechtel U., Lehnert G., Liegl G. i wsp.: Significant improvement of the recombinant *Borrelia*-specific immunoglobulin G immunoblot test by addition of VlsE and a DbpA homologue derived from *Borrelia garinii* for diagnosis of early neuroborreliosis. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41: 1299–1303.
 22. Jauris-Heipke S., Rössle B., Wanner G. i wsp.: Osp17, a novel immunodominant outer surface protein of *Borrelia afzelii*: recombinant expression in *Escherichia coli* and its use as a diagnostic antigen for serodiagnosis of Lyme borreliosis. *Med. Microbiol. Immunol.* 1999; 187: 213–219.
 23. Sanati M.H., Alasti F., Aleyasin H. i wsp.: Expression and purification of recombinant outer surface protein D of *Borrelia burgdorferi*. *Arch. Razi Inst.* 2004; 58: 19–27.
 24. Das S., Barthold S.W., Giles S.S. i wsp.: Temporal pattern of *Borrelia burgdorferi* p21 expression in ticks and the mammalian host. *J. Clin. Invest.* 1997; 99: 987–995.
 25. Ruzić-Sabljić E., Lotric-Furlan S., Maraspin V. i wsp.: Comparison of isolation rate of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in MKP and BSK-II medium. *Int. J. Med. Microbiol.* 2006; 296 suppl. 40: 267–273.
 26. Valentine-Thon E., Ilsemann K., Sandkamp M.: A novel lymphocyte transformation test (LTT-MELISA®) for Lyme borreliosis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2007; 57: 27–34.
 27. von Baehr V.: Die Labordiagnostik der Borrelieninfektion. *Umwelt Medizin Gesellschaft* 2009; 22: 119–124.

PEDIATRIA, JAKIEJ NIE ZNACIE

Serdecznie zapraszamy do udziału w IV Konferencji Naukowo-Szkoleniowej dla Studentów i Młodych Lekarzy „Pediatria, jakiej nie znacie”. Gwarantujemy ciekawe sesje naukowe i różnorodne warsztaty, atrakcyjne materiały konferencyjne, nadzór naukowy najwyższej klasy ekspertów oraz wysoki poziom merytoryczny wydarzenia. Będziemy poruszać zaskakujące tematy, wzbudzać kontrowersje i prostować obiegowe opinie.



Organizatorzy: studenckie koła naukowe Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego we współpracy z Fundacją Rozwoju Pediatrii oraz Oddziałem Warszawskim Polskiego Towarzystwa Pediatrycznego.

Tematyka: pediatria, ale również chirurgia dziecięca, intensywne terapie, psychiatria dziecięca, neonatologia, problemy żywieniowe i wiele innych.

Termin: 8–9 marca 2014 r.

Miejsce: Centrum Dydaktyczne WUM, Aula B, ul. ks. Trojdena 2 A, Warszawa.

Program, warsztaty, partnerzy: www.pjnz.pl.

Rejestracja już wkrótce!