

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Štěpánka Slívová

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví Z21B0195P

Štěpánka Slívová

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví Z21B0195P

**LYMSKÁ BORELIÓZA
A MOŽNOSTI JEJÍ LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

PLZEŇ 2024

Na této straně se v tištěné verzi nachází zadání bakalářské práce.

Na této straně se v tištěné verzi nachází zadání bakalářské práce.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval/a samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl/a v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 28.03.2024.

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Slívová Štěpánka

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Lymfská borelióza a možnosti její laboratorní diagnostiky

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Počet stran – číslované: 42

Počet stran – nečíslované: 19

Počet příloh: 1

Počet titulů použité literatury: 25

Klíčová slova: lymfská borelióza, *Borelia burgdorferi*, klíště, EIA, microblot-array, chemokin CXCL13, antibody index

Souhrn:

Toto je stručný popis práce, bez cíle a popisu metod, s uvedením výsledku.

Práce prezentuje souhrn současných poznatků o lymfské borelióze. Popisuje původce onemocnění, znalosti o kolování agens v přírodě, způsob přenosu, patogenezi a možnou terapii. Hlavní kapitoly zahrnují přehled o možnostech laboratorní diagnostiky. Představují rutinní metody i ty méně používané. V práci jsou zpracovány a vyhodnoceny laboratorní výsledky z Oddělení virologie, sérologie a parazitologie získané z FN Plzeň v období 6/2022 až 12/2023. Dále jsou podrobně popsány metody používané touto laboratoří.

Abstract

Surname and name: Slívová Štěpánka

Department: Department of Rescue Services, Diagnostics Fields and Public Health

Title of thesis: Lyme disease and possibilities of its laboratory diagnosis

Consultant: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Number of pages – numbered: 42

Number of pages – unnumbered: 19

Number of appendices: 1

Number of literature items used: 25

Keywords: lyme disease, *Borelia burgdorferi*, tick, EIA, microblot-array, chemokine CXCL13, antibody index

Summary:

This paper presents a summary of the current knowledge on Lyme disease. It describes the causative agents of the disease, the knowledge about the circulation of the agent in nature, the mode of transmission, pathogenesis and possible therapy. The main chapters include an overview of the possibilities of laboratory diagnosis. Routine methods as well as less used ones are presented. Laboratory results from the Department of Virology, Serology and Parasitology obtained from the University Hospital Pilsen in the period 6/2022 to 12/2023 are presented and evaluated.

Předmluva

Bakalářská práce byla napsána jako závěrečný projekt třetího ročníku oboru laboratorní diagnostika ve zdravotnictví. Téma lymfská borelióza bylo vybráno na základě mých osobních zkušeností s touto nemocí. Její zpracování bude sloužit pro následující studium v oblasti mikrobiologie.

Poděkování

Děkuji panu RNDr. Karlu Fajfrlíkovi, Ph.D. za odborné vedení mé bakalářské práce a poskytování důležitých rad při její tvorbě. Dále bych chtěla poděkovat paní Mgr. Petře Souškové za poskytnutí materiálů a pomoc při zpracování praktické části bakalářské práce.

OBSAH

SEZNAM GRAFŮ	12
SEZNAM OBRÁZKŮ	13
SEZNAM TABULEK	14
SEZNAM ZKRATEK	15
ÚVOD.....	16
TEORETICKÁ ČÁST	17
1 HISTORIE	17
2 ETIOLOGICKÁ AGENS	18
2.1 Borrelia burgdorferi sensu lato (Bbsl)	18
3 PATOGENEZE	19
3.1 Klíšťata	19
3.1.1 Výskyt klíšťat	20
3.1.2 Přisátí klíštěte	20
3.1.3 Přenos borelií.....	20
3.1.4 Další nemoci přenášené klíšťaty.....	21
3.1.5 Riziko nákazy	22
4 KLINICKÝ OBRAZ	22
4.1 Stadia	22
4.1.1 Časné lokalizované stádium	22
4.1.2 Časné diseminované stádium	22
4.1.3 Pozdní stádium	23
4.2 Kožní projevy	23
4.2.1 Erythema migrans.....	23
4.2.2 Lymphadenosis benigna cutis	24
4.2.3 Acrodermatitis chronica atrophicans	25
4.2.4 Léčba	25
4.3 Revmatoidní projevy.....	25
4.3.1 Patogeneze	25
4.3.2 Klinické projevy	26
4.3.3 Artralgie.....	26
4.3.4 Artritida	26
4.3.5 Diagnostika.....	27
4.3.6 Léčba	27
4.4 Kardiální postižení	27
4.4.1 Lymská karditida	27

4.4.2	Diagnostika lymské karditidy	28
4.4.3	Léčba lymské karditidy	28
4.5	Postižení oka	28
4.6	Lymská borelióza v těhotenství	29
4.7	Neuroborelióza.....	29
4.7.1	Úvod	29
4.7.2	Stádia neuroboreliózy	30
4.7.3	Postižení nervového systému v dětském věku	30
4.7.4	Postižení nervového systému v dospělém věku	31
4.7.5	Další potíže způsobené neuroboreliózou.....	31
4.7.6	Diagnostika.....	31
4.7.7	Léčba a prognóza.....	32
5	DIAGNOSTIKA LYMSKÉ BORELIÓZY	33
5.1	Metody přímé.....	33
5.1.1	Kultivace borelií	33
5.1.2	Světelná mikroskopie v zástinu	33
5.1.3	Elektronová mikroskopie.....	34
5.1.4	Polymerázová řetězová reakce	34
5.2	Metody nepřímé.....	34
5.2.1	ELISA.....	35
5.2.2	Imunofluorescenční testy.....	35
5.2.3	WESTERNBLOT	35
6	LÉČBA	35
	PRAKTICKÁ ČÁST	37
7	CÍL A ÚKOLY PRÁCE	37
7.1	Hlavní cíl.....	37
7.2	Dílčí cíle.....	37
8	VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY	38
9	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU	39
10	METODIKA PRÁCE	40
10.1	Enzymová imunoanalýza (EIA).....	40
10.1.1	Popis metody	40
10.1.2	Reagencie a vybavení	40
10.1.3	Pracovní postup	41
10.1.4	Vyhodnocení výsledků	41
10.1.5	Vlastní komentář	42
10.2	Microblot-array	42

10.2.1	Popis metody	42
10.2.2	Reagencie a vybavení	43
10.2.3	Pracovní postup	43
10.2.4	Kvantitativní hodnocení testu v jednotkách U/ml	45
10.2.5	Celkové hodnocení testu Microblot-array Borrelia	45
10.3	Antibody index	45
10.4	Stanovení Chemokinu CXCL13.....	47
10.4.1	Pracovní postup	47
10.4.2	Interpretace výsledků.....	47
11	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	48
11.1	Sledovaný soubor	48
11.2	Vyšetření krevního séra.....	48
11.3	Vyšetření mozkomíšního moku	49
11.4	Vyšetření punktátu	50
11.5	Vyšetření Chemokinu CXCL13	51
11.6	Antibody index	51
11.7	Pozitivita mužů a žen, četnost v jednotlivých měsících.....	52
	DISKUZE	54
	ZÁVĚR.....	57
	BIBLIOGRAFIE	58
	SEZNAM PŘÍLOH	60
	PŘÍLOHY	61
	Příloha 1 – Povolení sběru informací ve FN Plzeň	61

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Znázornění počtu testovaných mužů a žen	48
Graf 2: Vyšetření krevního séra metodou EIA ve třídě imunoglobulinů IgM a IgG	48
Graf 3: Porovnání vyšetření krevního séra metodou EIA a Microblot-array	49
Graf 4: Vyšetření likvoru metodou EIA ve třídě imunoglobulinů IgM a IgG	49
Graf 5: Porovnání vyšetření likvoru metodou EIA a Microblot-array	50
Graf 6: Vyšetření punktátu metodou EIA ve třídě imunoglobulinů IgM a IgG	50
Graf 7: Porovnání vyšetření punktátu metodou EIA a Microblot-array	51
Graf 8: Vyšetření přítomnosti Chemokinů CXCL13	51
Graf 9: Antibody index: Vyšetření krevního séra v porovnání s mozkomíšním mokem....	52
Graf 10: Porovnání pozitivních mužů a žen metodou Microblot-array.....	52
Graf 11: Znázornění pozitivních vzorků v jednotlivých měsících	53

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: <i>Ixodes ricinus</i>	21
Obrázek 2: <i>Erythema chronicum migrans</i>	24
Obrázek 3: Analyzátor EIA DSX č.1	42
Obrázek 4: Analyzátor EIA DSX č.2	44
Obrázek 5: Microblot-array (Reader).....	44

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Interpretace výsledků indexu positivity	41
Tabulka 2: Interpretace výsledků microblot-array	45
Tabulka 3: Celkové hodnocení testu Borrelia	45
Tabulka 4: Tabulka hodnocení výsledků Antibody indexu pro IgG, IgM	46

SEZNAM ZKRATEK

ACA.....	acrodermatitis chronica atrophicans
AI	Antibody index
ATB	antibiotika
Bb	Borrelia burgdorferi
Bbsl.....	Borrelia burgdorferi sensu lato
CNS	centrální nervová soustava
CT.....	výpočetní tomografie (z angl. computed tomography)
DNA	deoxyribonukleová kyselina (z angl. deoxyribonucleic acid)
EIA	enzymová imunoanalýza (z angl. enzyme immunoassay)
ELISA.....	enzymově značená imunoanalýza (z angl. enzyme-linked immunosorbent assay)
EM	erythema migrans
FN Plzeň	Fakultní nemocnice Plzeň
Ig	imunoglobulin
LA.....	lymská artritida
LB	lymská borelióza
LK.....	lymská karditida
MM.....	mozkomíšní mok
NB.....	neuroborelióza
Osp.....	outer surface proteins
PCR.....	polymerázová řetězová reakce (z angl. polymerase chain reaction)
WB.....	Westernblot

ÚVOD

Lymeská neboli také odborněji řečeno lymeská borelióza je multiorgánové onemocnění způsobené gram-negativní spirochetou *Borrelia burgdorferi*. Vektorem v ČR je klíště rodu *Ixodes ricinus*. Po přisátí klíštěte na člověka je borelie přenesena do těla hostitele. V České republice jde o jedno z nejčastějších onemocnění způsobených bakterií. Borelie napadají klouby, kůži, srdce, oči či nervový systém. Komplikace mohou nastat i při těhotenství. Při včasném objevení klíštěte a jeho odstranění je menší riziko následků způsobených lymeskou boreliózou. V některých případech může nemoc přejít do chronické fáze s vážnějšími následky. Diagnostika lymeské boreliózy se opírá o metodu ELISA, kterou potvrzuje metoda Westernblotu. Nejčastěji používáme krevní sérum. Je však možné použít i punktát či likvor. Metoda CXCL13 využívá právě hodnoty likvoru k pozorování změn v mozku. Poslední využívanou metodou je analytické zhodnocení tzv. antibody indexu, který porovnává poměr protilátek v krevním séru a likvoru.

TEORETICKÁ ČÁST

1 HISTORIE

Onemocnění lymská borelióza dostalo název dle městečka Lyme ve státu Connecticut v osmdesátých letech dvacátého století. (1)

První zmínky o lymské borelióze se datují již z roku 1883. Popsal je dermatolog Buchwald. Jeho popis zahrnoval pojem „idiopatická atrofie kůže“ později zvané *acrodermatitis chronica atrophicans* (ACA). V roce 1909 popsal Afzelius zánětlivý kožní projev zvaný *erythema migrans* (EM). V roce 1921 popsal Jessner případ o pacientovi postiženém *chronickou dermatitidou* spojenou s *altralgiami* a *laryngitidou*. O rok později referovali Garin a Bujadoux o případu spojení *meningopolyneuritidy* a EM. V následujících dvaceti letech byly přidány další poznatky k tématu. Bannwarth popsal případy spojené s postižením nervového systému. Zásadní byl však názor Lenhoffův, jež poukázal na možnost nákazy spirochetami při EM a ACA. Jeho názor v té době nikdo nepodporoval, a proto od něj bylo upuštěno. V šedesátých letech bylo EM popsáno jako samostatné onemocnění, ale bez potvrzeného původce. (2) (3) (4)

Zásadní průlom přišel po výzkumu v osmdesátých letech, kdy byl Steere spolu se svými spolupracovníky ve městě Old Lyme. Zkoumal zde zánětlivé *atropatie* u 39 dětí a 12 dospělých jedinců. U necelých 60 % dětí byly popsány příznaky *revmatoidní artritidy* s předěšlým výskytem EM. K popisu onemocnění přispěl i fakt o vyšším výskytu klíšťat rodu *Ixodes dammini* v této oblasti. Takto vznikl nový název již dříve objevené nemoci – lymská nemoc. Zanedlouho poté, v roce 1982, byl objeven původce nemoci: gram negativní bakterie – spirocheta zvaná *Borrelia burgdorferi* (Bb). Název dostala dle svého objevitele, švýcarsko-amerického vědce, Wilhelma Burgdorfera. (2) (3)

V roce 1983 a 1984 přispěli Benach s Ackermannem k průlomu v průkazu Bb v krvi a také k průkazu protilátek v séru pacientů s lymskou nemocí. (2)

Na mezinárodní konferenci, jež se konala v New Yorku v roce 1987 se účastníci věnovali problematice lymské nemoci. Došli k doporučení nového pojmenování nemoci: lymská borelióza (LB). (2)

V původním Československu jsou první zmínky o LB popsány až v roce 1960. Popsal je Sedláček spolu s Dandou. Věnovali se především příznakům EM, ACA a vztahem EM a výskytem klíštěte rodu *Ixodes* u nás. V následujících třech letech popsali Doutlík LB a její serologický průkaz u dětí. Zkoumal také jiné klinické projevy LB. V roce 1988 byl popsán projev postižení srdce u lidí s onemocněním LB. (2)

2 ETIOLOGICKÁ AGENS

Lymfskou boreliózu způsobují gram negativní bakterie mnoha druhů. U nás, v České republice, a v jiných evropských státech se nejčastěji vyskytuje komplex *Borrelia burgdorferi sensu lato*, zatímco třeba zástupce *Borrelia bisetti* spíše v Americe. Jednotlivé druhy mají také vyšší afinitu k určitým orgánům, které postihují. (5)

2.1 *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Bbsl)

Borrelia burgdorferi se řadí mezi gram – negativní bakterie. Konkrétně se jedná o spirochetu o rozměrech 0,2 x 4-30 μm s tenkým, spirálovitým tvarem. Bbsl zahrnuje více než 11 konkrétně pojmenovaných druhů borelií. Pohyb bakterii umožňují bičíky. Bb má okolo 7–12 bičíků. Oproti ostatním boreliím, jako například *B. recurrentis* (15–20 bičíků) jich má méně. Bičíky jsou cca. 12 nm silné a jejich lumen je vyplněn dřením zvanou vnitřní flagelin. Bičíky se obtáčejí kolem těla borelie a vycházejí z bazálních disků. „Buněčná stěna borelie se skládá ze tří vrstev a to: vnitřní peptidoglykanové, střední lipopolysacharidové a vnější lipoproteinové“ (Bartůněk 2013 s. 21). Střední a vnější vrstva je dvouvrstevná, kdežto vnitřní je pouze jednovrstevná. Uvnitř povrchové membrány dochází k posunu proteinů a glykosaminopeptidů, které pomáhají borelii při interakcích v těle hostitele. Cytoplazmatická membrána a membranózní obal jsou od sebe odděleny protoplazmatickým prostorem. Někdy může cytoplazma a vnější obal tvořit výběžky. Někteří autoři uvádějí, že při vysunutí těchto výběžků jsou vylučovány vezikuly obsahující plasmidovou deoxyribonukleovou kyselinu (DNA). (1) (2)

Borelie roste *in vitro* na Barbourově-Stoenerově-Kellyho půdě 12–14 hodin. Je udáváno, že *in vivo* roste bakterie 6–12 hodin. Mateřská buňka se rozděluje příčně nebo podélně v místě zvaném septum (*mesozom*). „Dělicí se borelie ztrácí polovinu bičíků. Disky a háčky zůstávají zachovány pro dceřinné buňky, ze kterých vyrostou bičíky nové, určené k pohybu.“ (Bartůněk 2013 s. 22, 23) (2)

Bbsl se liší nejenom svým genotypem, ale také fenotypem. Vyskytují se u nich různé antigenní determinanty. Mezi hlavní vyšetřované antigeny patří takzvané *Outer surface proteins* (Osp). Máme různé druhy antigenů např. OspA, OspC, OspE, OspF. Díky těmto antigenům byla zjištěna variabilita jednotlivých Bbsl. Spirochety mají také vlastní regulační geny – *borelia direct repeat*. Tyto geny neovlivní ani léčba antibiotiky ani přítomné protilátky v těle hostitele. U Bb byla díky elektronocytochemické technice prokázána tělíska, která pomáhají borelii přežít v nepříznivém prostředí. (2)

3 PATOGENEZE

Lymfskou boreliózu přenášejí klíšťata, která jsou infikována boreliemi. Klíště je pro borelii pouze takzvaným mezipřevodcem, ve kterém se borelie vyvíjí. Následně se dostávají do těla hostitele (zvíře, člověk), kterého infikují. (6)

3.1 Klíšťata

Klíšťata se morfologicky řadí do skupiny pavoukovců. V podrobnějším zoologickém dělení spadají klíšťata mezi roztoče. Klíšťata mají tvrdé tělo tvořené chitinem. U klíšťat je rozlišován pohlavní dimorfismus. Samičky jsou výrazně větší a dosahují velikosti kolem 5 mm, samečci jsou o něco menší. Klíště vyhledává svého hostitele díky speciálnímu smyslovému orgánu. Hallerův orgán je umístěn na konci předních končetin. „Dokáže zachytit mechanické, tepelné, a chemické podněty, což dává klíštěti signál k vystoupení a přichycení na takovýto zdroj.“ (Kimming 2003 s. 10) Díky tomuto faktu můžeme vyloučit domněnky mnoha lidí, že klíšťata skáčou na své hostitele ze stromů apod. Poté, co si klíště najde vhodného hostitele, použije tzv. chelicery k protržení kůže hostitele. K přísátí dochází bodacím ústrojí (*hypostomu*). *Hypostom* má po celém obvodu háčky, díky kterým se klíště zachytí v pokožce. (7)

Klíšťata za svůj život projdou třemi vývojovými stádii: larva, nymfa a dospělý jedinec (*imago*). Při každé přeměně dochází k takzvanému svlékání, odstranění „starých“ blan. V dospělosti saje pouze samička. Samec je předurčen pro rozmnožování. (7)

Klíšťata můžeme rozlišit podle počtu jejich hostitelů. Vyskytují se klíšťata s jedním, dvěma či třemi hostiteli. V naší zemi se vyskytují klíšťata, která vystřídají za svůj život

3 hostitele. Nejprve napadne larva svého prvního hostitele. Následná fáze představuje zahrabání pod zem. Při tom se larva svléká a přeměňuje v nymfu. Následuje opět proces svlékání, aby se nymfa mohla stát dospělým jedincem. (7)

3.1.1 Výskyt klíšťat

Klíšťata se vyskytují ve vlhkých oblastech Jsou pro ně typické oblasti hustých lesů a vysokých travnatých úseků. Vyšší výskyt klíšťat najdeme, i díky vlhkosti, kolem řek a v mokřadech s porostem kapradin. Jednotlivá stadia klíštěte se vyskytují v různých nadmořských výškách. Larvy se nejvíce vyskytují při zemi do výšky 10 centimetrů, kvůli potřebné vlhkosti. Napadají tak zvířata, která se v této výšce pohybují-například norník rudý. Nymfy „vyčkávají“ na své hostitele na rostlinných porostech do celkové výšky 50 cm. Přichycují se na veverka nebo ježky. Dospělý jedinec se může vyskytnout až ve výšce 1 metru. Proto může napadnout hospodářská zvířata či třeba srnky. Pro výskyt klíštěte u nás bývá udávána hranice osmi set výškových metrů. Tato hranice může být v dnešní době již mylná, jelikož byla data pořizována v původním Československu. (1) (7)

3.1.2 Přisátí klíštěte

Klíště vyčkává na svého správného hostitele. Poté se přichytí na ideální místo pro sání na těle hostitele. Následně protrhne kůži, přichytí se díky *hypostomu* (viz výše) a začne se provrtávat stěnou epidermis do hlubších vrstev. Klíště zároveň vypouští do těla hostitele své sliny, které pomáhají klíštěti, aby se udržel na hostiteli. Mají ale také zásadnější význam. A to, že dokážou utlumit jakoukoliv obranou reakci hostitele. Blokují tak funkci komplementu nebo neutrofilů, které se jinak účastní v obranné imunitní reakci proti cizím patogenům. Zabraňují také pocitu svědění v pokožce, které by nás jinak upozornilo na přítomnost cizího patogena v našem těle. To vše napomáhá klíštěti v dlouhém a klidném sání bez reakce hostitele. V této době se přesouvají spirochety ze střev klíštěte do jeho slinných žláz, odkud se dostávají do krevního oběhu člověka či jiných zvířat. (7) (8)

3.1.3 Přenos borelií

Přenašečem Bb je klíště rodu *Ixodes*. V České republice přenáší LB klíště rodu *Ixodes ricinus* (klíště obecné). „Ixos řecky znamená lepidlo, klič.“ (Kimming 2003 s. 11) *Ixodes ricinus* se vyskytuje v Evropě, na Blízkém východě a také v části Severní Afriky. (1) (2)

Obrázek 1: *Ixodes ricinus*



Zdroj: Kolářová Libuše, 2020, str.240

Borelie rostou a prodělávají vývoj ve střevě klíštěte. Pro jejich přechod do slinných žláz klíštěte a následný přechod do těla hostitele, je zapotřebí splnění mnoha podmínek. Například pH kolem 7 a změna teploty. Udává se proto, že pouze 1/3 klíšťat nakažených boreliemi je schopna infekci předat dál. Je to dáno také tím, že u klíšťat, která byla boreliemi nakažena, nacházíme nefunkční až rozpadající se střevní buňky, které brání delšímu přežití klíštěte. Pro přežití borelií jsou důležité takzvané *Osp proteiny*. Tyto proteiny se vyskytují v buněčné stěně a pomáhají bakterii přežít. Mezi nejvýznamnější proteiny patří OspA a OspC. Protein OspA umožňuje boreliím přichytit se v zaživacím traktu klíštěte k jeho epiteliálním buňkám. Spirochety jsou schopny přejít ze zaživacího traktu do *hemocoelu* díky proteinu OspC, který může vázat savčí plasminogen. Následně dochází k pomnožení spirochet a projevení infekce v těle savce. (1) (2) (3) (9) (10)

3.1.4 Další nemoci přenášené klíšťaty

Mezi nemoci, které klíšťata přenášejí nepatří jen lymfská borelióza. Tato skupina zahrnuje celou škálu onemocnění. (7)

Mezi jedno z nejčastějších virových onemocnění se řadí klíšťová encefalitida. Toto onemocnění je způsobeno virem klíšťové encefalidity. Existuje také tzv. Ruská jaro-letní encefalitida, která má těžší průběh než klasická encefalitida. Další virové onemocnění je modifikované dle místa výskytu tohoto onemocnění (Skotsko, Colorado, Kjasanurský les). (2)

Další skupinou jsou onemocnění bakteriálního původu. Sem patří například Q – horečka způsobená *Coxiellou burnetii*. Známější nemocí se stala erlichioza způsobená gram-negativní bakterií *Erlichie*. (Dnes používaný nový název: *Anaplasma phagocytophilum*). (7)

3.1.5 Riziko nákazy

Riziko nákazy klíštětem je vědecky prokázáno, pokud sání klíštěte trvá minimálně 24 hodin. Je proto vhodné se po návštěvě přírody večer preventivně prohlédnout a snížit tím riziko infekce. Nejčastěji napadají klíšťata větší savce a ptáky. Mohou ale také napadat i menší hlodavce. Člověk, jakožto hostitel, je pro borelii pouze slepým článkem. (2) (3) (8) (11)

4 KLINICKÝ OBRAZ

Klinický obraz u LB bývá velice pestrý. Jelikož se jedná o multisystémové onemocnění, může borelie napadat mnoho orgánů. Společným znakem bývá prvotní *erythema migrans*. Vývoj onemocnění a jednotlivé projevy budou následně popsány. (11)

4.1 Stadia

Borelióza se u pacienta může projevit ve třech časových stádiích. Časné lokalizované stádium, časné diseminované stádium a pozdní stádium. Stadia se vyznačují charakteristickými projevy pro jednotlivé fáze onemocnění. (10)

4.1.1 Časné lokalizované stádium

Časné lokalizované stádium zahrnuje prvotní nález *erythema migrans*. Skvrna má velikost okolo 5 centimetrů a vyskytuje se na těle v místě přisátí klíštětem. První EM se vyskytují v řádu 3–30 dní. Skvrny mohou migrovat a vyskytovat se kdekoliv na těle, proto označení migrans. K dalším příznakům spojených s LB patří zvýšená teplota, únava, bolest hlavy, bolest svalů a jiné projevy. (10)

Jelikož vždy nedochází k vyvinutí EM, mohou se u člověka projevit jen výše zmíněné vedlejší příznaky. Tyto příznaky se vyskytují u celé řady jiných onemocnění, proto je těžké boreliózu diagnostikovat v prvotní fázi onemocnění. Dalším důvodem může být přehlédnutí přisátého klíštěte, které je následně důvodem infekce. (1) (4) (12)

4.1.2 Časné diseminované stádium

Časné diseminované stádium nastává jeden až čtyři měsíce po přisátí klíštětem. Borelie jsou diseminovány celým tělem a napadají hlavně nervový systém, srdce a klouby. Tato fáze onemocnění nastává, pokud u nemocného dříve neproběhly žádné projevy nemoci či pokud nebyla nemoc v prvotním stádiu správně залéčena. Dále se mohou objevit i další EM po těle. Vzácněji dochází k projevům tzv. boreliového lymfocytomu. Jedná se o malý pupen

vznikající na uchu, nosu, bradavce a jiných částech těla, a to převážně u dětí. Má červenou až fialovou barvu a roste do velikosti 5 milimetrů. (1) (12)

4.1.3 Pozdní stádium

Pozdní stádium nastává po měsících až letech prvotní infekce. Dochází tak k přechodu do trvalého stádia poškození organismu. Důvodem je nevyлéčení předešlých stádií infekce včas a pořádně. Nemocní pocít'ují extrémní únavu a dochází k poškození orgánů. Revmatoidní poruchy se projevují bolestmi a otoky ramen a kloubů. Pacient může dostat zánět osrdečníku nebo může trpět neurologickými poruchami. Pacienti mají problém se spánkem a pamětí, brní je končetiny nebo je necítí vůbec. Mezi kožní projevy pozdní fáze patří *acrodermatitis chronica atrophicans* (ACA). ACA se vyskytuje na distálních částech končetin, na trupu nebo i na obličejí. Jedná se o kožní projev LB. Pokud je neléčený, dochází k modrému zabarvení kůže a může dojít až k chronické atrofii nebo fibróze. (13) (10)

4.2 Kožní projevy

Kožní projevy lyské boreliózy jsou charakteristické pro všechna její tři stádia. V prvním stádiu se nejčastěji vyskytuje *erythema migrans*. V diseminovaném stádiu bývá projev *boreliového lymfocytomu* jinak zvaném *lymphadenosis benigna cutis*. V pozdním stádiu bývá projev nejčastěji formou *acrodermatitis chronica atrophicans*. Ačkoliv se ACA vyskytuje až ve třetí fázi onemocnění, byl tento kožní projev prvně popsán dermatologem Buchwaldem v roce 1883. (1) (2) (12)

4.2.1 Erythema migrans

Erythema migrans patří mezi nejčastější kožní projevy lyské boreliózy. Udává se, že u více než poloviny pacientů nakažených borelií byl EM zaznamenán. EM je malá *makula* či *papula*, která se projeví v místě přisátí klíštěte. Skvrna je zpočátku minimalistická, může se však rozšířit až do velikosti několika centimetrů. V centrální části může dojít k vyblednutí místa přisátí klíštětem. Označení migrans vzniklo z důvodu sekundární migrace skvrn, které se mohou projevit v dalších stádiích onemocnění. Dle klinického dělení rozlišujeme EM na tři základní typy. (1) (12)

1. Anulární EM – tento typ EM má sytě červený lem a po okraji skvrny s hladkým povrchem. Jelikož dochází k zahojení rány uprostřed, vzniká zde centrální vybled.

2. Homogenní EM – Homogenní EM má po celou dobu výskytu červený vzhled opět s hladkým povrchem. Může se šířit do okolí a postihnout například celou distální část dolní končetiny. Nemusí se ale šířit vůbec.
3. Terčovitě EM – dostalo název dle svého specifického uspořádání vzhledu terče. Dochází ke střídání tmavě a světle červených kružnic, mezi kterými se vyskytují pruhy zdravé kůže.

Obrázek 2: Erythema chronicum migrans



Zdroj: <https://dermnetnz.org/topics/erythema-migrans-images>

EM bývá doprovázeno vedlejšími příznaky nemoci (popsáno výše). Vlastní projev EM není nijak specifický. U jedinců může docházet ke svědění kůže či je zvýšená citlivost v místě výskytu EM. Diagnostika EM není jednoduchá, jelikož se vyskytuje řada onemocnění, která se projevují podobným vzhledem jako EM. Můžeme sem zařadit například klasické bodnutí hmyzem nebo fixní lékový *exantém*. Podle anamnézy, epidemiologické situace a klinického obrazu stanovujeme diagnózu. Neléčené EM vymizí během 2–4 týdnů, léčené během několika dní. (1) (12)

4.2.2 Lymphadenosis benigna cutis

Lymphadenosis benigna cutis neboli *boreliový lymfocytom* je typický projev druhé fáze onemocnění LB. Jedná se o *papulu* s hladkým a lesklým povrchem. Má barvu přechodně od tmavě červené až k fialové. Velikostně měří od několika milimetrů až po 5 centimetrů. Nejčastěji jej nacházíme u dětí v raném čase po infekci klíštětem. Vyskytuje na ušním boltci, špičce nosu nebo na dvorcí prsní bradavky. Při diagnostice *lymfocytomu* musíme

opět zvážit projevy jiných onemocnění, aby nedošlo k chybné diagnóze. Například *histiocytom* (plochá papula hnědé barvy), *hemangiom* (měkká papula červené barvy) či jiný kožní nádor. Diagnóza je určena histologickým nálezem společně se serologickými testy. (2) (12)

4.2.3 Acrodermatitis chronica atrophicans

Acrodermatitis chronica atrophicans je typickým projevem třetí fáze onemocnění. Nastává roky po prvotní infekci klíštětem. Vyskytuje se na extenzorových partiích rukou a nohou v okolí kloubů. Na dolních končetinách se vyskytuje na nártách a kolenou. Na horních končetinách je jeho výskyt popsán nejčastěji nad lokty a na hřebenech rukou. Zatím nebyl popsán výskyt na dlaních ani ploskách nohou. V první fázi dochází k zánětu kůže. Kůže má tmavě červenou až *lividní barvu edémovité konzistence*. Po ukončení zánětlivé fáze se kůže mění v *atrofickou*. Dostáváme kůži vzhledu zmačkaného cigaretového papíru bez přítomnosti elastických vláken a dilatací cév. Diagnóza je hodnocena podobně jako *boreliový lymfocytom* dle serologického a histologického vyšetření. Musíme zde také zvážit jiná onemocnění jako prostou senilní *atrofii* kůže či lokalizovanou *sklerodermii*. (1) (2) (12)

4.2.4 Léčba

Léčbu zahrnují antibiotika podaná per os. Nejčastěji doxycyklin 200 mg/den. U menších dětí amoxicilin 20 mg/kg. V časně fázi podáváme antibiotika 10–14 dnů, v diseminovaném stádiu od 20 do 30 dnů. (2)

4.3 Revmatoidní projevy

Revmatoidní projevy při onemocnění lymfské boreliózy nazýváme *lymská artritida* (LA). Pod tímto pojmem si můžeme představit celou škálu onemocnění kloubů. Mezi nejčastější patří *artralgie* a *artritida*. Mezi další zánětlivá onemocnění pohybového aparátu patří záněty šlach (*tendinitidy*), úponů (*entezity*), kloubních pouzder (*kapsulitidy*) a svalů (*myozitidy*). LA nastává ve druhém a třetím stádiu LB. Jednotlivé typy borelií mají různorodý výskyt po celém světě. V USA je LA diagnostikována častěji, jelikož je zde vyšší výskyt *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, která má vyšší afinitu ke kloubům. Zatímco v Evropě se vyskytují spíše druh *B. garinii*, která způsobuje neurologické projevy či *B. afzelii*, která je zodpovědná za kožní projevy LB. Statistiky uvádějí že četnost LA v Evropě činí 15 %. (2) (1)

4.3.1 Patogeneze

Lymská artritida je způsobena dvěma činiteli. Jednak přítomností samotné borelie v těle hostitele a za druhé sekundární reakcí hostitele. Jak už bylo řečeno, záleží na druhu

borelie, jež infikuje hostitele a následným projevem. Jako první jsou boreliemi rozpoznány receptory pro přichycení na endotelové buňky hostitele. Důležitou roli pro borelie hrají cukerné složky proteoglykanu, chondroitinsulfát, kolagen a další. Všechny tyto složky se vyskytují v pohybovém aparátu, kam jsou borelie schopny se na molekuly jednotlivých složek navázat. Aby se začaly projevovat patogenní změny kloubů, musí přijít borelie do kontaktu s endotelovou buňkou v kapilární síti, která probíhá pod synoviální membránou. Následně musí dojít v tomto místě k aktivaci leukocytů. Borelie jsou poté schopny aktivovat různé procesy, například produkci cytokinů, které pak vedou k porušení cévní stěny. Jakmile je cévní stěna porušena, borelie mohou volně pronikat do dalších částí těla hostitele. (1) (2)

4.3.2 Klinické projevy

Klinické projevy kloubního postižení můžeme rozdělit do dvou skupin, dle nálezu zánětlivého ložiska či bez něj (idiopatický vznik). Obě postižení se vyskytují ve druhé a třetí fázi onemocnění a mohou přejít až do chronického stavu. (2)

4.3.3 Artralgie

Artralgie je bolest kloubů a kostí, ale také třeba páteře, bez jasného patogenního nálezu na kloubu či v jeho okolí. Tato bolest je často migrující a vzniká ve druhém a třetím stádiu LB. Nemusí se vždy jednat jen o bolesti kloubů, ale může docházet i k bolesti svalů (*myalgie*). Bolesti se mohou objevovat v různých časových intervalech a mohou mít různý charakter. Mohou trvat od řádu hodin až po několik týdnů. Mezi cykly bolestí mohou být měsíční pauzy. Bolesti mohou být u jednotlivých jedinců různorodé. Mohou být pichlavé nebo naopak tupé, pálivé či ostré. Velmi často je spojena *artralgie* s únavou jedince. U vybraných jedinců, může dojít únava až do fáze neschopnosti běžného fungování v životě. Mezi další projevy patří slabost, horečky nebo noční pocení. (1) (2)

4.3.4 Artritida

Artritida představuje kloubní zánět s viditelným otokem, synoviální reakcí, při které dochází ke ztluštění kloubního pouzdra a zmnožení nitrokloubní tekutiny. *Artritida* zpravidla navazuje na předešlé muskuloskeletální bolesti. Jak už bylo řečeno, artritida se vyskytuje častěji v USA než v Evropě. Její výskyt v USA se udává u více než poloviny nakažených LB a má také závažnější průběh. (2)

Artritudu můžeme rozdělit do dvou podskupin. *Monoartritida* postihující pouze jeden kloub, zatímco *oligoartritida* zpravidla 2-4 klouby. Typickým příkladem *monoartridy* můžeme uvést kolenní kloub. Charakteristický je pro něj velký výpotek, způsobený přítomnou

cystou. Tato cysta může později prasknout, a tím dojde k vylití synoviální tekutiny do prostoru. *Artritida* postihuje také velké klouby. Typickým příkladem může být zánět ramenního kloubu nebo syndrom karpálního tunelu. (2)

Po několika měsících až letech se může u jedinců vyskytnou znovu infekce označovaná jako *chronická artritida*. Definice dle vědců v USA je taková, že *chronická artritida* je onemocnění nejčastěji jednoho kloubu, které trvá rok i přes léčbu pacienta antibiotiky (ATB). Příčinami může být předešlý kloubní zánět nebo autoimunitní proces. Pokud se jedná o pacienty s autoimunitním problémem, označujeme tyto pacienty jako pacienty rezistentní na léčbu. Pokud bychom testovali jejich kloubní prostředí, nenajdeme zde přítomnou DNA borelií. Dále se můžeme setkat s pacienty, kteří nereagují na léčbu ATB. Ti jsou nositeli speciálního antigenu HLA-DRB1 *0401 nebo 0101. (1) (2)

4.3.5 Diagnostika

Diagnostika se opírá o klinický obraz, ke kterému se přidávají informace o pobytu jedince v přírodě. Doplnujícím vyšetřením je serologický průkaz protilátek enzymuimunoanalýzou (ELISA), doplněnou o metodu Westernblot (WB). (1) (2) (9)

4.3.6 Léčba

Lymská artritida je léčena doxycyklinem 2 x denně po 100mg. Při alergii podáváme amoxicilin 3 x 500 mg za den nebo cefuroxim 2 x denně 500 mg. Vše je užíváno po dobu minimálně 28 dní. (2)

4.4 Kardiální postižení

Kardiální postižení, je onemocnění srdce. Pod tímto názvem si můžeme představit mnoho chorob. Můžeme uvést například poruchy srdečního rytmu, záněty myokardu nebo perikardu. Všechny tyto choroby jsou společné pro běžné srdeční choroby, ale také pro postižení srdce, způsobené boreliemi (lymská karditida). (1)

4.4.1 Lymská karditida

Lymská karditida (LK) se objevuje v časném diseminovaném stádium mezi druhým týdnem až 5 měsíci po prvotní infekci. Je udáváno, že v Americe je výskyt LK přibližně 1x větší než v Evropě. Mezi rysy charakteristické pro LK patří síňokomorová blokáda a rychle se měnící změny blokády levého a pravého *Tawarova raménka*. Síňokomorová (*atrioventrikulární*) blokáda je způsobena prodloužením nebo dokonce ztrátou vedení vzruchu mezi síněmi a komorami srdce. Projevy blokády působí na jedince únavou, závratěmi nebo pocitem na omdlení. K dalším častým kardiálním postižením patří *tachykardie* (zrychlený srdeční

rytmus) nebo *komorové arytmie* (poruchy srdečního rytmu). *Arytmie* se u jedinců projevují nepříjemným pocitem silného bušení srdce. Jako další můžeme uvést záněty *myokardu* nebo *perikardu*, které se projevují hlavně dušností. (1) (2) (3)

4.4.2 Diagnostika lymské karditidy

Diagnóza LK není jednoznačná. Naštěstí berou lékaři LK v potaz, při rutinních srdečních vyšetřeních, zvláště pokud má pacient negativní anamnézu. Diagnostika zahrnuje serologické vyšetření protilátek proti Bb metodou ELISA, potvrzenou metodou Westernblot, Následuje přímý průkaz Bb v myokardu a kardiologické vyšetření. Mezi regulérní kardiologická vyšetření patří elektrokardiografie. Sleduje se případná porucha tvorby a vedení vzruchu. Dále můžeme uvést například rentgenové vyšetření hrudníku. Celá diagnostika je doplněna o další laboratorní vyšetření vylučující jiný původ srdečního onemocnění. (1) (2)

4.4.3 Léčba lymské karditidy

Léčba LK je součástí léčby LB. Užívají se antibiotiky, nejčastěji doxycyklin 2 x 100 mg/den po dobu 2–3 týdnů. Při vyšším stupni postižení je vhodný penicilin G 3 x 3 g/den intravenózně 2–3 týdny podávaný. Jednotlivé symptomatické postižení srdce je léčeno individuálně dle onemocnění. Symptomatické blokády se léčí pomocí pomocné kardiostimulace. Asymptomatické blokády a *tachyarytmie* jsou monitorovány kontinuálně pomocí elektrokardiografie. (1) (2)

4.5 Postižení oka

Postižení oka není pro onemocněné LB úplně typické. Může se ale vyskytovat ve všech třech stádiích onemocnění. Diagnóza je velmi komplikovaná, jelikož rozlišení postižení oka u LB a jiná oční vada je téměř nemožné. (2) (14)

Konjunktivitida neboli zánět spojivek se vyskytuje v časném diseminovaném stádiu LB. Pacienti mají neustálý takzvaný „pocit písku v očích“. Dále je *konjunktivitida* charakterizována tlakem v oku, nadměrným slzením nebo světloplachostí. (14)

Další postižení oka se nazývá *keratitida* neboli onemocnění rohovky oka. Borelie způsobují bakteriální keratitidu. Jedná se o typ hluboké keratitidy, která postihuje *stroma* rohovky. (14) (2)

Uvea neboli živnatka je prokrvená vrstva oka tvořená třemi částmi: duhovkou, řasnatým tělískem a cévnatkou. Všechny tyto části může postihnout zánět při borelióze označovaný *uveitida*. Nejčastěji se *uveitida* projevuje jako tupá bolest oka, která může přecházet

do okolí. Uveitida může být první projev LB, proto by na ní měli lékaři upozornit při nevy-
světlitelných příčinách zánětů žilnatky. (14) (1)

4.6 Lymská borelióza v těhotenství

U těhotných bývá riziko infekce Bb vyšší, jelikož je jejich imunitní systém oslaben. Prvně byly spekulace o vertikálním přenosu Bb uvedeny v roce 1983, nebyly však potvrzeny testy. První potvrzený případ byl popsán v roce 1985. 28letá rodička porodila ve 35. týdnu po projevení EM v prvním trimestru. Po porodu se jí projeví příznaky onemocnění LB. Dítě nicméně nezemřelo na infekci Bb, nýbrž na srdeční vadu. Při pitvě byly nalezeny spirochety v kostní dřeni a ve slezině, nikoliv však v srdci. V roce 1988 publikoval Weber pří-
pad pacientky, která byla infikovaná Bb a měla projev EM v prvním trimestru. I po přeléčení penicilínovými ATB došlo k přenosu Bb na plod. Dítě bylo porozeno v termínu s normální vahou. Po 23 hodinách dítě zemřelo na poškození mozku. Při pitvě byl potvrzen nález Bb v mozku. (2) (15)

Diagnóza v těhotenství je různá dle fáze těhotenství. V prvním trimestru těhotenství bychom měli být schopni prokázat Bb v chorionových klíčích histologicky, metodou PCR nebo elektronovou mikroskopií. Dále při testování plodové vody, by měla být infekce plodu pozitivní. Následně v pupečnickové krvi před, ale hlavně po porodu bychom díky serologickým metodám měli být schopni nalézt pozitivní průkaz borelií. (2) (15)

Těhotné, jež zaznamenaly přisátí klíštěte na svém těle, by měly dbát na důkladné pozorování svého těla. Pokud by došlo k projevení infekce, měly by se ihned obrátit na svého lékaře. Lékař by měl nasadit antibiotika vhodná pro těhotné. Nejčastěji se užívá amoxicilin po dobu čtrnácti dnů. (2) (14)

4.7 Neuroborelióza

Neuroborelióza je trochu odlišná od ostatních orgánových postižení, způsobených boreliemi. V praktické části ji budu také věnovat více pozornosti, a proto bude popsána v samostatné kapitole.

4.7.1 Úvod

Neuroborelióza (NB) je postižení nervů způsobených boreliemi. Incidence NB se udává mezi 10-40 % pacientů s LB. V Evropě je NB nejčastěji způsobena *Borrelia garinii*. U dětí se neuroborelióza nejčastěji projevuje jako periferní obrna lícního nervu. K obrně lícního nervu se může pojit *kraniální neuritida*, způsobující různorodá postižení mozkových

nervů. U dospělých je nejčastějším projevem *Garin-Bujadoux-Bannwarthův syndrom*. Jedná se o *meningopolyradikuloneuritidu*, vyznačující se silnými *neurálními* bolestmi podmíněnými zánětem míšních kořenů a mozkomíšních plen. Dalším projevem může být *aseptická meningitida*. Klinické projevy jako horečka nebo meningitida se často nevyskytují, naopak se mohou vyskytnout obrny hlavového nervu lícního a statoakustického, které mohou skončit až u kompletní *parézy* končetin nebo mozkových nervů (2) (3) (16) (17)

4.7.2 Stádia neuroboreliózy

Projevy NB se objevují v diseminovaném stádiu. Po překonání *hematoencefalické bariéry* se borelie dostávají do krve a nervového systému, ve kterém poškozují *neurony* a *glie*. Mozkomíšní pleny, obaly míšních kořenů a drobné cévy jsou postiženy primárně pohybem borelií v mozkomíšním moku a následně způsobeným edémem se zhoršujícím se krevním oběhem. U míšních kořenů je tomu nápodobně. V rozvinutém diseminovaném stádiu dochází k poškození neuronů (*neuropatie*). Dále se mohou vyskytnou *encefalopatie*, *myelopatie*, *radikuloneuropatie*, *pleocytózy* v mozkomíšním moku nebo částečné *paraparézy* těla. Boreliová *meningitida* je způsobena přímou invazí borrelií do centrální nervové soustavy (CNS). (3)(14) (15)

Přechod do chronického postižení nervového systému bývá vzácný. Chronický projev zahrnuje zánět mozku a míchy souhrnně označovaný jako *encefalomyelitida*. Kromě výskytu zánětu bývá doprovázen poruchami paměti, psychickými poruchami jako je deprese, porucha osobnosti, chování nebo narušení spánkového režimu. Druhým projevem chronické NB je chronická *polyradikulitida* a *polyneuritida*. Jedná se o postižení více nervů spojených s *parestéziemi*, bolestmi a svalovou nefunkčností na distálních končetinách. (2) (3) (14)

4.7.3 Postižení nervového systému v dětském věku

Periferní obrna lícního nervu se vyskytuje hlavně u pacientů v dětském věku. Abychom předešli mylné diagnóze, musíme při diagnóze NB hledat oboustranné postižení lícního nervu (7. hlavový nerv). Oboustranné postižení může být na jedné straně nevýrazné, je však důležité toto rozeznat od idiopatické obrny lícního nervu (Bellova obrna). Kvůli neprojevujícím se EM či *radikuloneuritidě* bývá periferní obrna často neléčena. Dále se u dětí a mladistvých může vyskytovat *boreliová kraniální neuritida*. Její projev spočívá v postižení lícního a statoakustického nervu. Dalším projevem NB může být postižení zrakového nervu nebo *demyelizační polyneuropatie*. (2) (6)

4.7.4 Postižení nervového systému v dospělém věku

Celým názvem *Garin-Bujadoux-Bannwarthův syndrom*, je postižení projevující se v diseminovaném stádiu NB převážně u dospělých. Odborně řečeno se jedná o *meningoencefalomyeloradikuloneuritidu*. Toto onemocnění se projevuje nesnesitelnými bolestmi v oblasti dolních končetin. Může se také přesunout na horní končetiny nebo do oblasti hrudníku. Bolesti se projevují hlavně v nočních hodinách a pacienti nereagují na žádnou léčbu analgetiky ani jinými léčivými. *Bannwarthův syndrom* má různorodé projevy. Buď může probíhat *abortivním* průběhem nebo s ložiskovými projevy. Bolesti na končetinách mohou dojít až k částečným nebo úplným *parézám* končetin. Dále se u dospělých pacientů mohou vyskytnout psychické problémy, navozené poruchy vědomí nebo poruchy mozečku. (2) (6)

4.7.5 Další potíže způsobené neuroboreliózou

Pozdní diseminované stádium se projevuje více ložiskovým postižením nervového systému. Postižení mozku nebo jeho tkání v okolí je projevem *encefalopatie*. Ta se následně projevuje dysfunkcí mozku. Společně s mozkem může být poškozená i mícha. Toto onemocnění se nazývá *myelopatie*. Dalšími projevy mohou být různé *neuropatie* nebo *endokrinopatie*. Při diagnóze musí dbát lékař na důkladné prozkoumání anamnézy pacienta, jelikož může být NB zaměněna za mozkomíšní sklerózu, jež má podobné příznaky. NB se může projevovat postižením více orgánů, což ji odlišuje od sklerózy. Dalšími projevy NB může být postižení kognitivních, paměťových a exekutivních funkcí. Dále se udává koincidence NB spolu s dalšími příčinami vzniku například Parkinsonovy choroby, roztroušené sklerózy nebo Alzheimerovy choroby. (2) (6)

4.7.6 Diagnostika

Diagnostika NB je různorodá, jelikož každý projev boreliózy má jiný způsob detekce. Počátečním vyšetřením je podrobné zhlédnutí anamnézy pacienta. Pacient mohl mít předešlé příznaky boreliózy, jež se projeví jako následná neuroborelióza. Při podezření na NB by se měla ihned nasadit ATB i přes to, že lékař nemá dosud výsledky ze serologických testů. Serologické testy užívané k detekci protiboreliových protilátek zahrnují metodu ELISA, potvrzenou metodou Westernblot. Jako stěžejní je dále vyšetření mozkomíšního moku (MM). V MM se při patologii způsobené NB vyskytuje zvýšené množství bílkovin, lymfocytů a monocytů. MM se dále vyšetřuje na protiboreliové protilátky a nespecifické imunoglobuliny třídy IgM nebo IgG. MM je indikován například při podezření na periferní obrnu lícního nervu. Další stěžejní metodou je polymerázová řetězová reakce (PCR). PCR

slouží k přímé detekci DNA borelií v moku, krvi a dalších tkáních. Pokud se u pacienta vyskytnou ložiskové příznaky NB, je ihned odeslán na vyšetření výpočetní tomografie (CT), popřípadě magnetické rezonance (MR) mozku a míchy. Elektroencefalografie sleduje elektrické aktivity v mozku a využívá se pro zjištění správného fungování CNS. Toto vyšetření se provádí, jelikož může docházet k záchvatovým poruchám způsobených NB. Elektromyografie slouží k detekci nervosvalového aparátu a s ním spojených nemocí. Využívá se také k monitorování následků neuroboreliózy. (2)

Další metodou, která je užívaná v některých laboratořích je stanovení chemokinu CXCL13 jinak zvaného BCA-1. Chemokin CXCL13 je exprimován v sekundárních lymfoidních orgánech a zprostředkovává migraci B-lymfocytů, ale také T-lymfocytů do CNS a jiných orgánů. Nejvyšší hodnoty se vyskytují při počáteční infekci Bb, proto je vhodné vyšetřit tento chemokin v raném stádiu NB. Chemokin CXCL13 je stanovován v mozkomíšním moku metodou ELISA. Jedná se o sendvičový způsob metody ELISA, kdy je vzorek uchycen mezi dvě protilátky, proto název sendvič. První protilátka je přichycena na stěnu jamky, do které se poté přidá pacientův vzorek. Následuje přidání druhé (detekční) protilátky. Na konci dochází k přidání substrátu, který reaguje s enzymem za přeměny na jeho barevný produkt. Tímto nám vzniká měřitelný signál (enzym-protilátka-vzorek), jehož intenzita je přímo úměrná koncentraci našeho měřeného analytu. Jelikož se jedná o metodu ELISA, musíme provádět s každým měřením kontroly. (18)

4.7.7 Léčba a prognóza

Neuroborelióza se léčí širokospektrými antibiotiky, která dokáží prostoupit *hematoencefalickou a hematoliquorou bariéru*. Vhodným léčivem je ceftriaxon. Užívá se v dávce 2 g/den po dobu 2–4 týdnů *intravenózně*. Dále je možný podávat cefotaxim nebo ceftizoxim. Pro zajištění případného nenavrácení nemoci se po skončení cefalosporinových antibiotik užívá doxycyklin nebo amoxicilin po dobu následujících dvou až tří týdnů. Další léčba může být založena na post-boreliových problémech jedince. Mnoho lidí chodí na různorodé psychoterapie s možným užíváním antidepresiv a jiných léků. (2) (6)

5 DIAGNOSTIKA LYMSKÉ BORELIÓZY

Diagnostika lymfské boreliózy se opírá o přímé a nepřímé metody společně s anamnézou pacienta. Přímé metody jsou specifické, ale málo citlivé. Nejpřesnější metodou je polymerázová řetězová reakce. Metody nepřímé využívají detekci protilátek proti boreliím. Proto se uplatňují hlavně v pozdějších fázích infekce. (2)

5.1 Metody přímé

Přímé metody se uplatňují u pacientů, kteří nemohli být vyšetřeni serologickými metodami. Například neměli vyvinuté protilátky proti boreliím, a proto museli být použity metody přímé. I když nejsou tak citlivé, pořád nám zajistí průkaz borelií v těle člověka. (10)

5.1.1 Kultivace borelií

Kultivace borelií je prováděna na Barbourově-Stoenerově-Kellyho půdě. Jedná se o kultivační půdu s přidáním 6% králičího nebo koňského séra. V dnešní době jsou půdy dodávány komerčně. Pro kultivaci se používá krevní plazma odebraná do zkumavky s EDTA¹, sérum jen vzácně. Laborant přidá plazmu do tekutého média a nechá ho inkubovat v termostatu. Kultivace začíná fází statickou v prvním až čtrnáctém dni. Dochází k růstu a přeměně prostředí vyvolaného boreliemi. Kontinuální kultivace se provádí v nové půdě ve 4denních intervalech. Pro kultivaci je důležité dodržení základních podmínek: teplota (34–35 °C), osmotický tlak, sluneční světlo, ultrafialové záření, pH (7,5) a oxidoredukční potenciál (0,1–0,2). (2) (13)

Kultivace nám prokazuje živé borelie v těle pacienta. Není moc citlivá, proto se provádí k ověření infekce, potvrzení diagnózy nebo přetrvání infekce v kůži a jiných orgánech. (2) (13)

5.1.2 Světelná mikroskopie v zástínu

Tato metoda jinak zvaná mikroskopie temného pole se užívá k průkazu spirochet v těle klíštěte. Výsledky této metody slouží k hodnocení promoření klíšťat spirochetami v jednotlivých stádiích na jednotlivých místech. Podstatou metody je kondenzor s clonou tvořící tmavé pole. Paprsky procházející přímo do objektivu ze zdroje světla jsou tímto blokovány a obraz je tvořen jen rozptýlenými paprsky, které prošly čočkou. Výsledný obraz vypadá jako podsvícený tvar spirochety v tmavém poli. (2)

¹ EDTA-sůl kyseliny diamintetraoctové, Používá se jako antikoagulační činidlo. Vyvazuje vápenaté ionty, zabraňuje koagulaci.

5.1.3 Elektronová mikroskopie

Elektronová mikroskopie je založena na zhodnocení morfolgie borelie společně s provedením imunocytochemické reakce. Reakce je zprostředkována mezi antigenem a specifickou (králičí) protilátkou pevně vázanou na mikroskopické síťce. Dále dochází ke konjugaci antigenu s monoklonální protilátkou značenou koloidním zlatem. Tato metoda je využívána, jelikož dokáže prokázat infekci i u séronegativních pacientů. V pozdější fázi infekce se využívají specifické monoklonální protilátky proti OspA, DbpA, p83.² (1)

5.1.4 Polymerázová řetězová reakce

Polymerázová řetězová reakce (PCR) je založena na principu množení určitého úseku DNA. PCR má tři fáze: denaturace, *annealing* (nasednutí *primerů*), syntéza DNA. Denaturace spočívá v zahřátí DNA a následného rozpojení na jednotlivá vlákna. Po ochlazení nasedají na jednotlivá vlákna *primery*. Tyto syntetické nukleotidy sloužící k ohraničení úseku DNA, který chceme namnožit. Ve třetí fázi se pomocí Taq-polymerázy, nasyntetizují volné, komplementární nukleotidy k jednomu z původních vláken DNA. Dojde tak k prodloužení a vytvoření nové kopie DNA. Toto je poté několikrát opakováno a vzniká mnoho nově namnožených sekvencí DNA. Následně jsou úseky připravené pro další zpracování jako je elektroforéza, hybridizace a jiné metody. (2)

PCR v reálném čase je rychlejší a přesnější metoda. Záleží ale také na mnoha faktorech, které mohou reakci znehodnotit. Metoda například využívá vícebarevné značení, které dokáže rozlišit živé a mrtvé borelie ve vzorku. (2)

Borelie jsou prokazovány pomocí specifických primerů *recA*, *OspA*. Materiálem používaným k tomuto vyšetření je synoviální tekutina nebo tkáň. Testování je vhodné při podezření na lymskou artritidu nebo chronickou *meningoencefalitidu*. (16)

5.2 Metody nepřímé

Metody nepřímé, jinak zvané serologické, využívají k vyšetření pacientovy protilátky vyvinuté proti boreliím. Nejprve se objevují protilátky třídy IgM a poté IgG. U některých pacientů se nemusejí protilátky IgM vůbec vytvořit nebo naopak přetrvávají déle. Protilátky IgG mohou přetrvávat v těle i řadu let. (10) (16)

² OspA je povrchový virulentní faktor nutný pro přežití borelie a napadení eukaryotické buňky. DbpA je protein A vázající dekorin exprimovaný Bb během savčí fáze infekce. P83 je hlavní extracelulární protein Bb.

5.2.1 ELISA

Metodou ELISA jsou prokazovány antiboreliové protilátky třídy IgM a IgG v séru, mozkomíšním moku a synoviální tekutině pacienta. Tato metoda slouží jako screeningová a pozitivní a hraniční hodnoty jsou potvrzovány metodou Westernblot (WB). Protilátky IgM se začínají objevovat po 2–4 týdnech, IgG až po 4–6 týdnech po přisátí klíštěte. (7) (16)

Test spočívá v reakci antigenu imobilizovaného na dně mikrotitrační destičky s očekávanou přítomnou protilátkou. Poté je přidána sekundární protilátka proti lidskému imonoglobulinu s navázaným enzymem. Enzym následně štěpí substrát a vzniká barevný produkt, jehož hodnota odpovídá množství protilátky. Měření výsledků provádíme spektrofotometricky. Používají se rekombinantní antigeny, jejichž výhoda spočívá v odlišení zkřížených reakcí s jinými bakteriemi, které by nám mohly poskytovat falešně pozitivní výsledky. (19) (2)

5.2.2 Imunofluorescenční testy

Imunofluorescenční testy prokazují protilátky vázané na těla borelií. Protilátky z pacientova séra se vážou na imobilizované patogenní buňky na sklíčku. Poté je přidáno antisérum proti lidskému imonoglobulinu s fluoreskující barvou. Výsledek prohlížíme ve fluorescenčním mikroskopu. Tyto testy nejsou tak přesné jako ELISA, proto se již skoro nevyužívají. (2)

5.2.3 WESTERNBLOT

Metoda Westernblot je specifitější, protože využívá hledání protilátek proti jednotlivým částem těla borelií, které vytváří náš systém. Borelie se skládají z mnoha různých bílkovin (protilátek). Příkladem mohou být bílkoviny vnější membrány (OspA-F), flagelin důležitý pro tvorbu bičíků, bílkoviny tepelného šoku a mnoho dalších. (19) (7)

6 LÉČBA

Léčba pacienta je individuální dle postiženého orgánu, stádia onemocnění a problémů spojených s LB. Lékař pak volí vhodná antibiotika, jejich podání a délku léčby. (2)

Doxycyklin je užíván v časně fázi infekce a jako prevence chronického onemocnění. Dobře se vstřebává a prostupuje do tkání. Můžeme ho podávat dlouhodobě, ale u citlivých jedinců může podráždit žaludeční sliznici. Způsob podání *per os*.³ (2)

³ Podání *per os* znamená podání dutinou ústní. Podání intravenózně znamená podání do žíly.

Amoxicilin se podává u pacientů, kterým nemůžeme podat tetracykliny. To znamená u těhotných žen, u dětí mladších 8 let a u alergiků na tetracykliny. Podání *per os*. (2)

Erytromycin a azitromycin se používají také pro těhotné, mladší děti a pro alergiky na penicilin. (2)

Ceftriaxon, cefotaxim a penicilin G používáme při nervových, kloubních a srdečních potížích, jelikož dobře pronikají do *likvorových* a *synoviálních tekutin*. Podáváme je *intra-venózně*. (2) (3)

PRAKTICKÁ ČÁST

7 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

7.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem mé bakalářské práce bylo seznámení se s problematikou onemocnění lymfské boreliózy s podrobnějším zaměřením na neuroboreliózu. Dále osvojení laboratorní diagnostiky lymfské boreliózy a statistické zpracování dat poskytnutých z Oddělení virologie, sérologie a parazitologie FN Plzeň.

7.2 Dílčí cíle

1. Kvalitní zpracování problematiky lymfské boreliózy v teoretické části.
2. Osvojení laboratorních metod využívajících se pro diagnostiku lymfské boreliózy (EIA, Microblot-array, Antibody index, stanovení Chemokinů CXCL13).
3. Grafické zpracování souboru čítajícího 2407 pacientů z FN Plzeň v termínu 6.2022-2023
4. Zhodnocení zpracovaných výsledků a celé bakalářské práce.

8 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY

1. Bylo testováno více mužů či žen? Bylo pozitivních více mužů či žen?
2. Zhodnotit výsledky testů v krevním séru, likvoru a mozkomíšním moku metodou EIA v porovnání s metodou Microblot-array.
3. Zhodnotit vyšetření Chemokinů CXCL13 a metodu Antibody Index.
4. Bylo nejvíce pozitivních testů prokázáno v závislosti na období nejvyššího sezónního výskytu klíšťat?

9 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

Sledovaný soubor pacientů zahrnuje pacienty z Fakultní nemocnice Plzeň (FN Plzeň) a pacienty z okolí, kteří byli vyšetřeni pro podezření na onemocnění lymfské boreliózy. Jedná se o pacienty z různých oddělení FN Plzeň, o pacienty od praktických lékařů a pacientů z ostatních nemocnic v plzeňském kraji. V období druhé poloviny roku 2022 až do konce roku 2023 bylo vyšetřeno celkem **2407 pacientů** s podezřením na lymfskou boreliózu. Zastoupení mužů a žen je skoro srovnatelné. Pro vyšetření se dodává různý biologický materiál, jako je **krevní sérum, likvor a mozkomíšni mok**. Prvotní vyšetření zahrnuje diagnostiku protilátek **IgM, IgG** metodou **EIA**. Hraniční a pozitivní výsledky jsou upřesněny metodou **microblot-array**. Při podezření na neuroboreliózu či jiné poškození mozku se provádí vyšetření **chemokinu CXCL13** a matematicky spočítaný **antibody index**. Pro výpočet tohoto indexu potřebujeme znát výsledky hodnot bílkovin a protilátek pacienta. Proto můžeme toto vyšetření provádět jen u pacientů z FN Plzeň.

10 METODIKA PRÁCE

Metodika práce popisuje čtyři metody (Enzymovou imunoanalýzu, Microblot-array, Antibody index, CXCL13), jež se využívají k vyšetření při podezření na přítomnost lymfscé boreliózy.

10.1 Enzymová imunoanalýza (EIA)

10.1.1 Popis metody

Souprava EIA slouží k detekci protilátek IgG (IgM) v krevním séru. Dále je možné použít jiný biologický materiál, jako je mozkomíšni mok nebo synoviální tekutina. Existuje několik typů metod EIA. Zde je použitý sendvičový typ, tzn. reakce antigenu pevně vázaného v jamce mikrotitrační destičky s očekávaně přítomnou protilátkou ve vzorku pacienta a sekundární, značenou protilátkou. Sekundární protilátka-konjugát je zvířecího původu a je namířená proti lidskému IgG (IgM). Sekundární protilátka je konjugovaná křenovou peroxidázou. Aktivita peroxidázy se stanovuje přidáním substrátu TMB, který způsobí zmodrání při pozitivitě vzorku. Reakce je ukončena zastavovacím roztokem, kdy dojde ke změně barvy z modré na žlutou. Intenzitu žlutého zbarvení odečítáme fotometricky při 450nm. Intenzita zbarvení odpovídá koncentraci IgG (IgM) protilátek ve vyšetřovaném vzorku.

10.1.2 Reagencie a vybavení

Souprava pro metodu EIA obsahuje:

1. **Mikrotitrační destička** s navázaným antigenem
2. **Negativní kontrola** – roztok neobsahující specifické lidské protilátky
3. **Cut-off** – specifické lidské protilátky v hraniční koncentraci
4. **Pozitivní kontrola** – roztok obsahující specifické lidské protilátky
5. **Konjugát** – roztok obsahující zvířecí imunoglobulin proti lidskému IgG (IgM) značený peroxidázou
6. **Ředící roztok vzorků** – pufr se stabilizátory bílkovin
7. **TMB** – jednosložkový substrát
8. **Promývací roztok**
9. **Zastavovací roztok**

Pacientské vzorky jsou sterilně odebrány do zkumavek pro srážlivou krev. Po centrifugaci krve získáme krevní sérum pro naše vyšetření.

Další potřebné vybavení zahrnuje pipety, špičky pro jednorázové použití, promývací zařízení, termostat (37 °C), fotometr pro mikrotitrační destičky

10.1.3 Pracovní postup

Jako první je nutné vyndat soupravu s reagensy z lednice a nechat ji vytemperovat na laboratorní teplotu. Dalším krokem je naředění promývacího roztoku v poměru 1:20 s destilovanou vodou. Vzorky krevního séra jsou naředěny ředícím pufrem v poměru 1:101. Ostatní reagensie jsou předem naředěny výrobcem. Mikrotitrační destička je vyndána a je v ní ponechán počet stripů dle počtu pacientských vzorků. Nepoužité stripy jsou hermeticky uzavřeny a vráceny do soupravy. Poté jsou reagensie a vzorky pipetovány dle předepsaného schématu do mikrotitrační destičky a vloženy do analyzátoru, kde probíhá samotné vyšetření.

10.1.4 Vyhodnocení výsledků

Hodnocení výsledků spočívá ve výpočtu indexu pozitivity (IP) za použití změřené absorbance séra a průměrné absorbance Cut-off.

$$IP = \frac{\text{absorbance séra}}{\text{průměrná absorbance Cut - off}}$$

Interpretace výsledků je založena na referenčních mezích dané výrobcem. Hodnoty pod 0,9 jsou negativní. Od hodnoty 0,9 jsou pacienti s hraničním nebo pozitivním indexem testu. Tyto pacienti by měli být opakovaně vyšetřeni po 2 až 6 týdnech od prvotního testování.

Tabulka 1: Interpretace výsledků indexu pozitivity

<u>Index pozitivity (IP)</u>	<u>Hodnocení</u>
Menší než 0,9	Negativní
0,9 až 1,1	Hraniční
Větší než 0,1	Pozitivní

Zdroj: Test Line (Návod pro použití: EIA Borrelia recombinant IgG, IgM 2022)

Index pozitivity je využívám pro semikvantitativní hodnocení testu. Data získaná touto metodou budou v další části zpracována v grafické podobě.

Pro kvalitativní hodnocení je nutné jiné pipetování vzorků do destičky. Výsledné hodnocení probíhá odečtením z kalibrační křivky, sestavené z koncentrací kalibrátorů na ose X a odpovídající absorbance na ose Y. Hladina protilátek je následně odečtena z kalibrační křivky a zhodnocena dle interpretace výsledků. Tímto hodnocením se ale zabývat nebudeme.

10.1.5 Vlastní komentář

Metoda je zde popisována manuálním zpracováním. V dnešní době se využívají hlavně analyzátoři. Data získaná pro můj výzkum byla naměřena na tomto EIA analyzátoru DSX.

Obrázek 3: Analyzátor EIA DSX č.1



Zdroj: vlastní

10.2 Microblot-array

10.2.1 Popis metody

Microblot-array je modifikace imunoblotu převedeného do mikrotitrační destičky. Rekombinantní antigeny jsou uchyceny na nitrocelulóзовé membráně na dně jamky ve formě spotů. Po přidání patientského vzorku dochází při inkubaci k navázání protilátky na antigeny uchycené na membráně. Dalším krokem je promytí destičky. Následuje přidání sekundární protilátky konjugované alkalickou fosfatázou. Po inkubaci je vizualizace provedena přidáním substrátu. Reakce je finálně zastavena destilovanou vodou. Intenzita zabarvení v jednotlivých jamkách je měřena pomocí speciálního readeru. Vyhodnocení probíhá dodaným softwarem v počítači.

10.2.2 Reagencie a vybavení

1. **Microblot-array destička** s nanesenými rekombinantními antigeny
2. **Pozitivní kontrola** (roztok obsahující specifické protilátky, použité v případě validace stanovení)
3. **Konjugát** (roztok obsahující zvířecí imunoglobulin značený alkalickou fosfatázou)
4. **Substrátový roztok**
5. **Univerzální roztok** (pufr pro ředění vzorků a promývaní stripů)
6. **Kalibrační karta, Pracovní návod**

Další vybavení: pipety, špičky pro jednorázové použití, odsávací zařízení, stopky, zkumavky pro ředění sér, destilovaná voda, promývačka, microblot – array sušička; reader

10.2.3 Pracovní postup

Před použitím je nezbytné nechat všechny reagencie vytemperovat na laboratorní teplotu (přibližně 60 minut). Dále je třeba naředit vzorky krevních sér univerzálním roztokem v poměru 1:51. Mikrotitrační destička druhé generace je více náchylná k poškození, proto je třeba s ní manipulovat šetrně. Jednotlivé stripy jsou oddělitelné a zvýrazněné podle typu protilátky (IgM–červená, IgG–modrá). Na spodní straně se nachází DM kód pro identifikaci testu v průběhu softwarového hodnocení, který se nesmí při manipulaci poškodit.

Provedení testu na EIA analyzátoru

1. Umístění reagensů spolu s microblot destičkou do analyzátoru a dále je postupováno dle instrukcí v návodu.
2. Po ukončení testu v EIA analyzátoru je destička vyjmuta a přenesena do speciálního readeru. Roztoky jsou uzavřeny a skladovány dle předepsaných podmínek.
3. Destička je vložena do readeru s následným vyhodnocením. Při vkládání destičky je nutné zkontrolovat, zda jsou všechny stripy správně zasunuty do destičky a zda je destička vložena do readeru rovně. Při případné chybě by došlo k zablokování readeru a byl by vyžadován odborný zásah.

Obrázek 4: Analyzátor EIA DSX č.2



Zdroj: vlastní

Obrázek 5: Microblot-array (Reader)



Zdroj: vlastní

10.2.4 Kvantitativní hodnocení testu v jednotkách U/ml

Výpočet vychází z kalibrační křivky sestavené z intenzity kalibrátorů na ose X a jejich koncentrací na ose Y. Propojením bodů vznikne kalibrační křivka, ze které je možné stanovit hladiny protilátek ve vzorcích v (U/ml). Interpretace je dána následující tabulkou.⁴

Tabulka 2: Interpretace výsledků microblot-array

<u>Hladina protilátek (U/ml)</u>	<u>Interpretace</u>
Menší než 185	Negativní
180 až 210	Hraniční
Větší než 210	Pozitivní

Zdroj: Test Line, návod pro použití Microblot-Array Borrelia IgG,IgM 2022

10.2.5 Celkové hodnocení testu Microblot-array Borrelia

Při celkovém hodnocení testu jsou porovnány získané výsledky s následující tabulkou, která kombinuje antigenní spot OspC s výskytem ostatních antigenů.

Tabulka 3: Celkové hodnocení testu Borrelia

Antigeny: VlsE, p83, p58, p41, p39, OspB, OspA, OspC, NapA, OspE, p17			
<u>Alespoň 1 OspC</u> <u>antigen</u>	<u>2 a více pozitivní</u> <u>hodnoty</u>	<u>1 pozitivní nebo 3 a více</u> <u>hraniční hodnoty</u>	<u>Žádná reaktivita nebo nejvýše 2</u> <u>hraniční hodnoty</u>
pozitivní	pozitivní	pozitivní	pozitivní
hraniční	pozitivní	pozitivní	hraniční
nereaktivní	pozitivní	hraniční	negativní

Zdroj: Test Line, návod pro použití Microblot-array Borrelia IgG, IgM 2022

10.3 Antibody index

Antibody index vyjadřuje poměr hladiny protilátek v mozkomíšním moku k hladině protilátek v krevním séru ve vztahu ke stavu hematoliquorové bariéry a koncentraci celkových imonoglobulinů v likvoru a séru.

⁴ Semikvantitativní hodnocení se při použití EIA analyzátoru nepoužívá.

Jako první je sestrojena kalibrační křivka z hodnot absorbancí kontrol získaných metodou EIA. Pokud by absorbance vzorku převyšovala poslední bod křivky, je nutno vzorek naředit ředícím roztokem. Následuje složitý výpočet dle Reibera.

- Q_{Alb} = koncentrace albuminu v likvoru / koncentrace albuminu v séru
- Q_{IgG} (IgM)= koncentrace celkových IgG (IgM) v likvoru / koncentrace celkových IgG (IgM) v séru
- AU = arbitrární jednotky odpovídající absorbancím likvoru a séra (odečteny z kalibrační křivky)
- Q_{spec} IgG/IgM = arbitrární jednotky v likvoru v IgG (IgM)/arbitrární jednotky v séru v IgG (IgM)
- Q_{Lim} = horní hranice rozsahu Q_{Alb}

Výpočet

Je-li Q_{Lim} (IgG) > Q_{IgG} pak AI (IgG) = Q_{spec} (IgG) / Q_{IgG}

Je-li Q_{Lim} (IgG) < Q_{IgG} pak AI (IgG) = Q_{spec} (IgG) / Q_{Lim} (IgG)

Poznámka: Pro třídu IgM platí stejný vzorec.

Hodnocení výsledků vychází z následující tabulky:

Tabulka 4: Tabulka hodnocení výsledků Antibody indexu pro IgG , IgM

Hodnota AI	Interpretace výsledků
$AI < 1,4$	Negativní AI, intratekální syntéza neprokázána
$1,4 \leq AI < 1,5$	Hraniční AI, výsledek nutno hodnotit v korelaci s trváním klinického nálezu a protilátkovou odpovědí v séru
$1,5 \leq$	Pozitivní AI, intratekální syntéza prokázána

Zdroj: Test Line, návod pro použití Antibody index-software

10.4 Stanovení Chemokinů CXCL13

Hodnota Chemokinů CXCL13 se zvyšuje při zánětech, infekcích a imunitní odpovědi. Po navázání na receptor na neutrofilech nebo žírných buňkách dává chemokin signál B-lymfocytům migrovat do místa zánětu. Předpokládá se, že se podílí na neurologickém poškození, jelikož podporuje aktivaci a migraci B-lymfocytů do mozkomíšního moku. (

10.4.1 Pracovní postup

CXCL13 je stanovován sendvičovým typem ELISA testu. Souprava pro test je vytemperována na laboratorní teplotu a následně připravena k použití. Vzorky MM musí být naředěny v poměru 1:1 ředícím roztokem o minimálním celkovém objemu 100 µl. Dále je nutné připravit promývací roztok naředěný destilovanou vodou. V jamkách mikrotitrační destičky se nachází navázána protilátka specifická proti CXCL13. Do jednotlivých jamek je přidán MM pacientů. Během první třicetiminutové inkubace dochází k navázání protilátek na specifické antigeny ve vzorku. Poté dochází k promytí promývacím roztokem. Do jamek je přidána detekční protilátka značená biotinem a dochází opět ke třicetiminutové inkubaci. Po skončení inkubace a promytí je přidán konjugát (peroxidáza). Inkubace je tentokrát v temnu s polovičním intervalem (15minut). Zviditelnění vazby CXCL13 s detekční protilátkou je možné díky enzymatické reakci peroxidázy s chromogenním substrátem. Pro ukončení reakce je přidán stop roztok. Intenzita zabarvení je měřena na spektrofotometru při 450 nm maximálně do 20 minut od ukončení testu. Negativní vzorky nereagují a mírná změna barvy je způsobena pozadím reakce.

Všechny tyto kroky provádí analyzátor VIDIMAT automaticky. Pozitivní a negativní kontroly by měly být v rozmezí dané certifikátem od výrobce.

10.4.2 Interpretace výsledků

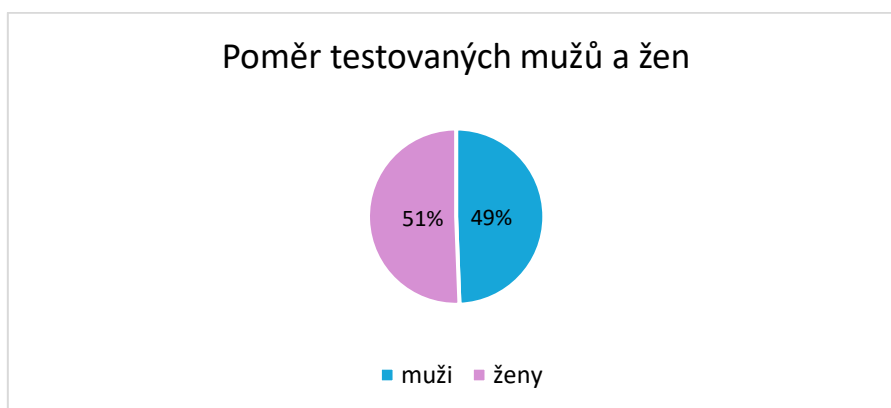
Po několikaletých studiích bylo prokázáno, že chemokin CXCL13 se výrazně zvyšuje při akutní neuroborelióze. Zvýšené hodnoty jsou prokazovány ještě před vytvořením specifických protilátek. Je proto užíván při prvotním podezření na neuroboreliózu. Po podání antibiotik je jeho hodnota rapidně snížena, i přes stále se vyskytující pleocytózu v MM. Zvýšené hodnoty Chemokinů CXCL13 v MM se vyskytují nejen u akutní neuroboreliózy, ale byly prokázány také u neurosyfilitidy, tuberkulózní meningitidy a lymfomů centrální nervové soustavy.

11 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

11.1 Sledovaný soubor

Data byla získána z oddělení virologie, sérologie a parazitologie FN Plzeň Bory. Sledovaný soubor čítal celkem 2407 pacientů. Zastoupení testovaných mužů a žen bylo srovnatelné. Žen bylo testováno pouze o 2 % více. Celkem bylo otestováno 1189 mužů a 1218 žen.

Graf 1: Znázornění počtu testovaných mužů a žen

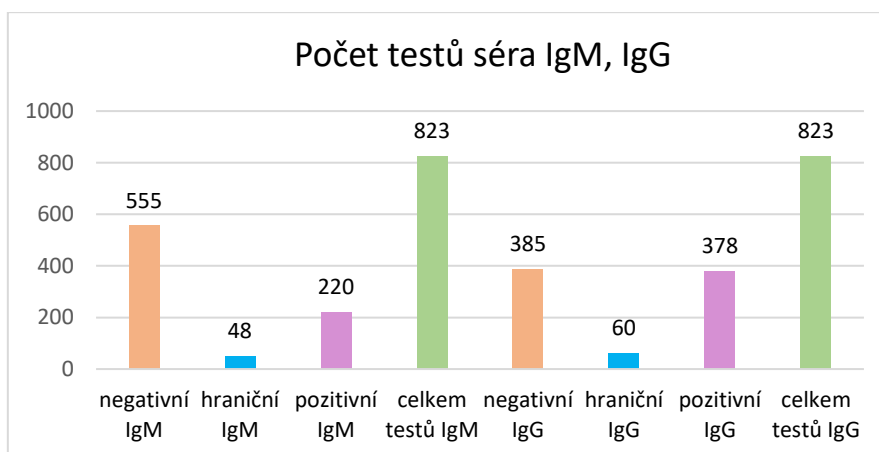


Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

11.2 Vyšetření krevního séra

Celkem bylo provedeno 1646 krevních testů metodou EIA. Z toho byla provedena polovina pro třídu IgM a polovina pro IgG. Hraničních vzorků bylo evidováno 48 pro IgM a 60 pro IgG. Pozitivních vzorků bylo zjištěno 220 pro IgM a 378 pro IgG.

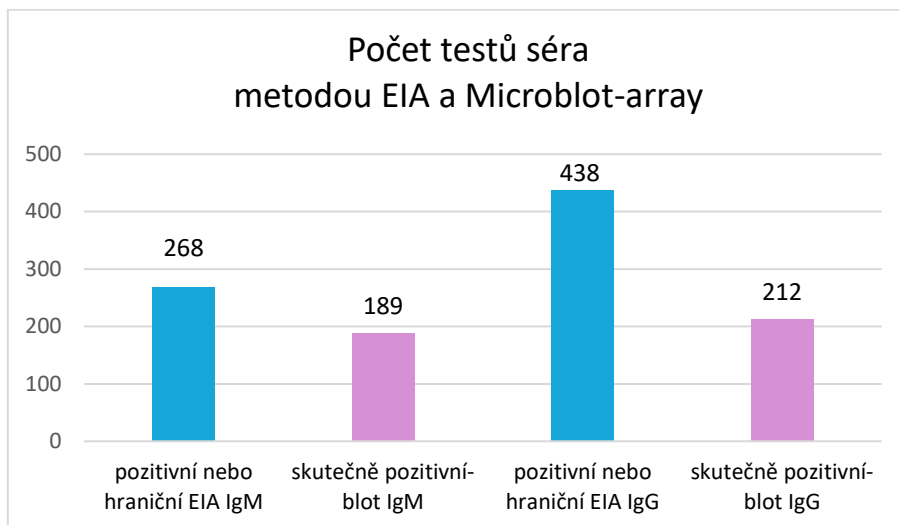
Graf 2: Vyšetření krevního séra metodou EIA ve třídě imunoglobulinů IgM a IgG



Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

Metodou blotu bylo vzorků séra v linii IgM pozitivních 71 %. Naopak ve třídě IgG byla skutečně pozitivní necelá polovina tj. 48 %.

Graf 3: Porovnání vyšetření krevního séra metodou EIA a Microblot-array

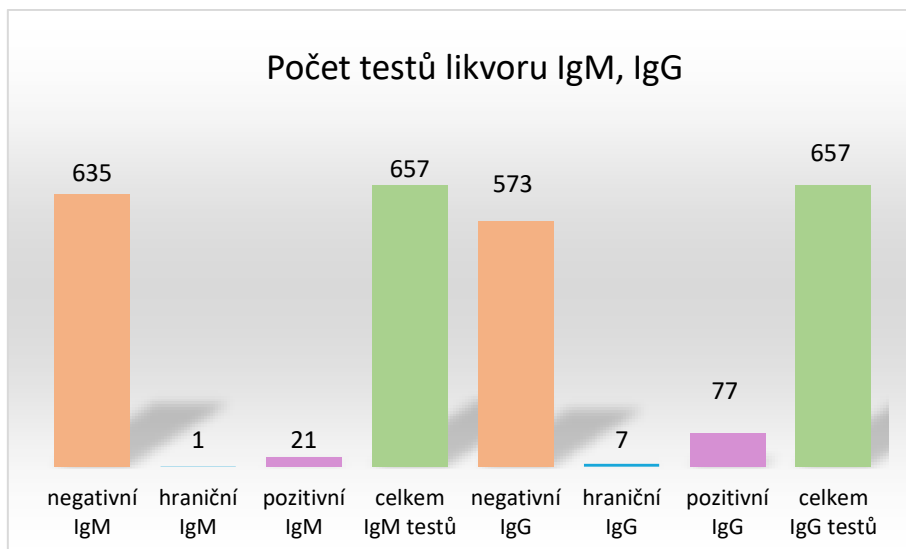


Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

11.3 Vyšetření mozkomíšního moku

Mozkomíšního moku bylo vyšetřeno celkem 657 vzorků pro každou třídu. Ve třídě IgM byl v hraničním rozmezí pouze jeden vzorek, ve třídě IgG sedm. Pozitivních pacientů bylo ve třídě IgM 21, ve třídě IgG 77.

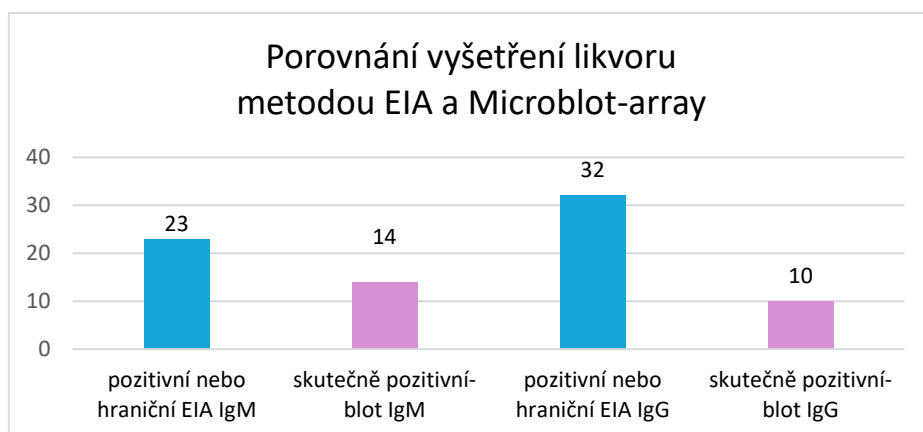
Graf 4: Vyšetření likvoru metodou EIA ve třídě imunoglobulinů IgM a IgG



Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

Metodou microblot-array bylo z celkových 22 pozitivních ve třídě IgM potvrzeno 17. Ve třídě IgG bylo pozitivních vzorků metodou EIA 84. Z toho skutečně pozitivních bylo jen 34.

Graf 5: Porovnání vyšetření likvoru metodou EIA a Microblot-array

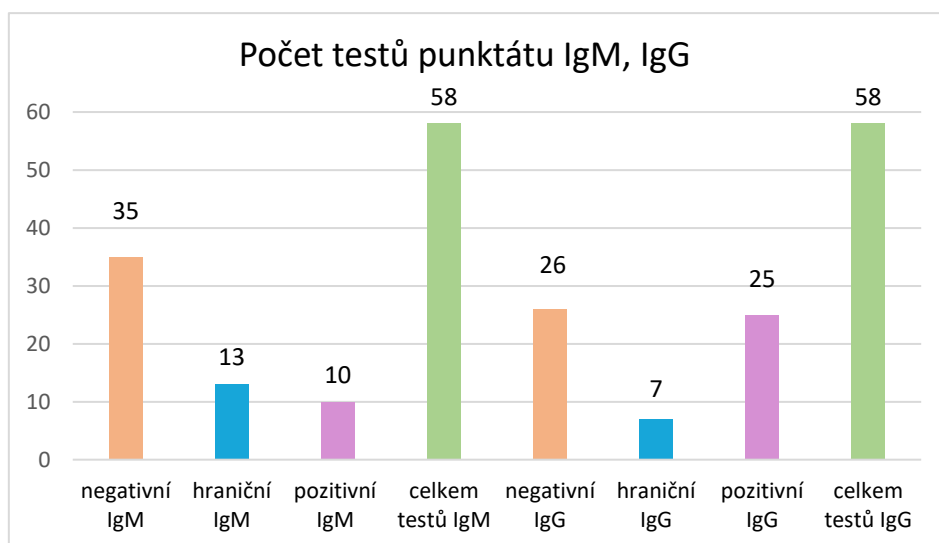


Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

11.4 Vyšetření punktátu

Za sledované období byl punktát odebrán 58 pacientům. Ve třídě IgM bylo hraničních vzorků zjištěno 13, pozitivních 10. Ve třídě IgG bylo hraničních hodnot méně (7), za to pozitivních vzorků bylo zjištěno 25.

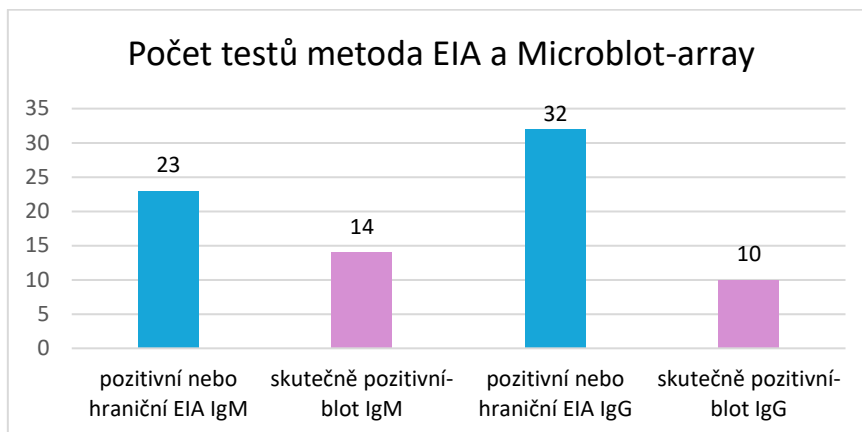
Graf 6: Vyšetření punktátu metodou EIA ve třídě imunoglobulinů IgM a IgG



Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

Při potvrzení nákazy boreliemi bylo skutečně pozitivních pacientů prokázáno 14 ve třídě IgM a 10 ve třídě IgG.

Graf 7: Porovnání vyšetření punktátu metodou EIA a Microblot-array

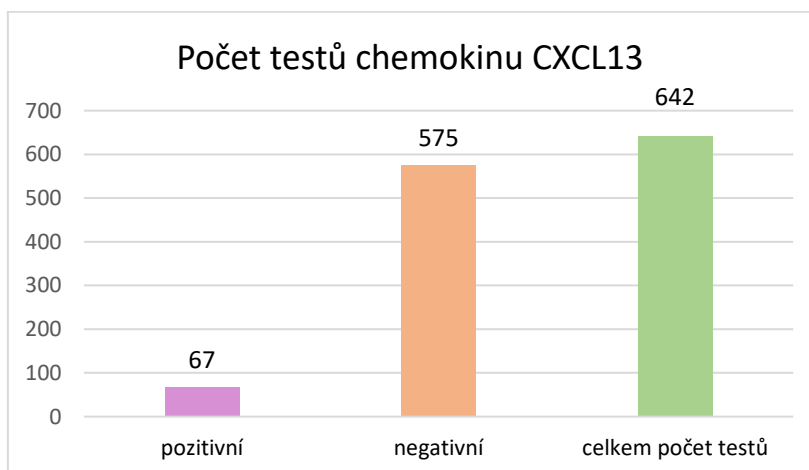


Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

11.5 Vyšetření Chemokinů CXCL13

Při vyšetření chemokinů bylo otestováno celkem 642 pacientů. Z toho jich na boreliózu bylo pozitivních 67. To činí pouze 10 % ze všech otestovaných pacientů.

Graf 8: Vyšetření přítomnosti Chemokinů CXCL13

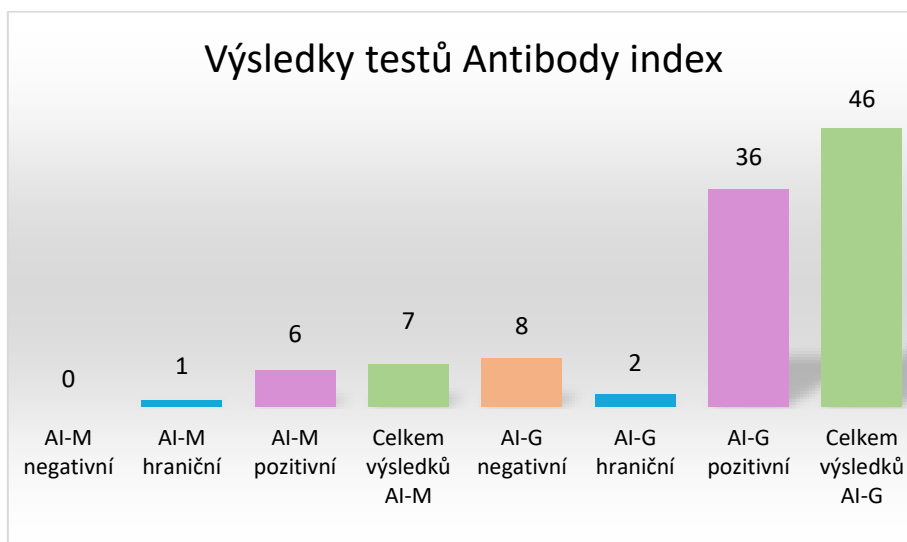


Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

11.6 Antibody index

Pozitivních výsledků Antibody indexu bylo zjištěno celkem 42 (IgM 6, IgG 36). Hraniční hodnoty byly zjištěny celkem u 3 pacientů. U hraničních a pozitivních hodnot, ale i v celkovém hodnocení AI je nutné porovnat výsledky s klinickým nálezem pacienta.

Graf 9: Antibody index: Vyšetření krevního séra v porovnání s mozkomíšním mokem

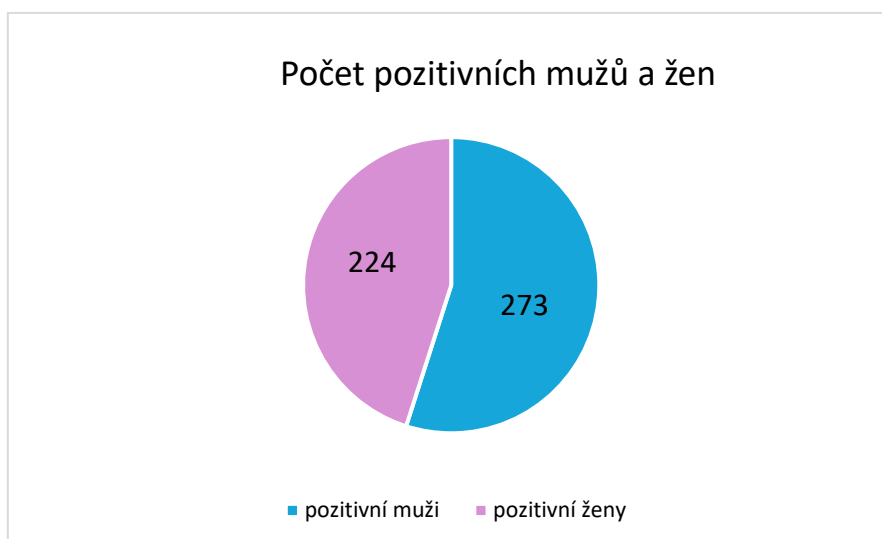


Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

11.7 Pozitivita mužů a žen, četnost v jednotlivých měsících

Pozitivní výsledky u mužů a žen byly hodnoceny z testu microblotu. Pozitivita byla prokázána u 273 mužů a 224 žen. To znamená, že celkově bylo pozitivních mužů o 5 % více než pozitivních žen.

Graf 10: Porovnání pozitivních mužů a žen metodou Microblot-array

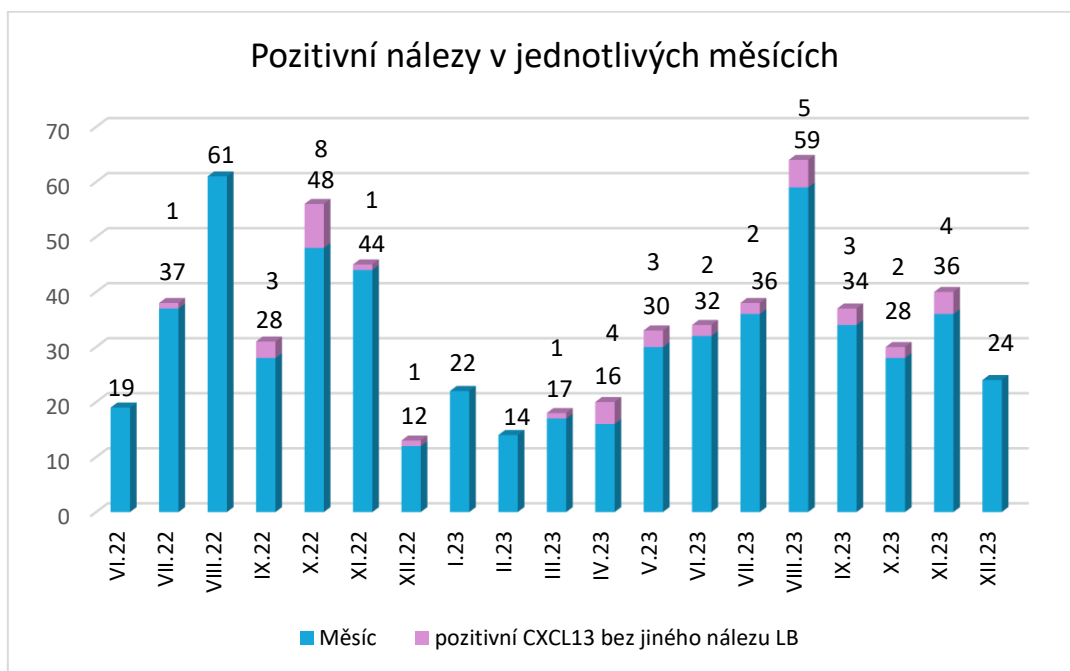


Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

V následujícím grafu jsou znázorněny pozitivní výsledky mužů i žen v jednotlivých měsících. Největší počet testů byl zaznamenán v osmém měsíci roku 2022 i 2023. Nejméně pozitivních bylo zaznamenáno v prosinci roku 2022. Skoro v každém měsíci registrujeme

pacienty s pozitivním nálezem chemokinu CXCL13, ale ostatní vyšetření potvrzující LB jsou negativní.

Graf 11: Znázornění pozitivních vzorků v jednotlivých měsících



Zdroj: Vlastní zpracování dat získaných z FN Plzeň

DISKUZE

Diagnostika lymfské boreliózy může být pro ošetřujícího lékaře velmi náročná. Jak už bylo řečeno, lymfská borelióza je multisystémové onemocnění způsobené spirochétou *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Borelie pronikají do těla člověka přes **klíšťata**, která také infikují. Následně se dostávají do krevního oběhu člověka, kterým se mohou dostat do jakékoliv části těla a zde působit potíže. Projevy onemocnění jsou tak u jednotlivců velmi různorodé, a proto je nesnadné boreliózu zpočátku klinicky diagnostikovat. Laboratorní průkaz je tedy nutný.

Diagnostika se opírá hlavně o metody nepřímé, jelikož jsou méně nákladné a mohou být automatizované. Tím nám nastává problém, jelikož nepřímými metodami se stanovují protilátky proti boreliím, které se začínají tvořit ve druhém až čtvrtém týdnu po napadení klíštětem, jak uvádí Bartůněk (Bartůněk 2006 s. 44). Je proto vhodné testovat pacienty až po určité době, popřípadě testy raději pro potvrzení či vyvrácení nákazy zopakovat. Jediným klinickým přímým důkazem nákazy LB je přítomnost erythema migrans na těle pacienta. V tomto případě by měl lékař ihned nasadit antibiotickou léčbu.

Mezi základní metody diagnostikující lymfskou boreliózu patří metoda **EIA** a Westernblot (v našem případě **microblot-array**). Obě metody testují protilátky ve dvou třídách: IgM a IgG. Metoda EIA je využívána jako screeningová metoda pro všechny typy vzorků a metoda microblot-array jako „potvrzovací“. Všechny vzorky s hraničními nebo pozitivními hodnotami změřené metodou EIA jsou ověřeny metodou microblot-array. Tato metoda je citlivější a u hraničních vzorků rozhodne, zda je pacient opravdu pozitivní či nikoliv. Pozitivní vzorky, jsou tímto dvakrát potvrzeny na přítomnost lymfské boreliózy.

Biologický materiál pro diagnostiku lymfské boreliózy zahrnuje hlavně krevní sérum, mozkomíšni mok a punktát. **Krevní sérum** je nejčastěji odebíraný materiál. Klasický odběr krve, ze kterého je následně získáno krevní sérum není pro pacienta většinou nikterak náročný, a proto je sérum využíváno nejčastěji. **Mozkomíšni mok** je odebírán pacientovi nejčastěji lumbální punkcí v oblasti 4. a 5. bederního obratle nebo 3. a 4. bederního obratle v sedě či v leže. Po odebrání musí pacient minimálně 3-24 hodin ležet na lůžku (3 hodiny při použití atraumatické jehly nebo 24 hodin při použití jehly klasické). Zkumavka s MM je po odběru dopravena do laboratoře co nejrychleji. Jelikož se jedná o obtížný odběr materiálu je nepřijatelné, aby došlo k jeho poškození či ztrátě. **Punktát** je nejméně odebíraný materiál pro diagnostiku LB.

Při podezření na **neuroboreliózu** je využíváno vyšetření **Chemokinu CXCL13** a metoda **Antibody index**. Při podezření na akutní neuroboreliózu je využíván právě CXCL13. Chemokin při podezření na neuroboreliózu předchází diagnostiku pomocí protilátek, jelikož jsou jeho hodnoty vysoké daleko dříve, než se protilátky v těle vytvoří. Zároveň po podání antibiotik pacientovi se hodnota chemokinů snižuje. Vyšetření CXCL13 je poměrně nová metoda, a tak by se dalo předpokládat, že nebude mnoho vzorků na toto vyšetření. Není tomu tak, jelikož je chemokin využíván i pro zhodnocení procesů (hlavně migraci B-lymfocytů) v mozku. Je proto stanovován i při podezření na jiné neurologické problémy. Metoda je založena na principu sendvičové ELISY, kterou lze provádět jak automaticky, tak ručně. Pokud laboratoř nemá finance na koupi analyzátoru, zvolí ruční metodu a je schopna chemokin stanovovat. Moje data pro bakalářskou práci byla získána z analyzátoru Vidimat. **Antibody index** má podobné využití jako chemokin. Účelem testu je prokázání nebo vyvrácení intratekální syntézy specifických protilátek v mozkomíšním moku. Je porovnáván stav hematolymphatické bariéry ve vztahu k protilátkám v krevním séru a mozkomíšním moku. Pro výpočet AI je nutné znát hodnoty albuminu a protilátek v séru a MM. Kvůli tomu můžeme provést výpočet AI jen u pacientů z FN Plzeň (či jiné nemocnice odkud jsou data získána), jelikož potřebné hodnoty musíme najít v nemocničním systému. Je také nutné brát v úvahu imunologickou reaktivitu organismu pacienta na boreliové antigeny a hladiny protilátek v MM. Tudíž při negativním výsledku není 100 % prokázáno, že pacient nemá neuroboreliózu.

Dalším problémem při diagnostice může být **zkřížená reaktivita** mezi patogeny. Zde můžeme uvést například bakterie *Treponema pallidum* nebo virus Ebsteina–Barrové vykazující falešně pozitivní výsledky. Falešně pozitivní výsledky se dají převážně eliminovat díky metodě Westernblotu, která v diagnostice využívá jednotlivé antigeny specifické pro každého patogena. Naopak falešně negativní výsledky mohou být způsobeny typem borelie, která se typicky nevyskytuje v daném území. Laboranti tudíž nemají v základním testovacím setu antigeny na tuto konkrétní borelii. Výsledek testu pacienta bude tudíž negativní i přes přítomnou nákazu borelií.

Zhodnocení výsledků výzkumu

Výzkumná otázka č.1: zastoupení testovaných mužů a žen bylo velmi srovnatelné. Celkový počet testovaných žen byl o 2 % vyšší než počet testovaných mužů, což je velmi malý rozdíl, a proto není třeba dělat velké závěry, zda klíšťata napadají více muže či ženy.

Naopak při zkoumání pozitivních mužů a žen bylo pozitivních mužů o 5 % více, než pozitivních žen.

Výzkumná otázka č. 2: Počet testů krevního séra činil celkem 823 vzorků pro každou třídu. Ve třídě IgG bylo pozitivních pacientů více než ve třídě IgM. Při porovnání pozitivních a hraničních vzorků metodou EIA, bylo citlivější metodou microblotu potvrzeno 189 z 268 vzorků v linii IgM a ve třídě IgG 212 ze 438. Vyšetření mozkomíšního moku mělo také vysoký počet vzorků. Bylo otestováno celkem 657 pacientů v obou třídách. Ve třídě IgM bylo pozitivních nebo hraničních pouze 21 a ve třídě IgG 84. Metodou microblotu bylo potvrzeno 17 z 22 ve třídě IgM a pouze 34 z 84 ve třídě IgG. Jak už bylo řečeno, punktát je nejméně odebíraný biologický materiál. Vzorků pro vyšetření bylo odebráno pouze 58 pro každou linii. V linii IgM byla necelá polovina pozitivní nebo hraniční a v linii IgG více než polovina vzorků. Při potvrzení bylo skutečně pozitivních pacientů v linii IgM 14 z 23 a v linii IgG 10 ze 32.

Výzkumná otázka č.3: Stanovení Chemokinu CXCL13 se využívá nejen pro diagnostiku neuroboreliózy, ale i při podezření na jiné poruchy v oblasti mozku. Za poslední rok a půl, od kdy se vyšetření chemokinu ve FN Plzeň praktikuje, bylo otestováno celkem 642 pacientů. Z toho jich bylo pozitivních pouze 67. Neuroborelióza není u člověka tak častá a současně pro poruchy mozku jsou užívány i jiné metody, není proto divu, že máme nízké hodnoty pozitivních vzorků. Metoda antibody index nám prokazuje nebo vyvrací intratekální syntézu imunoglobulinů a poruchy hematolikvorové bariéry V mém testovaném souboru bylo provedeno celkem 7 testů AI ve třídě IgM a 46 ve třídě IgG. Všechny vzorky ve třídě IgM byly pozitivní nebo hraniční a ve třídě IgG celkem 38 vzorků ze 46. Těmito výsledky by se mohlo zdát, že je metoda účinná. Bohužel jak už bylo řečeno, výsledek pacientova AI může být spočítán pouze, jsou-li známé hodnoty albuminu a bílkovin v séru a MM, které se musejí porovnat s klinickou anamnézou pacienta.

Výzkumná otázka č.4: Nejvíce pozitivních testů bylo zaznamenáno v srpnu 2022, kdy je nejvyšší sezónní výskyt klíšťat. Nejméně pozitivních testů bylo v prosinci 2022. Toto tvrzení je velmi pravděpodobné, jelikož se klíšťata v zimních měsících moc nevyskytují. Domnívám se tedy, že šlo o infekci klíštětem v dřívějších měsících a pacient byl otestován později.

ZÁVĚR

Klinická diagnostika lymfské boreliózy je pro ošetřujícího lékaře velmi náročná vzhledem k možné široké škále klinických příznaků, které nejsou vždy typické nebo se nevyskytují v celé možné šíři. Při podezření na toto onemocnění je tedy vždy nutný laboratorní průkaz. Diagnostika se opírá hlavně o metody nepřímé. Spektrum používaných metod se neustále rozšiřuje tak, aby laboratoř mohla dodat ošetřujícím lékařům co možná nejpravdivější zprávu o momentálním stavu imunitního systému ve vztahu k lymfské borelióze.

Mezi základní metody diagnostikující lymfskou boreliózu patří metoda EIA a Westernblot (microblot-array). Obě metody detekují protilátky ve dvou třídách: IgM a IgG. Metoda EIA je využívána jako screeningová metoda, metoda microblotu zjištěné výsledky potvrdí nebo naopak vyvrátí. Vyšetřovat lze krevní sérum, mozkomíšni mok a punktát. Při podezření na neuroboreliózu je využíváno vyšetření chemokinu CXCL13 a metoda antibody index. Účelem testu je prokázání nebo vyvrácení intratekální syntézy specifických protilátek v mozkomíšním moku.

V našem výzkumu nebyl prokázán rozdíl v celkovém počtu vyšetřených mužů a žen, pozitivita byla mírně zvýšená ve prospěch mužů.

Byla potvrzena správnost laboratorní strategie – vyšetřování sér nejprve metodami EIA a následná kontrola pomocí microblotu. Dle očekávání tato citlivější metoda některé pozitivní vzorky v EIA nepotvrdila.

Neuroborelióza je pravděpodobně jedna z nejzávažnějších komplikací tohoto onemocnění. Proto je každá nově zavedená metoda přínosem k její diagnostice a pomocníkem pro určení definitivní diagnózy. I když je náročná na interpretaci a vyžaduje velké zkušenosti.

I naše práce potvrdila známý fakt, že toto onemocnění má sezónní charakter a kopíruje s mírným zpožděním aktivitu přenašeče v přírodě.

Lymfská borelióza je od svého popisu jedno z nejvíce sledovaných onemocnění nejen v ČR, ale i celosvětově. Stále se objevují nové laboratorní metody ke zpřesnění diagnostiky a usnadnění rozvahy kliniků v konečné diagnóze. K veškeré této činnosti je vždy potřeba přítomnost odborníků schopných interpretovat laboratorní výsledky a klinické nálezy a samozřejmě navzájem komunikovat.

BIBLIOGRAFIE

1. **BARTŮNĚK, Petr a kol.** *Lymeská borelióza*. [Online kniha] 3. doplněné a přepracované vydání, Praha : Grada publishing, 2006. 8024715430.
2. **BARTŮNĚK, Petr et al.** *Lymeská borelióza*. 4. přepracované a doplněné vydání. Praha : Grada, 2013. str. 168. 9788024743554.
3. **BENEŠ, Jiří et. al.** *Infekční lékařství*. Praha : Galén, 2009. str. 651. 978807262.
4. **SEDLÁK, Kamil Tomšíčková Markéta.** *Nebezpečné infekce zvířat a člověka*. Praha : Scientia, 2006. 8086960072.
5. **Státní zdravotní ústav.** *Lymeská borelióza*. [Online] <https://szu.cz/temata-zdravi-a-bezpecnosti/a-z-infekce/l/lymeska-borrelioza/>.
6. **BOJAR, Martin.** *Neuroborelióza-současné názory na patogenezi, diagnostiku a léčbu*. Interní medicína pro praxi. 2002, 4, stránky 154-160. <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2002/04/02.pdf>
7. **KIMMING, Petr, Rüdiger Braun, Dieter Hassler.** *Klíšťata: Nepatrné kousnutí s neblahými následky*. Praha : Pragma, 2003. str. 114. 9072058819.
8. **SCHINDLER, Jiří.** *Mikrobiologie pro studentky zdravotnických oborů*. 2.doplněné a přepracované vydání. Praha : Grada Publishing, 2014. 9788024747712.
9. **MURRAY, Patrick R. ROSENTHALER Ken S., PFALLER Michael A.** *Medical microbiology*. 8th Edition. 2013. str. 943. 97880323299565.
10. **KOLÁŘOVÁ, Libuše et. al.** *Obecná a klinická mikrobiologie*. 1. Praha : Galén, 2020. str. 441. 9788074924774.
11. **ROHÁČOVÁ, Hana.** *Lymeská borelióza*. Interní medicína pro praxi. 2012, Sv. 14, 5., stránky 203-205. <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2012/05/04.pdf>
12. **LACINA, Lukáš ,KOJANOVÁ Martina, KUKLOVÁ Ivana, ŠTORK Jiří.** *Kožní projevy boreliózy*. 2011, 1., stránky 12-17. <https://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2011/01/03.pdf>

13. **VOTAVA, Miroslav et al.** *Lékařská mikrobiologie*. 1.vydání. místo neznámé : Neptun, 2010. str. 495. 9788086850048.
14. **ROZSÍVAL, Pavel et. al.** *Oční lékařství*. Praha : Galén, 2006. str. 373. 8072624040.
15. **TREVISAN, G. et al.** Case report: *Lyme borreliosis and pregnancy-out experience*. PubMedCentral 2022.<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8996379/>.
16. **SMÍŠKOVÁ, Dita, Pícha Dušan.** *Diagnostika a léčba lymeské borreliózy*. *Medicína pro praxi*.2017,Sv.14,2,stránky77-80 <https://www.solen.cz/pdfs/med/2017/02/06.pdf>
17. **KRBKOVÁ, Lenka.** *Lymeská Borrelióza*. *Medicína pro praxi*. 2007, 5, stránky 200-203. <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2007/05/03.pdf>
18. **Pícha, D. Moravcová L., Smíšková D.** *Rychlá diagnostika chemokinu CXCL13 v mozkomíšním moku u pacientů s neuroboreliózou*. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*. 82, 2019, Sv. 2, 1, stránky 215-218. <https://www.csnn.eu/casopisy/ceska-slovenska-neurologie/2019-2-3/rychla-dia-gnostika-chemokinu-cxcl13-v-mozkomisnim-moku-u-pacientu-s-neuroboreliozou-109350>
19. **Informační web, Borelioza.cz. Borelioza.cz.** [Online] <https://www.borelioza.cz/>.
20. **TestLine Clinical Diagnosis, s.r.o.** *Návod pro použití: TestLine EIA Borrelia recombinant IgM*. Dostupné: file:///C:/Users/asus/Downloads/BOR_EIA_IgM.pdf
21. **TestLine Clinical Diagnosis, s.r.o.***Návod pro použití: TestLine EIA Borrelia recombinant IgG*. Dostupné: file:///C:/Users/asus/Downloads/BOR_EIA_IgG.pdf
22. **TestLine Clinical Diagnosis, s.r.o.** *Návod pro použití: TestLine Microblot-Array Borrelia IgM*. Dostupné: file:///C:/Users/asus/Downloads/BOR_MBA_IgM.pdf
23. **TestLine Clinical Diagnosis, s.r.o.** *Návod pro použití: TestLine Microblot-Array Borrelia IgG*. Dostupné: file:///C:/Users/asus/Downloads/BOR_MBA_IgG.pdf
24. **TestLine Clinical Diagnosis, s.r.o** *Návod pro použití: TestLine Antibody index*. Dostupné:file:///C:/Users/asus/Downloads/Antibody%20Index_n%C3%A1vod%20pou%C5%BEit%C3%AD%20SW.pdf
25. *Návod pro použití: MONO-VIDITEST CXCL13*
file:///C:/Users/asus/Downloads/CXCL13.pdf

SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1 – Povolení sběru informací ve FN Plzeň

PŘÍLOHY

Příloha 1 – Povolení sběru informací ve FN Plzeň



Vážená paní
Štěpánka Slívová
Studentka oboru Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví
Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví
Západočeská univerzita v Plzni

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF Fakultní nemocnice Plzeň **uděluji souhlas** se získáváním / zpracováním anonymizovaných informací o laboratorních metodách / analýzách / výsledcích těchto metod, včetně jejich statistického zpracování, používaných na pracovišti Ústavu mikrobiologie (MIKRO) FN Plzeň. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „Lymfská borelióza a možnosti její laboratorní diagnostiky“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborantka MIKRO souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.** o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, pokud budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe na MIKRO, **pod přímým vedením** oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je pan **RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D., přednosta MIKRO FN Plzeň**.

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

Mgr. Bc. Světluše Chabrová
Manažerka pro vzdělávání nelekářů
Útvar náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF

Fakultní nemocnice Plzeň
Edvarda Beneše 1128/13, 301 00 Plzeň
Tel: 377 401 663
E-mail: chabrovaa@fnplzen.cz

12. 9. 2023