

***Borrelia burgdorferi* - możliwości diagnostyczne**

Badanie Real-Time PCR na obecność krętków *Borrelia burgdorferi* w organizmie kleszcza pobranego ze skóry pacjenta.

Zastosowanie testu

Badanie Real-Time PCR (metoda biologii molekularnej) na obecność krętków *Borrelia burgdorferi* w organizmie kleszcza pobranego ze skóry pacjenta jest odpowiedzią na trudności diagnostyczne związane z tą bakterią.

Badanie to pozwala na potwierdzenie obecności materiału genetycznego (DNA) krętka *Borrelia burgdorferi* – bakterii wywołującej boreliozę - w ciele kleszcza wyjętego ze skóry pacjenta. Badania naukowe wskazują, że spośród odłowionych w naturze i zbadanych kleszczy tylko średnio 11 - 17% jest nosicielami bakterii *Borrelia*, dlatego nie każde ukąszenie przez tego pajęczaka musi wiązać się z zakażeniem bakteriami *Borrelia*^(1,2). Z drugiej strony ciężkie konsekwencje przewlekłej formy choroby nie pozwalają na zlekceważenie jakiegokolwiek przypadku ukąszenia.

Nasze badanie pozwala na ocenę ryzyka zakażenia. W przypadku pozytywnego wyniku potwierdzona obecność *Borrelia* w kleszczu zaleca się szybkie podanie antybiotyku i zatrzymanie ewentualnego rozwoju choroby. Z kolei wynik ujemny (kleszcz nie był nosicielem bakterii *Borrelia*) wskazuje, że terapia antybiotykowa nie jest potrzebna, a jej zastosowanie generowałoby niepotrzebne koszty zdrowotne i finansowe.

NUMER BADANIA:
5010

METODA:
Real-Time PCR

MATERIAŁ:
kleszcz

**PRZECHOWYWANIE
I TRANSPORT:**
48 h w temp. 4°C
lub dłużej w stanie
zamrożonym - 20°C

CZAS OCZEKIWANIA:
12 dni roboczych

WYNIK:
jakościowy

Przygotowanie materiału

Materiałem wyjściowym do badań jest kleszcz, który wcześniej bytował na skórze pacjenta. Co ważne, do badania **wystarcza tylko część pajęczaka**, ponieważ często zdarza się, że podczas wyjmowania ze skóry ulega on fragmentacji.

WAŻNE! Bezpośrednio po pobraniu kleszcz powinien zostać umieszczony w czystym pojemniku (np. pojemniku na mocz) i być przechowywany w 4°C (maksymalnie do 48 godzin) lub najlepiej zamrożony w -20°C, i w tym stanie dostarczony do laboratorium. Podczas badania kleszcz jest poddany homogenizacji, a następnie ekstrahuje się jego materiał genetyczny.

UWAGA!

Czas oczekiwania na wynik oraz numer badania może różnić się w zależności od oddziału lub laboratorium DIAGNOSTYKI.

Czułość i specyficzność testu

Do detekcji *Borrelia* w organizmie kleszcza stosujemy metodę Real Time PCR. Jest to nowoczesna technika, oparta na specyficznej hybrydyzacji, a następnie powielaniu fragmentu materiału genetycznego badanego organizmu, w tym przypadku DNA bakterii *Borrelia*. Czułość metody jest bardzo wysoka - pozwala na wykrycie kilkudziesięciu (10-1000) cząsteczek DNA *Borrelia* w analizowanej próbce. Tak specyficzne i czułe wykrywanie konkretnego DNA w technice Real-Time PCR jest możliwe dzięki dodaniu do reakcji specjalnie zaprojektowanych, unikatowych fragmentów kwasów nukleinowych (tzw. primerów oraz sondy), które wybiórczo łączą się z DNA *Borrelia*, umożliwiając jego powielenie, a następnie generują sygnał fluorescencyjny.

UWAGA!

Istnieje kilka gatunków *Borrelia*, łącznie określanych jako *Borrelia burgdorferi sensu lato*, z czego w naszej szerokości geograficznej występują: *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii* oraz *Borrelia garinii*. **Wszystkie wymienione gatunki są wykrywane za pomocą techniki Real-Time PCR.**

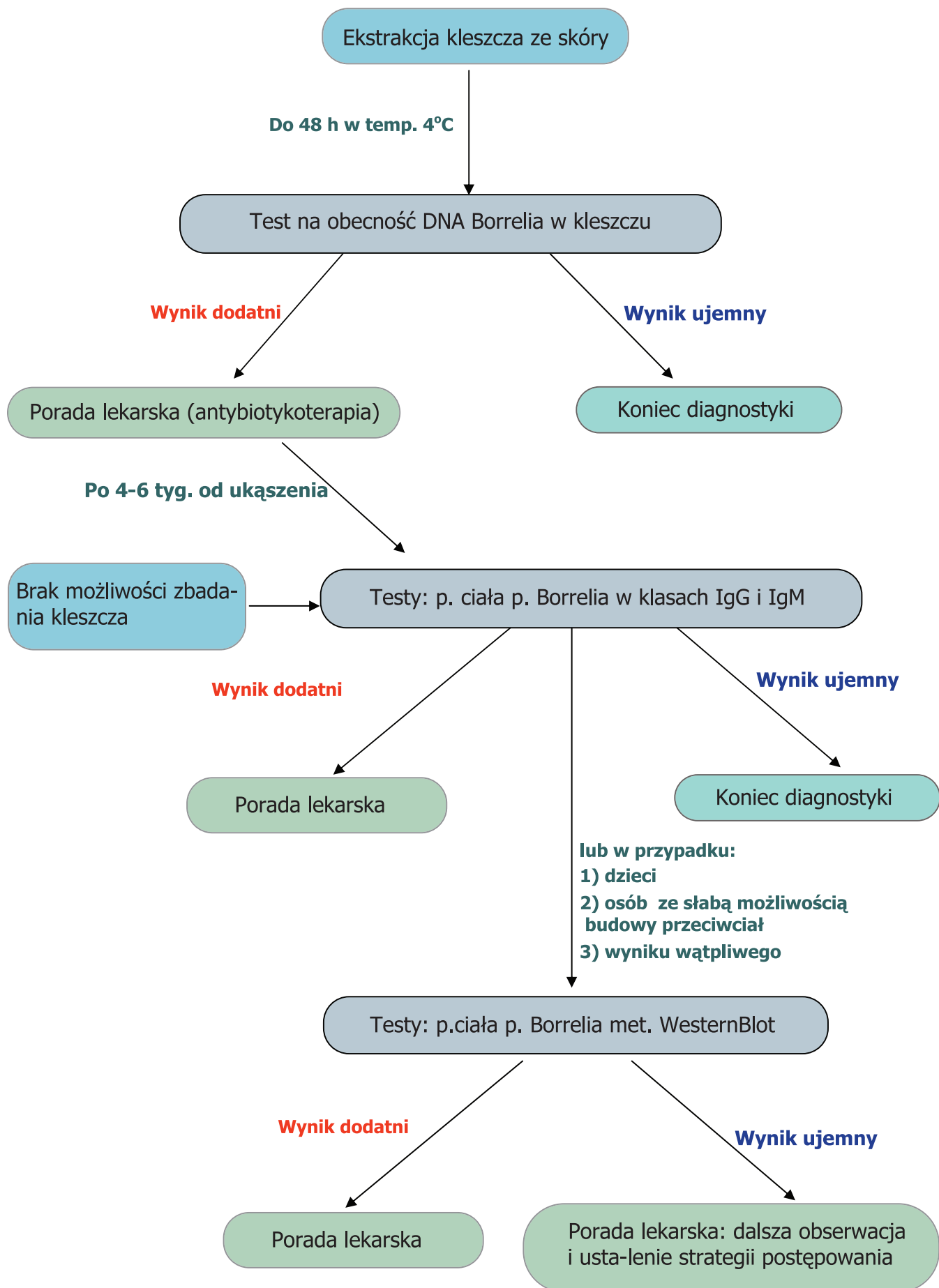
Kontrola jakości – wiarygodność wyniku

Wraz z cząsteczkami primerów i sondy wykrywającymi DNA *Borrelia*, do reakcji dodaje się primery i sondę specyficzne dla genu tubuliny- α kleszcza. Obie sondy znakowane są różnymi barwnikami fluorescencyjnymi, a ich sygnał odczytywany jest przy różnych długościach fali świetlnej. W naszej metodzie, niezależnie od wykrycia bądź niewykrycia obecności DNA *Borrelia* w badanej próbce, prawidłowy wynik Real-Time PCR musi zawierać wyraźny sygnał dla kleszczowej tubuliny- α . Jest on potwierdzeniem prawidłowego przebiegu reakcji i wyklucza możliwość uzyskania wyniku fałszywie ujemnego (np. będącego wynikiem nieprawidłowego przechowywania kleszcza przed dostarczeniem do laboratorium).

Panel badań w kierunku *Borrelia burgdorferi* oferowany w laboratoriach DIAGNOSTYKA:

Nazwa	Metoda	Numer badania	Czas oczekiwania na wynik
DNA <i>Borrelia</i> w kleszczu	PCR	5010	11 dni
DNA <i>Borrelia</i> we krwi	PCR	434	12 dni
Przeciwciała p. <i>Borrelia</i> w klasie IgG i IgM w surowicy	ELISA	430, 431	3 dni
Przeciwciała p. <i>Borrelia</i> w klasie IgG i IgM w surowicy	Western Blot	432, 433	3 dni

Sugerowany schemat postępowania diagnostycznego



Koinfekcje

W przypadku pacjenta ukąszonego przez kleszcza należy pamiętać o problemie koinfekcji. W przypadku kleszcza, istnieje istotne ryzyko zarażenia również innymi (poza bakteriami *Borrelia burgdorferi*) patogenami. Dr Garth Nicolson, w swoim opracowaniu „Organizm oraz częstość jego występowania w kleszczach” podaje następujące dane:

Babesia	8 - 20% (część lekarzy uważa, że nawet 70%)
Bartonella	40 - 70%
Ehrlichia	10 - 50%
Borrelia	18 - 40%
Mycoplasma	25 - 70%

Przechowywanie i transport:

Materiał do badań należy przesłać kurierem na adres laboratorium:
Diagnostyka Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k.
ul. Olszańska 5, 31-513 Kraków

Lub przekazać do najbliższego Oddziału DIAGNOSTYKI

Literatura

Dr Joseph J. Burrascano, Jr., M.D. - Borelioza, 2005 (tłum. dr n. med. Krzysztof Piotr Michalak)
Zbiorowe Borelioza: dlaczego diagnostyka jest tak trudna?, w: Diagnosta Laboratoryjny, IV'2007
Borelioza - Magdalena Sokalska-Jurkiewicz - Służba Zdrowia Nr80-83 (3681-3684)2007
Jenkins A. et al.: (2001); Journal of Clinical Microbiology, 31(10), 3666-3671.
Strzelczyk JK i wsp.: (2006); Przegląd Epidemiologiczny, 60, 589-595.

**Kontakt z Działem Obsługi
Klienta DIAGNOSTYKI:**