Provádění, možnosti a interpretace mikrobiologických vyšetření

Lymeská borelióza

Zpracoval: prim. RNDr. Roman Jirsa, Oddělení klinické mikrobiologie Oblastní nemocnice Mladá Boleslav

Oponoval: prim. MUDr. Jan Galský, PhD., Nemocnice Mělník

Obsah:

1. Stručná charakteristika infekce
2. Laboratorní testy
3. Postup a pravidla laboratorní diagnostiky lymeské boreliosy
4. Indikace pro požadování vyšetření metodou Westernblot
5. Interpretace výsledků vyšetření – přehledná tabulka

1. Stručná charekteristika infekce:

Vektorem přenosu lymeské borreliosy jsou klíšťata – jiný způsob přenosu infekce na člověka nebyl spolehlivě prokázán či je málo pravděpodobný.

Promořenost klíšťat borreliemi je vyšší, než by odpovídalo počtu zaznamenaných onemocnění (na řadě míst ČR zřejmě až desítky procent). K aktivaci borrelií v klíštěti a přenosu infekce je obvykle třeba několikadenního sání a k přenosu borrelií na člověka proto často vůbec nedojde. Dojde-li k přenosu borrelií, infekce je buď zvládnuta imunitním systémem bez rozvoje klinických příznaků, nebo dojde k rozvoji některé z časných forem onemocnění bez přechodu do chronicity. U menšího procenta pacientů dochází k rozvoji chronické infekce.

Chronická infekce může navazovat na časné projevy nemoci, nebo se může rozvinou i při absenci časných stádií nemoci. Chronická infekce pak může mít latentní charekter, nebo se může klinicky manifestovat pozdní formou onemocnění.

K časným projevům nemoci (tzv. primární a sekundární stadia nemoci - rozvoj řádově několik týdnů až měsíců po přisátí klíštěte) patří erythema migrans (nejčasnější stadium nemoci - může se projevit již třetí den po přisátí klíštěte), erythema chronica migrans, časné formy neuroborreliózy (bolesti hlavy, paréza nervus facialis a parézy kraniálních nervů, polyradikulopatie, aseptická meningida, ataxie, aj), myalgie, artralgie. Vzácnějšími projevy jsou lymfadenopatie (borreliový lymfocytom), karditida (nejčastěji myokarditida s atrioventrikulárním blokem, dyspnoe, palpitace, synkopy). Jednotlivé projevy nemoci se mohou vyskytnout samostatně, nebo ve vzájemné kombinaci.

K pozdním formám nemoci patří pozdní neuroborreliosa (chronická encefalomyelitida, spastická paréza, mentální a kognitivní poruchy, demence, chronická axonální polyneuropatie, spinální radikulární bolest, parestézie, neuritida nervus vestibularis a nervus opicus, únavový syndrom), lymeská artritida (chronický zánět velkých kloubů), uveitida a acrodermatitis chronica atrophicans.

Séroprevalence antiborreliových protilátek v populaci je vyšší, než počet zaznamenaných onemocnění – částečně se jedná o přetrvávající protilátky po zvládnuté asymptomatické infekci, částečně se jedná o latentní infekce. Zdali se jedná spíše o pasivně přetrvávající protilátky či o suspektní latentní infekci lze pak při znalosti anamnézy odhadnout z intenzity a profilu protilátkové odpovědi.

2. Laboratorní testy

Základní a nejvýtěžnější metodou laboratorního průkazu lymeské borreliosy zůstává průkaz infekce pomocí protilátkové odpovědi. Další metody laboratorního průkazu (PCR, elektronová mikroskopie, kultivační vyšetření, průkaz buněčné imunitní odpovědi) mají omezenou použitelnost a jsou vhodnou metodou průkazu pouze ve specifických indikacích – pro použití případně konzultujte s námi.

Laboratorní protokol průkazu LB používaný OKM ONMB sestává:

1. Z citlivého skríningu přítomnosti IgM a IgG protilátek proti původcům lymeské borreliosy polyantigenním ELISA testem (zachytává B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto)
2. Z konfirmace pozitivních a hraničních výsledků skríningového vyšetření průkazem anti-VlsE IgG (provádíme automaticky).
3. Z odhadu možného stavu infekce a řešení sporných případů analýzou spektra protilátkové odpovědi (metoda Westernblot - provádíme na vyžádání).

3. Postup a pravidla laboratorní diagnostiky lymeské borreliosy

Při volbě vhodného postupu a interpretaci laboratorního vyšetření lymeské borreliosy je třeba mít na zřeteli mimo jiné:

1. První protilátky nelze očekávat dříve než cca za 10 dní po přisátí klíštěte, obvykle ale později. Pro průkaz probíhající infekce je zcela nepřínosný odběr krve provedený bezprostředně po přisátí klíštěte. Takovýto odběr může mít určitý význam pouze provede-li se ještě následný odběr za 2-5 týdnů - probíhající infekce se projeví sérokonverzí IgM nebo IgG protilátek.
2. Ve stadiu **erythema migrans (EM)** protilátky často ještě nebývají vyvinuty, zejména zpočátku. Proto:

   a. U pacientů s jasnou EM není laboratorní průkaz LB přínosem. Jako nejvhodnější posup se jeví přeléčit + odebrat protilátky **po skončené ATB terapii** a **pak za 3-6 měsíců**. Neúspěch terapie a pokračující infekce se projeví sérokonverzí či výrazným vzestupem hladin protilátek. Provést první odběr před skončením ATB terapie je méně vhodné, neboť v průběhu terapie může ještě dojít k dodatečnému vzestupu hladin protilátek a interpretace kontrolního vyšetření za 3-6 měsíců pak může být problematická.

   b. Odběr protilátek lze naproti tomu doporučit u pacientů s nejasnými kožními projevy. Je-li výsledek testu negativní, měl by však být odběr zopakován za 2 - 4 týdny – pro borreliovou etiologii v tomto případě svědčí sérokonverze protilátek.

3. Ve **většině časnějších stádií nemoci** s výjimkou erythema migrans bývají souběžně přítomny IgM a IgG protilátky. Přítomnost samotných IgG protilátek při absenci IgM protilátek je při podezření na tyto formy nemoci třeba hodnotit opatrně. Situace je komplikována tím, že IgM odpověď je zaměřena jen proti několika málo antigenům a v některých případech může být nevýrazná nebo zcela chybět – nejčastěji u časné neuroboreliosy. V případě diagnostických rozpaků může u IgM negativních ale IgG pozitivních pacientů s podezřením na některou z časnějších forem LB napomoci

Westernblot. Při časné infekci na něm nejčastěji bývá patrna výrazná ale málo rozvinutá protilátková odpověď proti několika málo časným antigenům. Při přetrvávající odpovědi po starším kontaktu bývá častěji přítomna slabá protilátková odpověď proti vícero antigenům, nebo bývá nalézána málo rozvinutá odpověď proti několika málo antigenům časné fáze podobně jako při časné infekci, ale slabší intenzity na úrovni jednotlivých antigenů.

4. Pro **pozdní formy nemoci** je charakteristická vysoká hladina IgG a silná pozitivita anti-VlsE IgG, jimž ve Westernblotu odpovídá široce rozvinutá protilátková odpověď na úrovni většiny boreliových antigenů včetně „pozdních" antigenů. IgM většinou nebývají přítomny - pokud jsou přítomny, jsou většinou zaměřeny proti jinému spektru antigenů než při časných formách nemoci, což je opět patrné ve Westernblotu.

Výjimkou můžou být některé případy pozdní neuroboreliosy, kdy protilátková odpověď může být málo rozvinutá. Při podezření na pozdní neuroboreliosu by měl být požadován Westerblot s výjimkou případů, kdy je již v ELISA prokázána vysoká hladina IgG a anti-VlsE IgG.

5. **Je-li pacient přeléčen ve fázi rozvinuté IgG protilátkové odpovědi** (zejména při pozdní formě onemocnění případně v pozdnějších fázích časných forem nemoci), bývá odeznívání protilátek často velmi pozvolné. Obvykle proto nemá smysl provést první kontrolní odběr za méně než 3-6 měsíců a další kontrolní odběry za méně než 6, spíše ale až za 12, měsíců.

4. Indikace pro požadování vyšetření metodou Westernblot:

Vyšetření metodou Westernblot provádíme obvykle pouze na vyžádání. Indikacemi pro Westernblot jsou zejména:

1. **Při pozitivním výsledku ELISA a pozitivním výsledku anti-VlsE IgG v těchto případech:**

   a. Pro odhad možného stadia infekce (rozlišení pravděpodobná infekce x pasivně přetrvávající protilátky) pomocí analýzy spektra protilátkové odpovědi. Má význam zejména v případě rozporu mezi klinickým obrazem a výsledkem ELISA testů (viz souhrnná tabulka níže).

   b. U přeléčených pacientů s přetrvávajícími klinickými příznaky infekce pro průkaz pokračující aktivity infekce - analýza dynamiky profilu protilátkové odpovědi - párovaná vyšetření, obvykle nemá smysl provádět s kratším časovým odstupem nežli 3 -6 měsíců.

2. **Při pozitivním výsledku ELISA a negativním výsledku anti-VlsE IgG,** přetrvává-li klinická suspekce na neuroboreliosu. Průkaz aktivní infekce při nepřítomnosti anti-vlse IgG je ale v tomto případě málo pravděpodobný.

3. **Při negativním výsledku ELISA** přetrvává-li klinické suspekce na neuroboreliosu – má ale význam provádět význam pouze při hladině protilátek v ELISA odpovídající indexu pozitivity vyššímu než 0,6 – 0,8 IP. Je-li hladina protilátek v ELISA nižší, je vhodnějším postupem než Westernblot zopakovat ELISA za 1-3 měsíce.

5. Interpretace výsledků základního vyšetření lymeské boreliosy – přehledná tabulka

IgM	IgG	Anti-VlsE IgG	Možné interpretace
negativní	negativní		Kontakt s původcem LB t.č. nepotvrzen. Protilátkovou odpověď lze očekávat nejdříve za 10 dní od přisátí klíštěte. Při erythema migrans bývá protilátková odpověď často ještě nepřítomna. Jedná-li se o klíště v recentní anamnéze (cca do 2-4 týdnů) možno zopakovat za 2-4 týdny. Při podezření na časnou formu neuroboreliosy zopakovat za 3 týdny.
pozitivní	negativní	Negativní	**1. Falešná pozitivita IgM** (příčinou např. primoinfekce EBV, CMV, toxoplasma a jiné polyklonální aktivátory, zkřížená reaktivita (autoimunní choroby, RA, aj.). **2. Rozvíjející se časná protilátková odpověd.** **J**e-li klíště v recentní anamnéze (cca 1 – 5 týdnů) a pacientů nemá jasné klinické příznaky LB zopakovat za 3-5týdnů (infekce potvrzena sérokonverzí IgG nebo anti-vlse IgG). Má-li pacient v době odběru klinické příznaky odpovídající časným stadiím LB (s výjimkou jasné erythema migrans), měl by se výsledek ověřit Westernblotem, nebo opakovaným odběrem za 3 týdny (sérokonverze IgG). Je-li provedeno přeléčení, či není-li pacient přeléčen protože není podezření na časnou LB, lze doporučit provedení kontrolního odběru za 3-6 měsíců. Interpretace výsledků kontrolního odběru za 3-6 měsíců: – při sérokonverzi IgG u nepřeléčeného pacienta zvážit ATB terapii, další kontrolní odběr za 3 – 6 měsíců. U přeléčeného pacienta může jít o rozvoj dodatečné imunitní odpovědi při léčbě, zejména jedná-li se o nízkou hladinu IgG. Sérokonverze k vysokým hladinám IgG u nepřeléčeného i přeléčeného pacienta (IP vyšší nežli cca 3,0) je vysoce suspektní z hlediska pokračování infkekce. Ve sporných případech vhodné dovyšetřit Westernblot - průkaz markerů dlouhodobé infekce. **3. Přetrvávající časná IgM odpověď** bylo-li klíště v nedávné anamnéze - cca několik měsíců. Bez známek pokračující infekce.
Pozitivní	negativní	**pozitivní**	**Kontakt s LB potvrzen, časná protilátková odpověď**: Rozvíjí se záhy po kontaktu s původcem LB a přetrvává měsíce, méně často roky. **Je-li klíště v recentní anamnéze (3 – 6 týdnů) lze doporučit přeléčení i při absenci klinických příznaků.**
Negativní	**Pozitivní - nízka hladina IgG (IP nižší nežli cca 1,5)**	negativní	1. Falešná pozitivita IgG 2. Přetrvávající protilátky po starším kontaktu 3. **Aktivní LB málo pravděpodobná**

pozitivní	**Pozitivní**	**pozitivní**	**Kontakt s LB potvrzen**, klinická interpretace závisí na hladinách protilátek, časové dynamice (je-li známa), na struktuře protilátek uvnitř jednotlivých tříd, na předpokládané formě LB apod.. Případně konzultujte s námi nebo s infekcionistou či příslušným specialistou.
negativní	**Pozitivní – nízká Hladina IgG (IP nižší nežli cca 1,5)**	**Pozitivní**	**Kontakt s LB potrvrzen** 1. **Přetrvávající protilátky po kontaktu s LB** (může přetrvávat až několik let) 2**. Netypická časná protilátková odpověď** (nejčastěji u časné neuroboreliosy , u ostatních forem nepříliš časté). **3.Pozdní forma LB méně pravděpodobná** u většiny forem LB, při suspekci na pozdní formu neuroboreliosy se ale může jednat o signifikantní nález (při neuroboreliose somatická imunitní odpověď někdy nevýrazná). Při nejasném klinickém nálezu zopakovat za 6 – 12 měsíců: Pokračující LB může prokázat vzestup hladin IgG a anti-vlse, interpretace však velmi individuální – doporučujeme konzultaci s infekcionistou, s námi nebo neurologem.
negativní	**Pozitivní – vysoká hladina IgG (IP vyšší nežli cca 3,0)**	**Pozitivní**	**1. Kontakt s LB potvrzen, typické pro pozdní formy LB.** Pokles hladiny protilátek může být přes úspěšnou léčbu jen pozvolný. Terapii doporučujeme konzultovat s infekcionistou nebo s jiným specialistou. 2. Pasivní přetrvávání protilátek po starší infekci u nepřeléčeného pacienta je méně pravděpodobné.