**Diagnostyka boreliozy**

**Badania serologiczne i metody PCR pozwalają zdiagnozować , zarówno w organizmie pacjenta, jak i kleszcza, obecność bakterii wywołujących boreliozę. Do zakażenia dochodzi, najczęściej latem, w następstwie ukąszenia przez kleszcza, który może bytować w lesie, na łące, a nawet w ogródku obok domu. Niezdiagnozowana choroba, która rozwinęła się, może doprowadzić do zapalenia stawów, serca, mózgu i opon mózgowo-rdzeniowych.**

**Oskarżeni: Krętek Borrelia - Kleszcz**

Borelioza jest chorobą niebezpieczną i zdradliwą. I całkiem "nową". Z historią odkrycia boreliozy wiąże się jej alternatywna nazwa - choroba z Lyme (borelioza z Lyme). W okolicach miejscowości Old Lyme, w stanie Connecticut w USA lekarze nie umieli dociec dlaczego znaczny procent mieszkańców latami cierpiał na dolegliwości stawowe, ustawiczne zmęczenie i szereg innych dolegliwości, których nie dawało się racjonalnie wytłumaczyć. Jako oddzielna jednostka chorobowa o nieznanej przyczynie została opisana dopiero w 1977 roku przez lekarza... reumatologa. Upłynęło prawie 5 lat nim w 1982 zidentyfikowano tandem odpowiedzialny za chorobę prześladującą mieszkańców Lyme: drobnoustrój - wydłużoną i skręconą bakterię zwaną krętkiem i jej środek lokomocji - tzw. wektor, drobnego pajęczaka, żyjącego na liściach i w trawie - kleszcza (głównie rodzaju Ixodes). Izolacji krętka z kleszcza dokonał naturalizowany Amerykanin Willy Burgdorfer. Świat medyczny uczcił odkrycie zagadkowej przyczyny choroby z Lyme, nadając nowo odkrytemu patogenowi nazwę Borrelia burgdorferi. Dziś znanych jest kilka innych gatunków rodzaju Borrelia odpowiedzialnych za boreliozę.

Obaj odkryci przez Burdgorfera sprawcy choroby z Lyme zasłużenie budzą fatalne skojarzenia. Na Borrelia burgdorferi, czyli spiralną bakterię gram-ujemną, spada ponure odium jej kuzyna - krętka bladego (Treponema pallidum), wywołującego kiłę, tak skutecznie komplikującego przez wieki problemy dynastyczne wielu rodów panujących w Europie. Kleszcze budziły odruchowy strach nawet wtedy, gdy nie był znany ich udział w przenoszeniu szeregu chorób, zwanych dzisiaj chorobami odkleszczowymi. Budzi obrzydzenie ich zdolność do opijania się krwią ofiary: człowieka lub zwierząt i powiększania do monstrualnych rozmiarów z postaci prawie niewidocznej gołym okiem, zdolność do wkłuwania się w skórę ofiary tak skutecznie, że ich usunięcie jest możliwe często tylko po rozerwaniu i wreszcie umiejętność ścisłego przylegania do skóry podczas wędrówek po ciele ofiary, przed podjęciem decyzji: "Jemy tutaj". Amerykańscy producenci horrorów klasy B docenili przerażającą budowę i możliwości kleszczy i pozwolili ich gigantycznym mutantom zaatakować małe amerykańskie miasteczko - pędzące po chodnikach i dachach domów z klekotem swoich ośmiu nóg, kleszcze wielkości krabów, powodowały, że widzowie na wszelki wypadek podciągali nogi...

Prawdziwe "ludzkie" kleszcze, mimo że małe, a właściwie dlatego, że małe i niezauważalne, są równie niebezpieczne. Działają jak strzykawki: ssąc i tłocząc. Ubytek krwi, którą się żywią, nie jest dla ofiary niebezpieczny. Prawdziwe zagrożenie stanowią drobnoustroje, które z wydzieliną kleszcza wędrują "odwrotną pocztą" do żywiciela, razem z substancjami hamującymi krzepnięcie krwi i znieczulającymi (!). Nim mały na początku posiłku kleszcz stanie się zauważalny, a jego obecność zamanifestuje w miejscu wkłucia jako swędzące lub piekące zaczerwienie (ok. 2 dni), ofiara może otrzymać ładunek różnorodnych drobnoustrojów wystarczający by spowodować kilka różnych chorób.

W przypadku, gdy człowiek jest zakażony przez kleszcza krętkiem i innymi drobnoustrojami, może zapaść na boreliozę i jej odkleszczową koinfekcję. Choroba z Lyme jest często rozumiana szerzej jako borelioza przebiegająca z koinfekcjami: odkleszczowymi lub przeniesionymi inną drogą. Rozpoznanie chorób współistniejących jest klinicznie bardzo trudne.

**Borelioza - przebieg**

Borelioza jest chorobą atakujące różne narządy (wielonarządową), której objawy kliniczne wiążą się możliwością zajęcia skóry, stawów, układu nerwowego i serca. Choroba przebiega w sposób fazowy i nawrotowy, nieleczona stanowi ciąg zmian i objawów następujących w pewnej kolejności i mogących się powtarzać. Wyróżniono postać boreliozy wczesną: zlokalizowaną i rozsianą oraz późną. Postać wczesna zlokalizowana daje objawy skórne. Wśród nich jest jedyny charakterystyczny wyłącznie dla boreliozy: rumień wędrujący, obserwowany niestety tylko w części przypadków. Rumień wędrujący jest rozszerzającą się plamą, typowo, z przejaśnieniem w środku, pojawiającą się w na ogół w 1-3 tyg. po ukąszeniu przez zakażonego kleszcza. Zmianom skórnym towarzyszyć mogą objawy w okolicy zmiany (świąd skóry, powiększone węzły chłonne) i niecharakterystyczne objawy ogólne (ból głowy, gorączka itd.). Postać wczesna rozsiana, obok objawów skórnych charakteryzuje się objawami neurologicznymi (np. zapalenie nerwu twarzowego, zapalenie mózgu), reumatologicznymi (zapalenie stawów), rzadziej objawami kardiologicznymi (zapalenie mięśnia sercowego lub zmiany w EKG). Postać późna rozsiana obejmuje zanikowe zmiany skóry - pojawiające się nawet do 10 lat po zakażeniu i przetrwałe lub nawracające zmiany neurologiczne i reumatologiczne.

Krętki boreliozy, tak jak ich kuzyn, krętek blady, są bakteriami neurotropowymi, co ułatwia im inwazję do układu nerwowego i prowadzić może do neuroboreliozy. Częstość objawów neurologicznych boreliozy dochodzi do 40 procent przypadków w postaci wczesnej rozsianej i późnej. Objawy neuroboreliozy są wywołane przez obecność krętków i związane z tym procesy zapalne, toksyczne działanie ich metabolitów, także wspomniane mechanizmy autoimmunologiczne i istnienie bariery krew/mózg, oddzielającej "wydarzenia" w centralnym układzie nerwowym od układu krążenia.

**Rozpoznanie i diagnostyka laboratoryjna**

**Zgodnie z obowiązującymi zaleceniami dotyczącymi rozpoznania i leczenia boreliozy, decyzjom klinicznym towarzyszyć muszą badania laboratoryjne.** Jedynym wyjątkiem rozpoznania bez badań laboratoryjnych są typowe przypadki boreliozy z wytworzeniem rumienia wędrującego. Warto wspomnieć, że pojawienie się rumienia przed upływem 2 dni od ukąszenia przez kleszcza oraz średnica rumienia mniejsza niż 5 cm, świadczą przeciw rozpoznaniu choroby z Lyme.

**Diagnostyka serologiczna boreliozy**

Badania serologiczne, które można wykonać w jednym z laboratoriów sieci Diagnostyka, polegają na identyfikacji w krwi badanego przeciwciał powstałych w wyniku swoistej dopowiedzi układu odpornościowego na antygen, przykładowo na drobnoustrój, który wtargnął do organizmu. W ustroju, przeciwciała swoiście łączą się z antygenem, który indukował ich powstanie i uczestniczą w naturalnych mechanizmach eliminacji intruza z organizmu. Przeciwciała należą do różnych klas, powstających w stałej i określonej kolejności. W przypadku infekcji, identyfikacja swoistego dla drobnoustroju przeciwciała danej klasy, informuje nie tylko o gatunku atakującego drobnoustroju, ale także o fazie procesu chorobowego.

**Oznaczanie swoistych IgM i IgG metodą immunoenzymatyczną (ELISA)**

Diagnostykę serologiczną boreliozy rozpoczyna się od poszukiwania w krwi badanego swoistych dla krętka przeciwciał **IgM** i **IgG** metodę **immunoenzymatyczną**, określaną często jako metoda **ELISA**. Obecność przeciwciał świadczy o kontakcie z antygenami krętka.

Swoiste przeciwciała IgM są na ogół wykrywane we wczesnych postaciach boreliozy i następnie znikają, choć czasami mogą przetrwać przez lata. Mogą się pojawić już w drugim tygodniu po zakażeniu, na ogół jednak wykrywane są kilka tygodni później. W przypadku, gdy istnieje silne podejrzenie, że doszło do zakażenia, przy braku objawów skórnych, a oznaczenie IgM jest ujemne, badanie należy powtórzyć po kilku tygodniach, optymalnie w 8 tygodni po dacie prawdopodobnego zakażenia. U osób podejrzewanych o zaawansowane postacie boreliozy oznacza się przeciwciała IgG, powstające w drugiej kolejności i utrzymujące się latami. Dodatni i (wątpliwy) wynik badania IgG w teście immunoenzymatycznym musi również być weryfikowany immunoblotem. W przypadku neuroboreliozy i późnych postaci boreliozy oznaczenie przeciwciał można wykonywać w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR), ale badanie takie jest inwazyjne i wymaga decyzji lekarskiej.

**Weryfikacja wyników immunoenzymatycznych oznaczeń IgM i IgG metodą immunoblotu**

Jako zasada, każdy dodatni (i wątpliwy) wynik oznaczenia IgM (i IgG) metodą ELISA musi być zweryfikowany dla wykluczenia wyników fałszywie dodatnich. Przyczyną wyników fałszywie dodatnich jest obecność w krwi badanego przeciwciał o podobnej swoistości, lecz powstałych w wyniku zakażenia niektórymi wirusami, innymi krętkami lub choroby autoimmunologicznej, czyli reakcji organizmu na własne antygeny. Weryfikacji wyniku testu ELISA dokonuje się **metodą immunoblotu**, będącego modyfikacją tzw. **Western blotu**. Obie nazwy stosowane są często wymiennie.

Immunoblot posiada wysoką swoistość, co w tym wypadku oznacza dużą pewność, że wynik dodatni jest skutkiem rzeczywistego kontaktu organizmu z antygenami krętka. W przypadku, gdy wynik IgM ELISA jest dodatni, a immunoblot ujemny, wykonanie immunoblotu można powtórzyć po dwóch tygodniach.

**Oznaczenie krążących kompleksów immunologicznych (KKI)**

Zdarzają się przypadki, że okoliczności i objawy sugerują boreliozę, a wynik oznaczeń IgM jest ujemny. Jednym z wyjaśnień tej sytuacji jest mechanizm, w którym specyficzne dla krętka przeciwciała zostają uwięzione w tzw. **krążących kompleksach immunologicznych (KKI)** i stają się "niewidzialne" dla testu ELISA. "Aresztu" przeciwciał dokonują antygeny krętka obecne w krwi chorego. Szczęśliwie istnieją sposoby by przeciwciała wyrwać z objęć antygenów i po uwolnieniu oznaczyć.

**Łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR)**

Jest molekularną metodą diagnostyczną z "wyższej półki". W przypadku diagnostyki boreliozy pozwala na wykrycie materiału genetycznego krętka (DNA) bardzo wcześnie po wniknięciu do zakażanego organizmu i obecnego w bardzo małej ilości. Jednakże nie pozwala na rozróżnienie czy zidentyfikowany DNA pochodzi z krętka żywego czy martwego. Również nie ma pewności, czy wynik PCR jest ujemny, gdyż nie doszło do zakażenia badanego, czy też dlatego, że próbka jest niereprezentatywna dla postaci choroby. Odpowiedni dobór materiału do badania PCR w zależności od postaci choroby, objawów itd., ma znaczenie podstawowe. Obecności DNA krętka można oczekiwać w krwi, tkankach pobranych z chłoniaka limfatycznego skóry lub zmian zanikowych, a także w płynie stawowym i mózgowo-rdzeniowym. Zasadność oznaczenia w krwi musi być rozważana indywidualnie.

**Identyfikacja DNA krętka w kleszczu metodą PCR**

W przypadku, gdy udaje się ująć kleszcza na "miejscu zbrodni", za pomocą metody PCR można z dużą pewnością ustalić, czy kleszcz był nosicielem krętka, a więc ustalić, czy zachodzi obawa zakażenia krętkiem osoby ukąszonej. Ilość materiału dla PCR jest bardzo mała i nawet fragmenty kleszcza, który nie przeżył operacji usunięcia ze skóry ofiary wystarczy do prawidłowego wykonania. Kleszcza lub jego fragmenty należy przechowywać w czystym pojemniku, najlepiej na próbki moczu. Materiał jest przydatny do oznaczenia przez 48 godzin przy przechowywaniu w temperaturze chłodziarki (4 st.C.). W przypadku konieczności dłuższego przechowywania powinien być zamrożony w temperaturze -20 st.C. i przechowywany do 4 tygodni. Rozmrożonego materiału nie wolna ponownie zamrażać, gdyż staje się całkowicie nieprzydatny. Pełna lista placówek sieci Diagnostyka, które wykonują oznaczenie DNA krętka Borrelia burgdorferii w materiale z kleszcza znajduje się pod linkiem <http://www.diag.pl/Nasze-placówki.17.0.html> .