



Farkında mıyız?

Lyme:

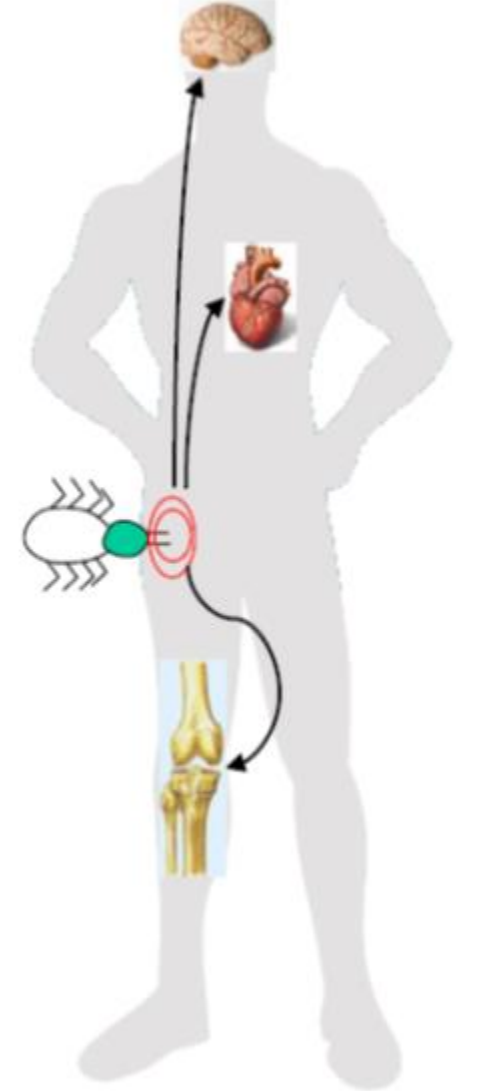
Tanı

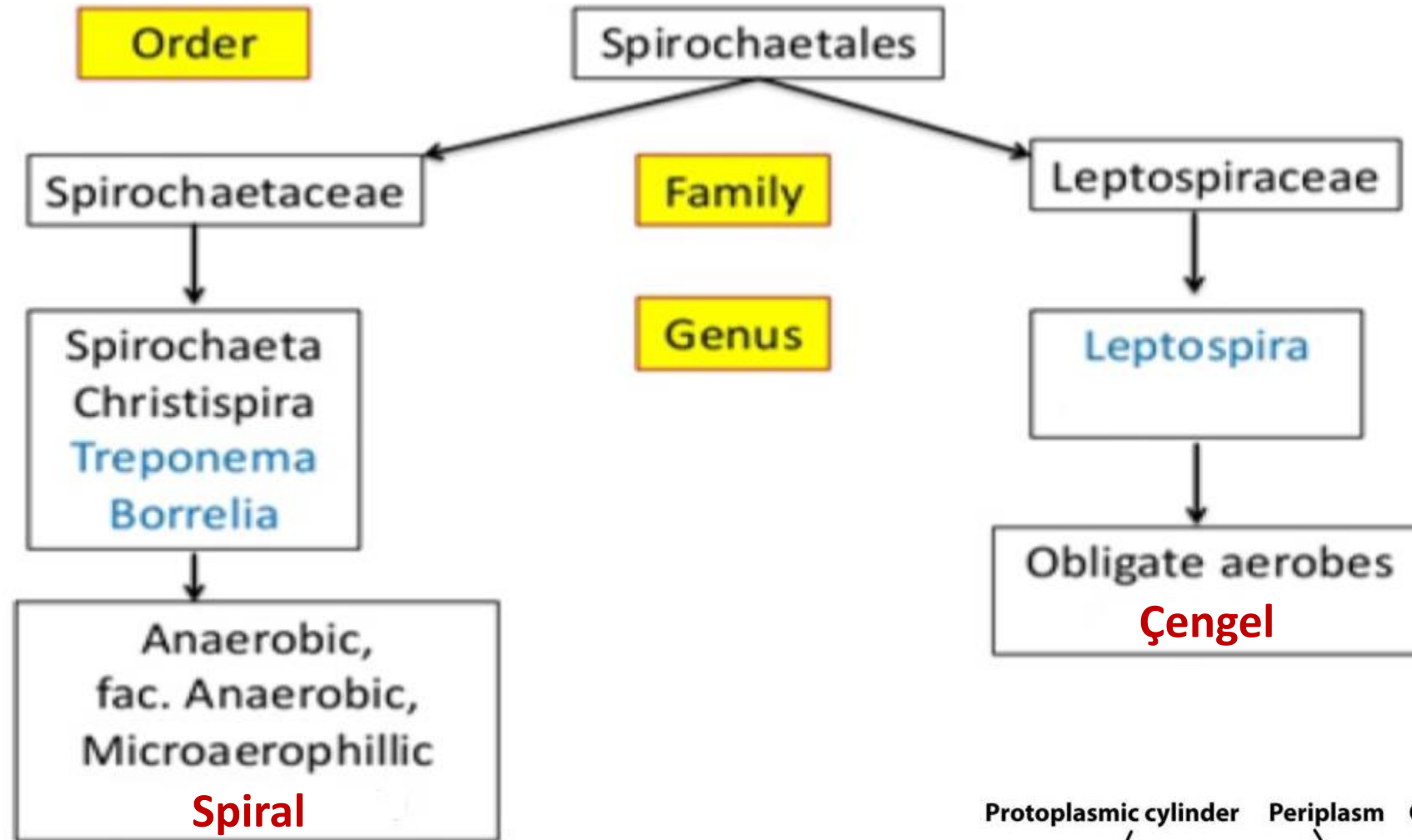
Prof. Dr. Selçuk KILIÇ

T.C. Sağlık Bakanlığı,

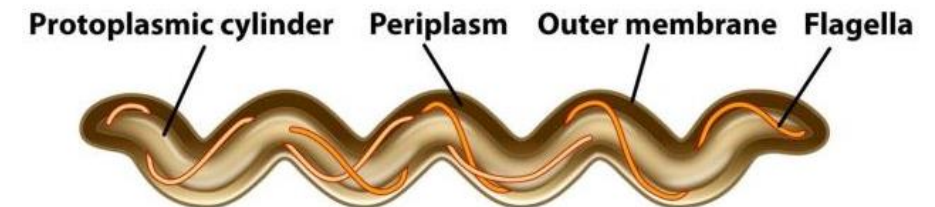
Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü,

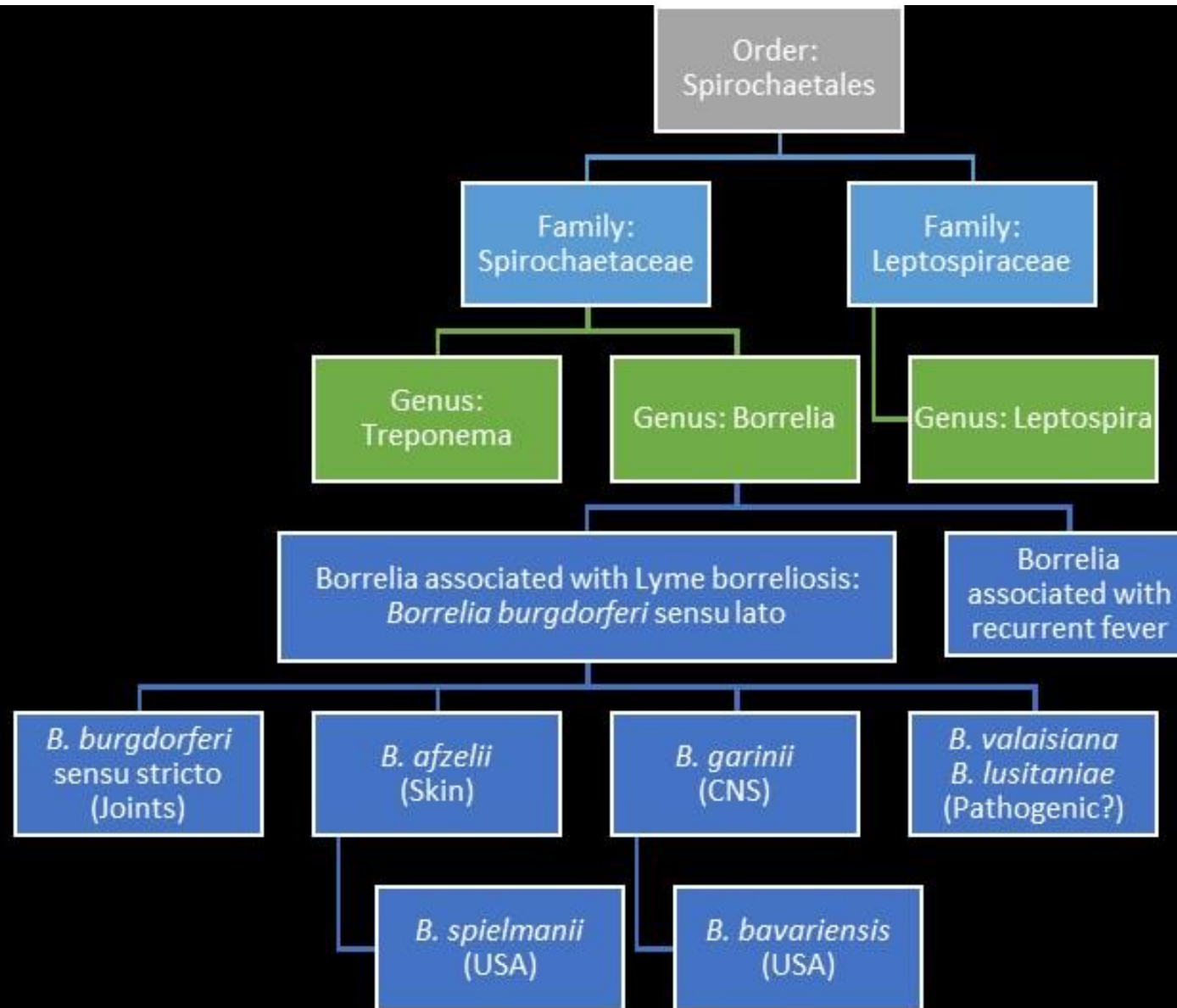
**Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik
Ürünler Dairesi Başkanlığı**





Treponema, Borrelia ve Leptospira İnsan patojeni

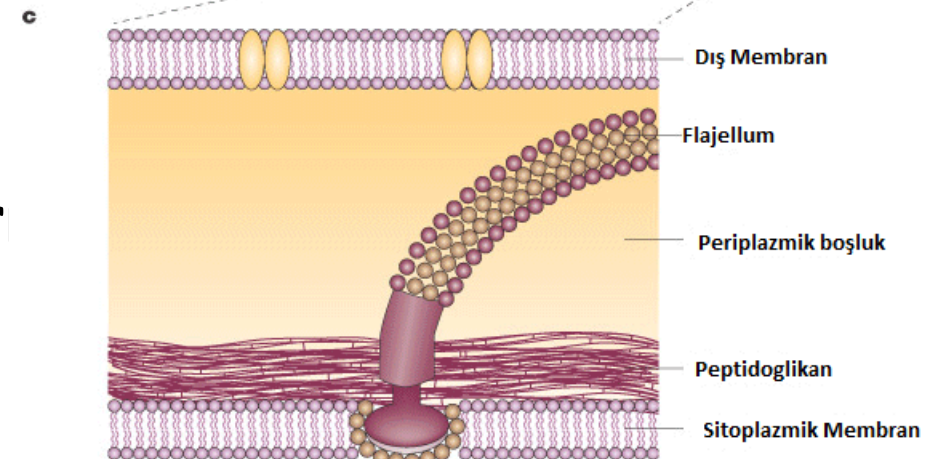
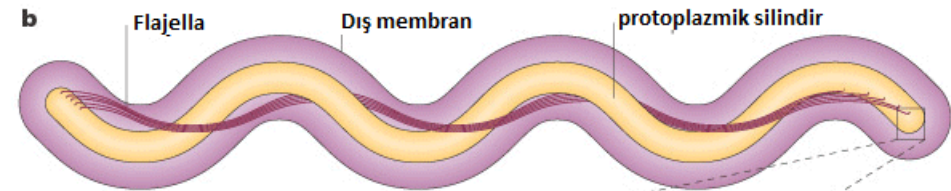
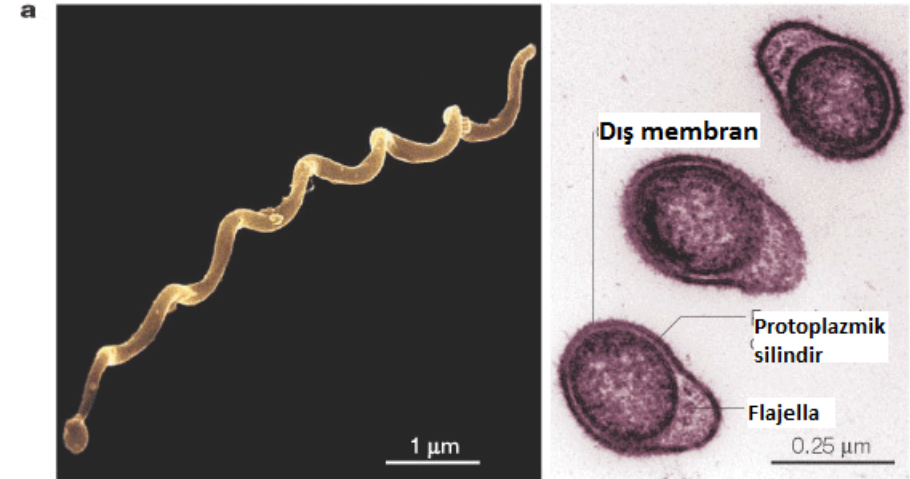






Borrelia burgdorferi

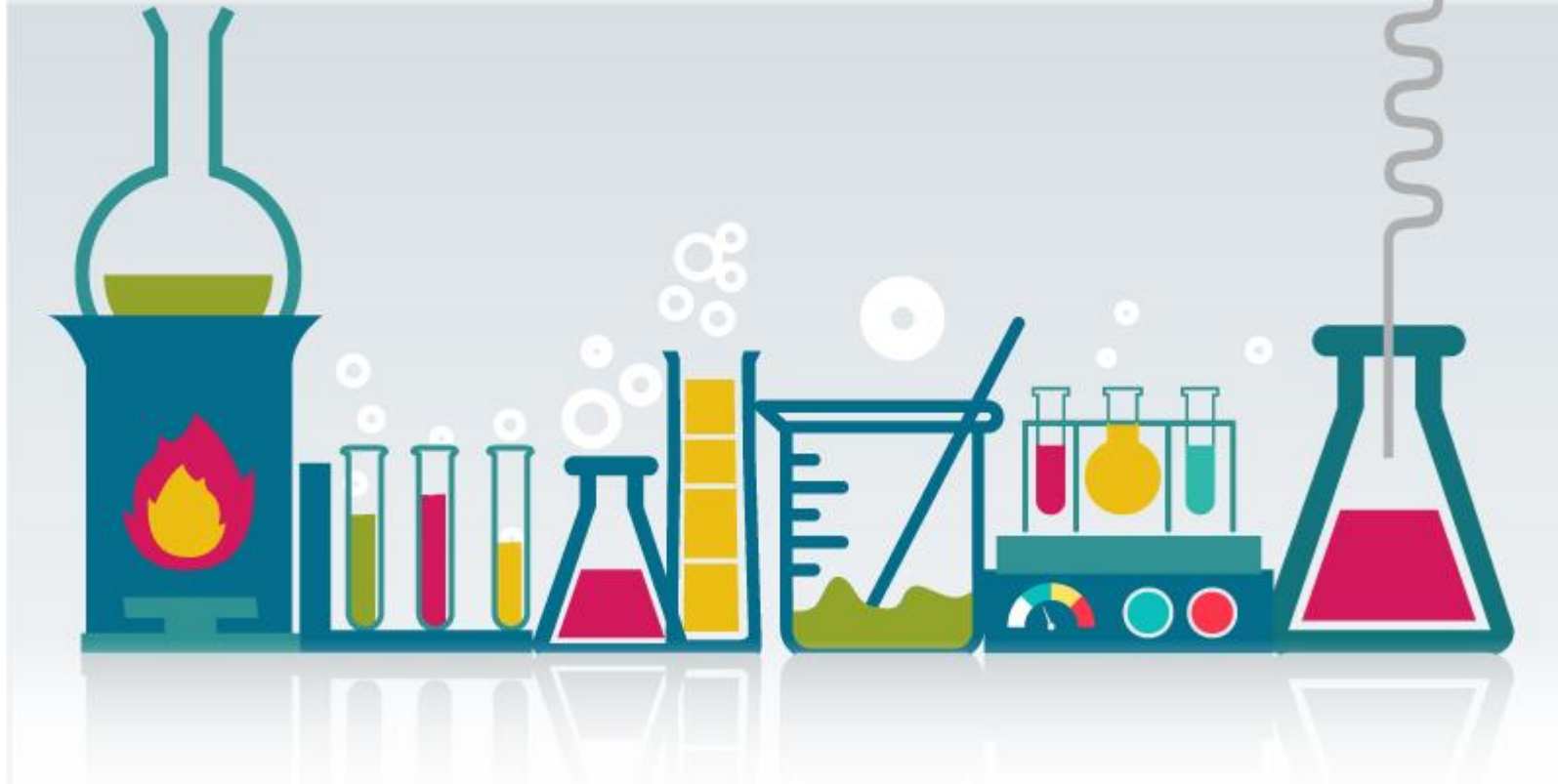
- Gram Negatif,
- 0.2-0.5 μm X 3-30 μm boyutunda,
- Anaerob ve mikraerofil.
- Hücre;
 - i. Protoplazmik silindir,
 - ii. Sitoplazmik membran
 - iii. Gevşek ve çok katlı bir hücre duvar yapısı





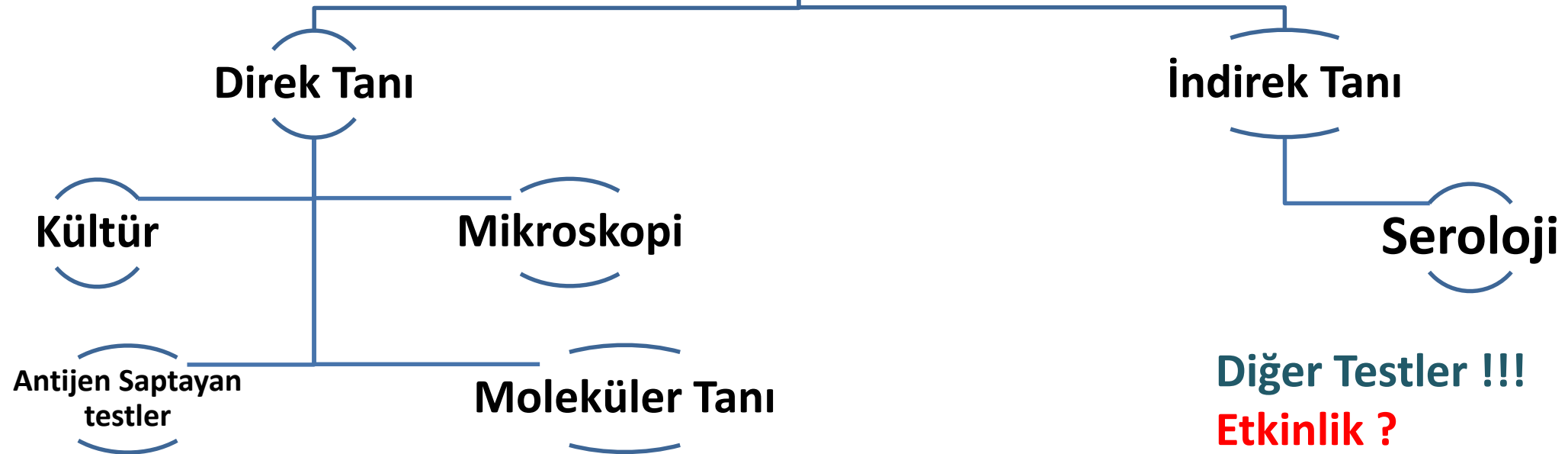
LYME DISEASE DIAGNOSIS

- WHAT LAB TESTS YOU CAN EXPECT -





Mikrobiyolojik Tanı



Diğer Testler !!!

Etkinlik ?

- Antijen Saptama
- İmmünolojik göstergeler
 - CD57- NK cells
 - Elispot

Nonspesifik laboratuvar bulguları: Sedimentasyon, ALT, AST, üre ve kreatinin artışı



Lyme Hastalığı: Standart Vaka Tanımı

KLİNİK TANIMLAMA:

bu kısımda kişide hangi semptom ve bulgular varsa Lyme Borreliyozu akla getirilmelidir? Sorusu yanıtlanır...

TANI İÇİN LABORATUVAR KRİTERLERİ:

- Klinik örneklerden *B. burgdoferi* izolasyonu
 - İki aşamalı test yaklaşımı: İlk aşamada serum ve BOS örneklerinde etkene karşı gelişen özgül antikorların ELISA veya IFA yöntemiyle taranması ve sınır veya pozitif olarak bulunan sonuçların immünblot yöntemiyle doğrulanmasını içerir.
 - Semptomlar başladıktan sonraki ilk 30 gün içinde IgM pozitifliğinin saptanması
 - Hastalığın herhangi bir aşamasında IgG pozitifliğinin saptanması
 - BOS'ta *B. burgdoferi* sensu lato'ya karşı gelişen antikorların ELISA veya IFA ile gösterilmesi ve BOS'daki antikorun serumdan daha yüksek saptanması
 - İmmunblot doğrulama testi ile BOS'da IgG pozitifliği saptanması
- [NOT: PCR gibi tanı yöntemleri vakanın özelliğine göre değerlendirilir.]

VAKA SINIFLAMASI:

- Şüpheli Vaka: Tanımlanmamıştır
- Olası Vaka:
 - Klinik tanımlamaya uyan ve epidemiyolojik kriterleri karşılayan vaka
 - Laboratuvar tanı kriteri olan ancak uygun klinik bulguları olmayan vaka
- Kesin Vaka: Aşağıdakilerden en az birinin olması
 - Bilinen maruz kalma öyküsü ve EM'si olan vaka,
 - Bilinen maruz kalma öyküsü ve laboratuvar tanı kriteri bulunan ve EM'si olan vaka,
 - En az bir kez geç klinik belirti gösteren ve laboratuvarda en az bir yöntemle doğrulanmış olan vaka



Evre	Klinik Belirti	Örnek	
		Kültür, PCR	Antikor Araştırılması
Evre I: Erken lokalize Lyme - kene temasından günler-haftalar sonra	EM	Deri biyopsisi	Serum
Evre II: Erken yaygın Lyme - Kene temasından haftalar-aylar sonra	Multiple EM	Deri biyopsisi	Serum
	Borreliyal lenfositoma	Deri biyopsisi	Serum
	Lyme karditi	Endomiyokardiyal biyopsi	Serum
	Nöroborreliyo	BOS	Serum ve BOS*
Evre III: Geç, devam eden Lyme - Kene temasından aylar-yıllar sonra	Atrit	Sinoviyal sıvı/biyopsi	Serum
	ACA	Deri biyopsisi	Serum
	Kronik Nöroborreliyo	BOS	Serum ve BOS*



KLİNİK YARARI GÖSTERİLEMEMİŞ TESTLER

- Hücre Çoğalma testleri (cell proliferation assays),
- Enzyme-Linked ImmunoSpot (ELISPOT) assays,
- Sitokin ölçümü,
- Spirofind test (Aktive monositlerden IL 1 β salınım testi)
- Kompleman yıkım ürünleri,
- Lenfosit transformasyon ve aktivasyon testleri (LTT, MELISA)
- Natural killer cell measurements (Kantitatif CD57- CD57+/CD3 lenfosit subpopülasyondaki azalmasının gösterilmesi)
- Visual Contrast Sensitivity (VCS) Test-B.b tarafından üretildiği öngörülen lifofilik nörotoksine bağlı gri gölgelenme belirtisinin aranması)

**Güvenilir, yeterli çalışma veya veri
eksikliği**

MMWR, 2014;63:333

Johnson BJ, Pilgard MA, Russell TM. J Clin Microbiol 2014;52:721–4.

MMWR, CDC Surveillance Summary, 2005;54:125.

Marques A, Brown MR, Fleisher TA. Clin Vaccine Immunol 2009;16:1249–1250.



YANLIŞ UYGULANAN TESTLER

- İdrarda ELISA ile Antijen aranması
- Hücre duvarı eksik veya kistik formdaki bakteriye cell sorting, kültür ve IFA uygulanması
- “Reverse Western blots”
- İmmünblot tekniğinde in-house değerlendirme kriterleri
- Sinovyal mayide antikor ölçümü
- ELISA/EIA/IFA olmadan blot kullanılması

MMWR, 2014;63:333

Johnson BJ, Pilgard MA, Russell TM. J Clin Microbiol 2014;52:721–4.

MMWR, CDC Surveillance Summary, 2005;54:125.

Marques A, Brown MR, Fleisher TA. Clin Vaccine Immunol 2009;16:1249–1250.



DİREKT MİKROBİYOLOJİK TANI

Kültür



- Altın Standart
- 3-16 Hafta

Mikroskopik İnceleme



Direk Mikroskopi;

- Düşük duyarlılık: Çoğu klinik örnekte az sayıdaki spiroket nedeniyle
- *Tanı için Geçerli Kriterlerden değil*

Histopatolojik İnceleme;

- *Sınırlı* kullanım
- Sıklıkla borreliyal lenfositona ve ACA şüpheli olguların değerlendirilmesinde diğer hastalıklardan *ayırıcı tanıda yararlı*
- *Güç ve zaman alıcı*

Moleküler



- Hızlı (<120 dk)
- Kültüre *eşit veya yüksek* duyarlılık



Mikroskopik İnceleme

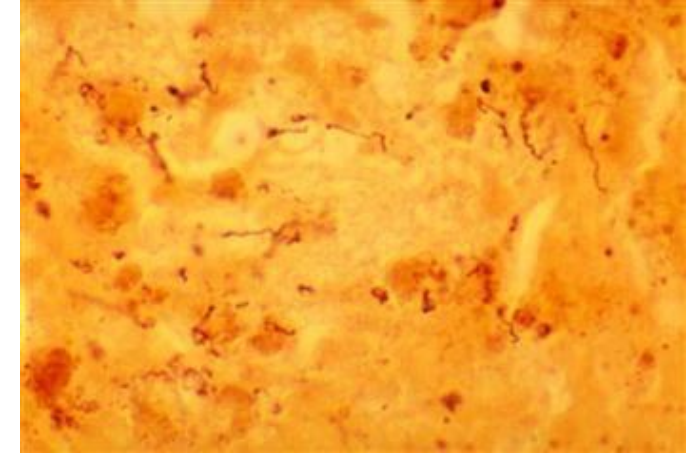
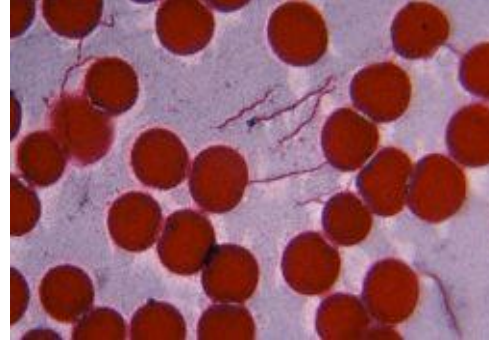
- Deri biyopsisi, kan ve BOS örnekleri.
- **Giemsa Boyama:** Kan ve BOS örnekleri
- **Faz Kontrast**
- **Warthin-Starry and modifiye Dieter Gümüşleme yöntemi:** Biyopsi örnekleri
- **Floresan Mikroskopi (DFA ve IIFA)**
- **Focus-floating mikroskopi**
- Spiroketlerin görülmesi durumunda;
 - ✓ spesifik **antiserumlarla** veya **DFA** yöntemiyle **doğrulanmalı**.
 - ✓ Klinik şüphe varsa kültür veya diğer serolojik testler **yapılmalı**.
- Duyarlılığı LB'nun her üç döneminde de **düşüktür**.

SPIROKETİN GÖRÜLMEMESİ TANIYI EKARTE ETTİRMEZ

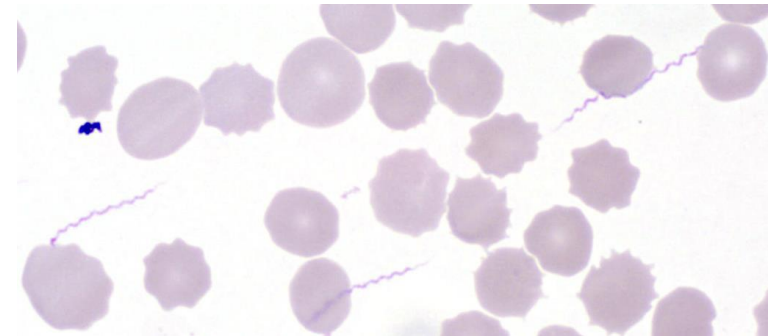
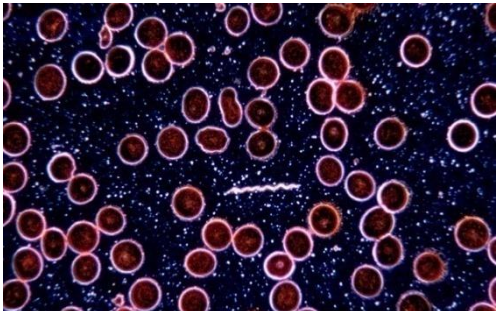


DİREKT MİKROBİYOLOJİK TANI

- Karbol fuksin,
- Giemsa ve Gümüş boyama,
- Faz kontrast,

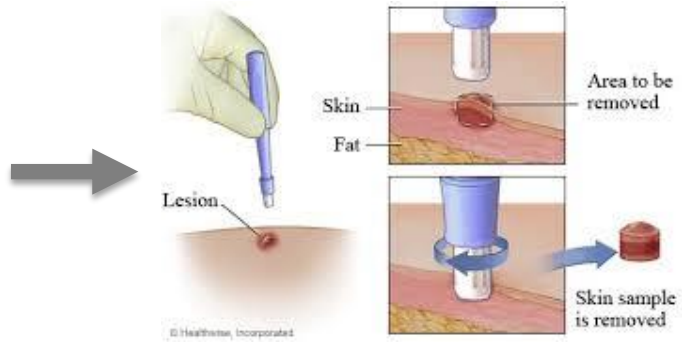


Karanlık alan



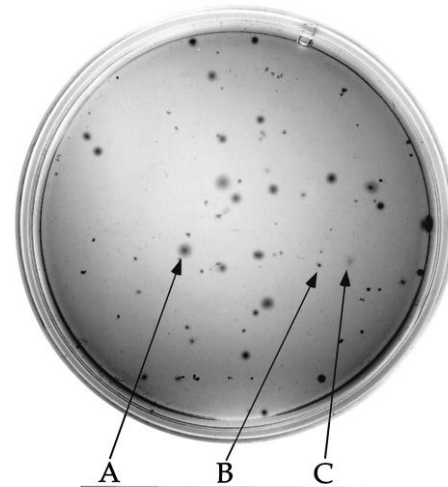


Kültür : “Altın standart”



BSK =Barbour-Stoenner-Kelly

- Serum eklenmiş memeli hücre dokusu içeren
- Tavşan serumu temelinde >13 bileşen
- Tek koloni düşürmek için % 1.3 agar içeren **Katı** besiyeri
- **Seçici besiyeri:** Neomisin, kanamisin, gentamisin, 5-fluorositozin, rifampisin
- Jenerasyon süresi: 7-24 saat (≈ 12 saat)



A
large,
diffuse,
early

B
small,
dense,
late

C
small,
irregular,
late

İnkübasyon

- 32-35°C'de mikraerofilik ortamda
- t= 10 gün-5 hafta

Duyarlılık oldukça değişken;

- Biyopsilerde az sayıda canlı bakteri varlığı
- Güç-yavaş üremesi nedeniyle
- Etken, lezyon sayısı, çapı ve alınma zamanı



Kültür: İzolasyon Oranını Etkileyen Faktörler

Etken → konak immün yanıtı

- B.afzelii*
- B.burgdorferi sensu stricto*

Hastalık evresi

- Erken ve erken yaygın hastalık
- Geç dönem (izolasyon oranı çok düşük)

Lezyona ait özellikler

- Erken dönem: Eri lezyon çapı, sayısı ve sistemik semptomların varlığı (çoklu lezyonda izolasyon oranı yüksek)
- Acrodermatitis chronica atrophicans (daha yüksek izolasyon oranı)

Numuneye ait özellikler

- Numune tipi (Biyopsi, kan, plazma, BOS, sinovyal mayi)
- Numune miktarı (biyopsi 2 veya 4 mm, plazma hacmi vs)



IN VITRO BSK KÜLTÜRÜ

Evre	Bulgu	Örnek Türü	İzolasyon (%)
I	Eritema migrans	Deri biyopsisi Kan	40-70*
II	Lenfositik meningoradikülonevrit	BOS, Kan	10
III	Artrit Kronik ensefalomiyelit Akrodermatitis kronikum atrofikans	Sinovyal mai, biyopsi, BOS Deri biyopsisi	50-70 10 50-70

* Tedavi almamış EM'li olgularda alınan deri biyosisinden izolasyon oranı %40-50



LB HASTALIĞI TANISINDA MOLEKÜLER YÖNTEMLER

- Genel olarak, PCR yönteminin deri ve kan numunelerindeki duyarlılığı kültüre benzer olsa da;
kullanılan yöntem, hedef bölge ve primer setlerine göre oldukça değişkenlik göstermektedir.
- Optimal kültür yöntemi uygulandığında;
 - özellikle plazma örneklerinde çok küçük hacimdeki numunenin işleme alınması sebebiyle PCR kültürden **daha düşük duyarlılığa** sahiptir.
- Temel kullanım yeri: **Lyme atriti**
- PCR pozitifliği aktif enfeksiyon anlamına gelmez.

Yeni Yöntemler;

- Broad-range PCR ve elektrospray iyonizasyon kütle spektrometresi



PCR YÖNTEMLERİNİN DUYARLILIĞI

Klinik örnek	Duyarlılık (%)
Deri (EM, AKA)	50-75
BOS (Akut nöroboreliyoz)	10-30*
Sinovyum sıvısı/membran (Lyme artriti) **	70-85
Vücut sıvıları (idrar, vb)	Çok düşük-Önerilmez#

* Akut LNB; Hastaların % 50'si: hastalığın başlangıcı ile iki hafta sonrası alınan sonuçlar. Serumda nadiren pozitiflik.

Hastaların % 13'ü: hastalığın iki haftadan sonraki döneminde alınan sonuçlar

** Sinovyum sıvısında PCR yüksek duyarlılıktadır, kültür ise nadiren pozitifdir. Snovyal membranda PCR pozitifliği daha yüksek

Çalışma sonuçları oldukça değişkeni rutin tanıda yeri yok.



Örnek	Çalışma Grubu	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
EM Deri biyopsisi	11	69 (35-81)	100
ACA Deri biyopsisi ^a	3	16,61,92	100
BOS	17	40 (5-100)	100 (93-100)
Snovyal mai ^a	3	36, 85, 85	100
Serum veya plazma	5 (6)	30 (15-100)	100 (95-100)
İdrar	14 (9)	42 (0-92)	97 (94-100)

van Dam AP. Molecular diagnosis of Borrelia bacteria for the diagnosis of Lyme disease. Expert Opin Med Diagn 2011;5:135e49.



PCR: Dezavantajlar

Genel bir konsensusun olmaması;

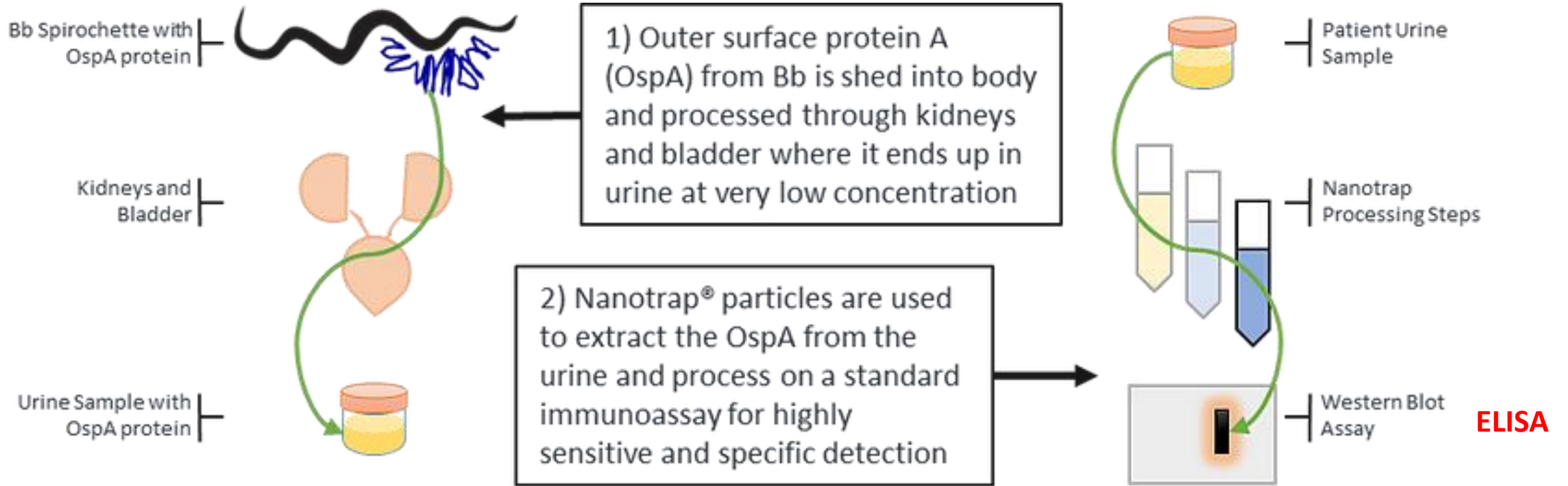
- En uygun genetik hedefler konusunda,
- Hastalığın bazı belirtilerinin varlığında pozitif sonuçların klinik önemi konusunda.

Yalancı Negatiflik;

- ✓ mutasyon (insersiyon, delesyon),
- ✓ Karışık enfeksiyon (çok sayıda bant; özgül olmayan prob),
- ✓ PCR inhibitörleri,
- ✓ Örneklerin yanlış alınması,
- ✓ Özgül olmayan problemler
- Avrupa'da geçici spiroketemi ve dokudan bakteri eldesinin zor olması → yalancı negatif
- PCR pozitifliği enfeksiyonun aktif olup olmadığını göstermemesi → Yorum !



Nanotrap[®] Lyme Antigen Test (Nanotrap[®] LA Test)



İdrar ile OspA atılımı;

EM ve artrit durumunda var olan aktif semptomlarla bağlantılı iken, tedaviden sonra semptomların düzelmesi ile OspA negatifleşmektedir.

Günümüzde antijen saptama yöntemleri (BOS'da OspA ve idrar) tanıda önerilmemektedir.



Serolojik Tanı: Avantajlar

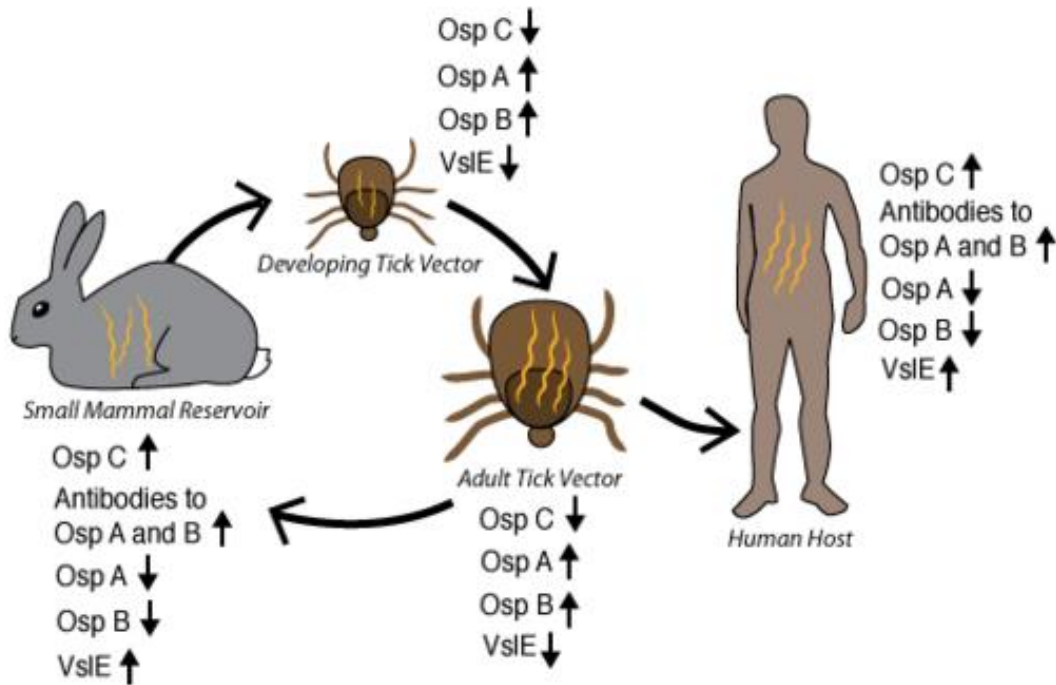
- Tanıyı desteklemek amacıyla genellikle **ilk** ve **en sık** kullanılan yöntem.
- Örnek alması daha kolay,
- Laboratuvar test kapasitesi daha yaygın,
- Uyumsuz sonuçlara rağmen, kabul edilebilir “**duyarlılık ve özgüllük**”

Güçlükler

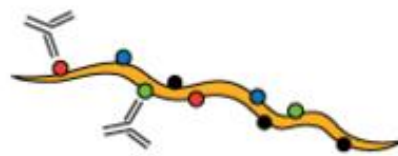
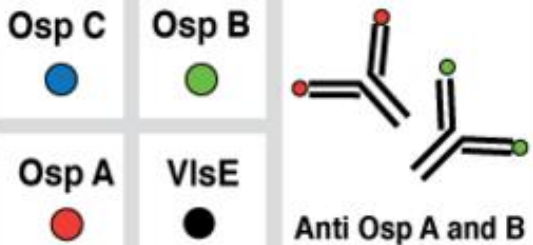
Farklı antijenik yapılar



Abundance of Highlighted Proteins Over *Borrelia* Life Cycle



The Five Highlighted Proteins

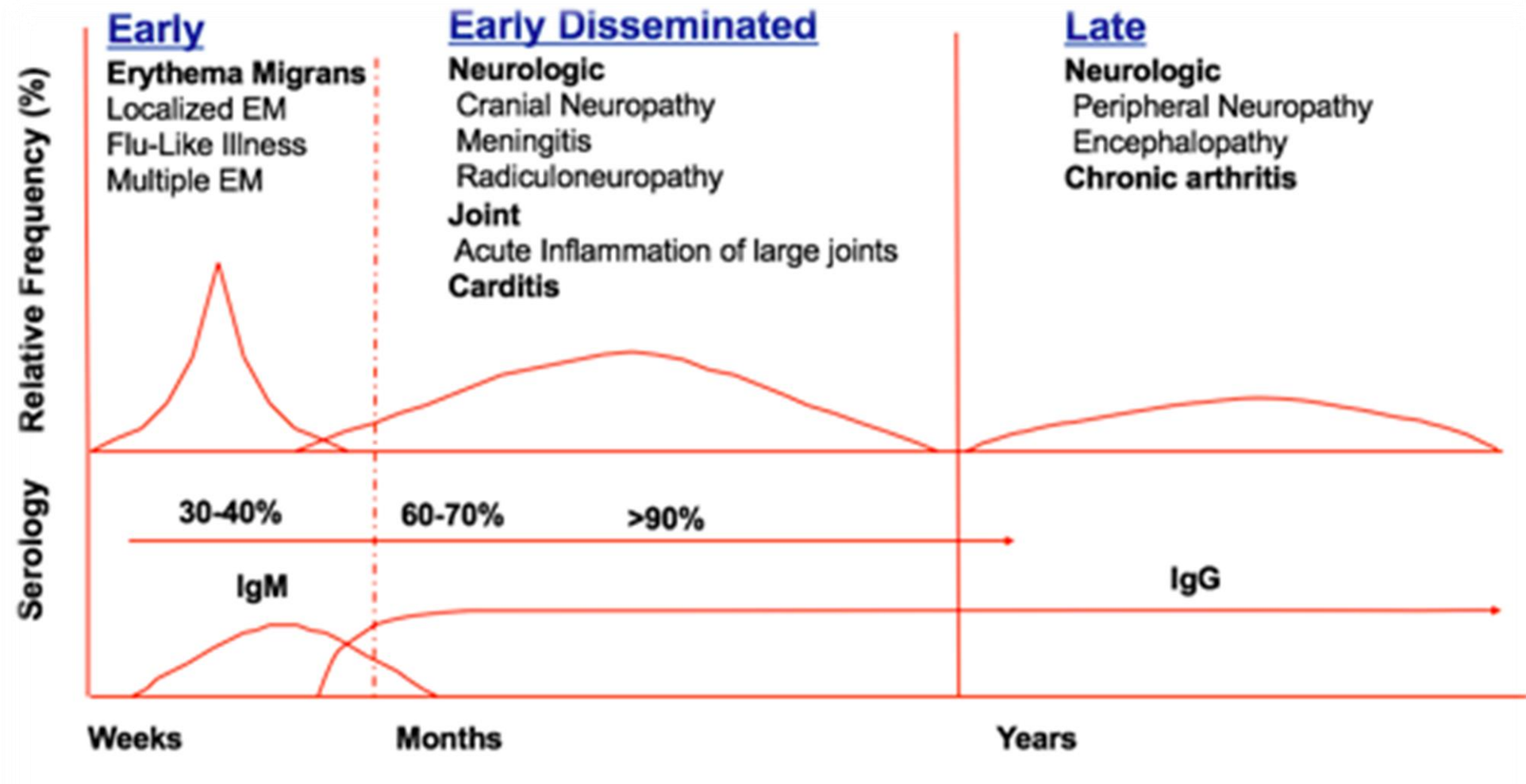


Borrelia spirochete with outer membrane outer-surface lipoproteins (Osps) A (red), B (green), C (blue), and VlsE (black). Mammalian antibodies to A and B shown.

Antijen

Özellik

p100	Protoplasma associated protein
VlsE	Variable major protein (VMP) sequence Expressed, surface protein
p58	Oligopeptide permease
p41	Flagellin
p39	Borrelia membrane protein A (BmpA)
OspA	Outer surface protein A
OspC	Outer surface protein C
p18	Synonyme: Decorin binding protein A (=DbpA), Osp17, surface protein

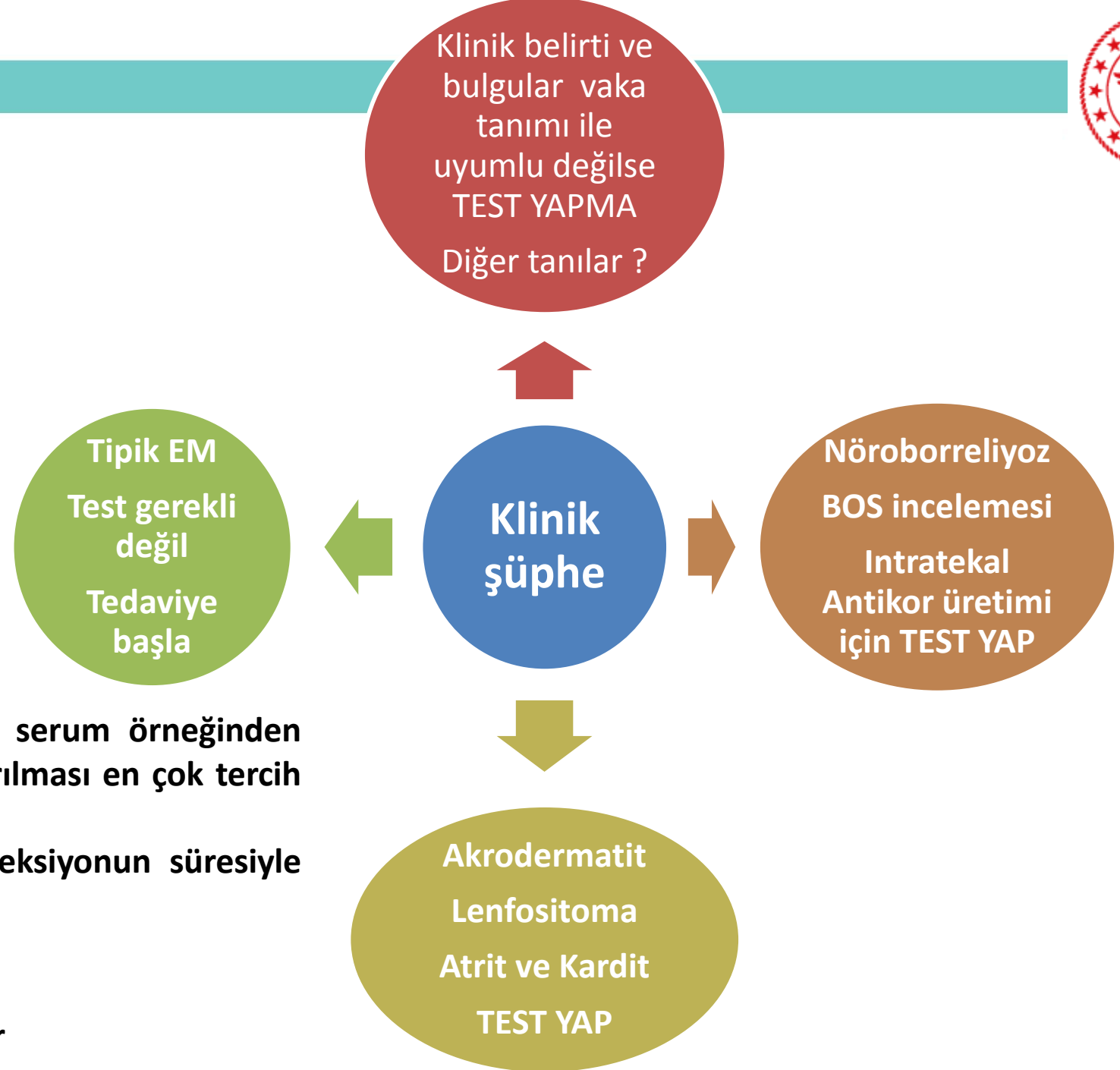


(Adapted from: Rahn, D.W. 1998. Natural History of Lyme Disease. In: Rahn, D.W., and J. Evans (Eds), Lyme Disease. pp 35- 48.)

“Serolojik sonuçlar mutlaka epidemiyolojik verilerle birlikte değerlendirilmelidir”.

Review

To test or not to test? Laboratory support for the diagnosis of Lyme borreliosis: a position paper of ESGBOR, the ESCMID study group for Lyme borreliosis



- Genel olarak her üç evrede tanı için serum örneğinden etkene karşı gelişen antikorların araştırılması en çok tercih edilen tanı yaklaşımı.
- Antikor tabanlı testlerin duyarlılığı enfeksiyonun süresiyle artmakta
- Erken dönemde **Negatiflik Yüksek**
- EM'li olguların <%50 antikor **pozitifliği**
- Serolojik testler ileri dönemde yararlıdır



İLK TEST (Tarama)

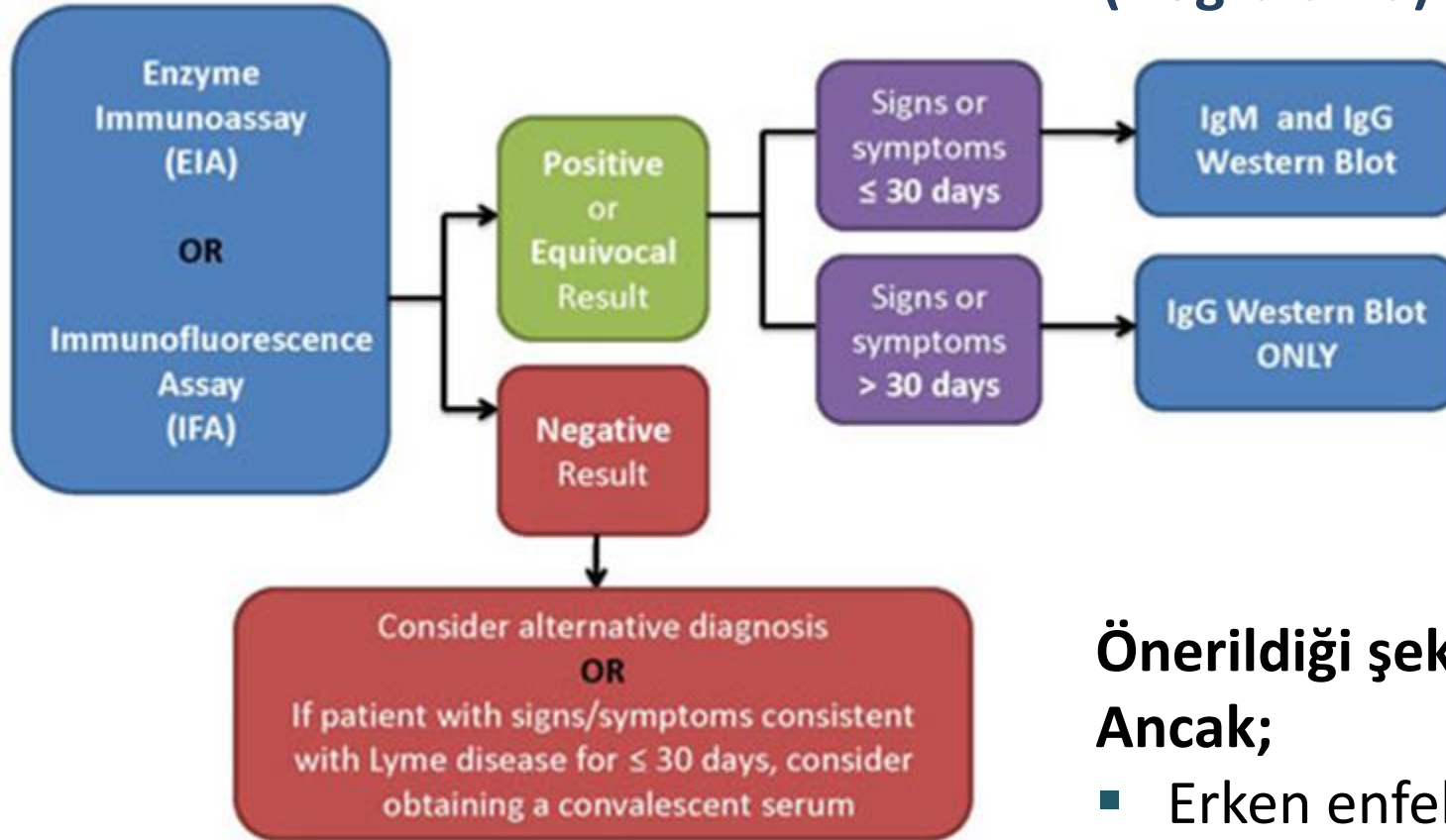
İKİNCİ TEST (Doğrulama)

ELISA veya IFA kullanılmadan
WB testi önerilmemektedir...

Yanlış (+) sonuç verebilir



gereksiz tedavi



Önerildiği şekilde kullanıldığında iyi çalışan sistem
Ancak;

- Erken enfeksiyonda **düşük duyarlılık**
- Bantların değerlendirilmesinde **sübjektivite**
- Hekim ve hasta açısından **yorumlama güçlüğü**



ELISA

Tüm Hücre Ag



- Sonike *B.b* hücre antijenleri (WCS-based assays)
- Yüksek yalancı pozitiflik

Borrelia VlsE1



***Borrelia* VlsE1/pepC10**

Eksprese edilen proteinler

(in vivo <in vitro)

[Vmp-like sequence, expressed (VlsE) lipoprotein]:

- Hızlı ve güçlü humoral yanıt oluşumu
- Hem ABD hem de Avrupa'da Bb enfeksiyonlarında kullanılabilme
- Her iki basamak teste eklenmesi etkinliği artırır.

VlsE C6 peptid



C6 peptid (VlsE'nin IR bölgesindeki 25-amino asitlik peptid derivesi)

- WCS tabanlı testler ile karşılaştırılabilir duyarlılık ancak **özgüllük daha yüksek**
- ABD'de tek başına kullanılabilme potansiyeli
- Diğer *B burgdorferi sensu lato* sp. neden olduğu enfeksiyonlarda **Avrupa'da** kullanılabilir.

- Farklı proteinlerin kısımlarını içeren çok sayıda rekombinant ve sentetik antijen denenmiş
- Enfeksiyonun erken döneminde açığa çıkan OspC'nin korunmuş bölgesinin tek peptid içeren test olarak veya diğer antijenlerle birlikte kullanılması halen araştırılmakta



SEROLOJİK TESTLER

Yalancı pozitiflik;

- Kene kaynaklı dönek ateş
- Sifiliz
- Anaplasmoz (human granulocytic ehrlichiosis--IgM)
- Leptospiroz
- Bazı oto-immün hastalıklar (örneğin lupus, RA)
- Bakteriyel endokardit
- *Helicobacter pylori*, Epstein Barr virüs enfeksiyonu,
- Parvovirüs (IgM pozitifliği %40)
- *Treponema denticola*



***recomLine* Borrelia IgG** ***recomLine* Borrelia IgM**

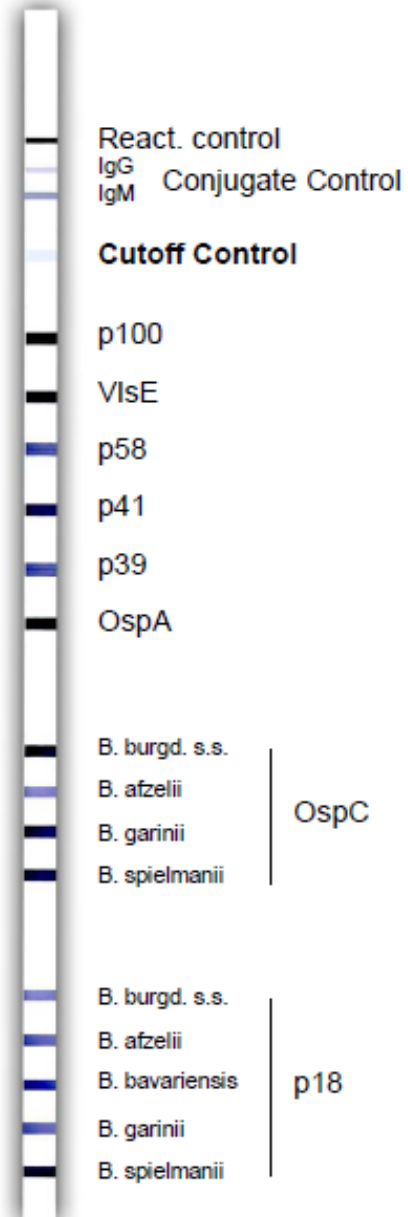
→ **Conjugate control line**

→ **Integrated cutoff control**

→ **15 recombinant antigens**
covering 5 pathogenic genospecies

İlk 4 hafta: IgM ve/veya IgG ve >4. hafta sadece IgG

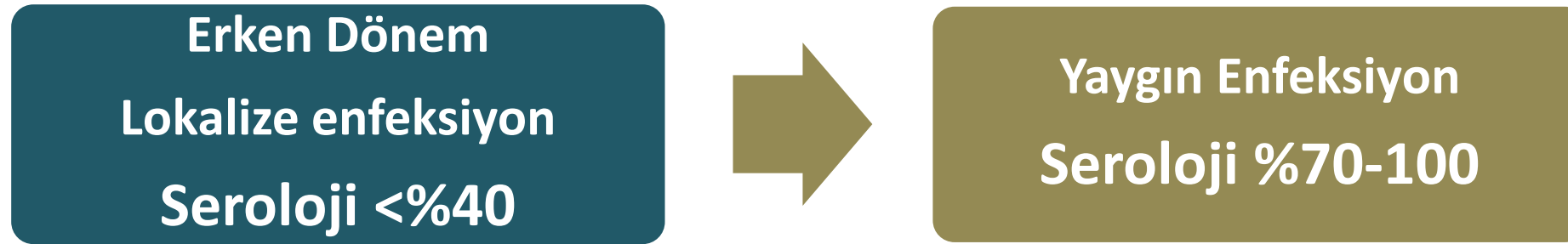
→ **5 different p18 (DbpA)**
for the safe detection of acute Neuroborreliosis





Serolojik Tanı: Dezavantajlar

- Erken dönemde antikor yanıtının gelişmemesi veya yokluğu (özellikle EM ve erken LNB → 3-4 hafta sonra 2. örnek)



- Özgüllük; **%98-100**
- Bazı vakalarda serokonversiyonun gelişmemesi (erken tedavi ile Ab yanıtının önlenmesi)
- **IgM** ve IgG persistansı - tedaviden sonra aylar veya yıllarca devam etmesi
 - ✓ Aktif ve inaktif ayırımında yetersizlik
 - ✓ Tedavinin izleminde güvenilirliğinin azlığı



Serolojik Tanı: Dezavantajlar

P-084 Eritema Kronikum Migrans: Avrupa Kökenli Bir Olgu

Tanı: *Borrelia burgdorferi* IgM ve IgG tetkikleri negatif sonuçlandı!

Yorum: Erken dönem

P-140 Nedeni Bilinmeyen Ateş Tanısıyla Takip Ettiğimiz Bir Lyme Olgusu

Tanı: ELISA ile *B.burgdorferi* IgM pozitif, IgG negatif sonuçlandı ve tedavisi doksisiklin 200 mg/ gün oral tedaviyle değiştirildi. Tanı doğrulanmak üzere Western Blot testi gönderildi. *B.burgdorferi* IgM *negatif* bulundu.

Yorum: Erken antibiyotik tedavisi serolojik testlerin pozitifleşmesini engelleyebilmektedir.

P-293 Yaygın Eritema Kronikum Migranslı Olgu

Tanı: *Borrelia burgdorferi* IgM pozitifdi.



En İyi Durum Senaryosu

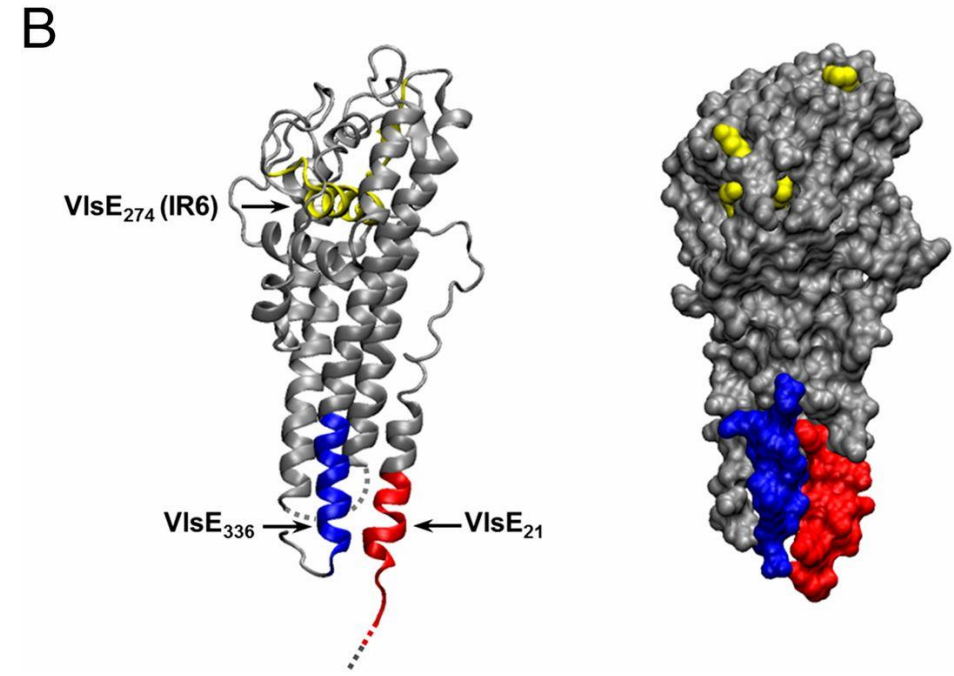
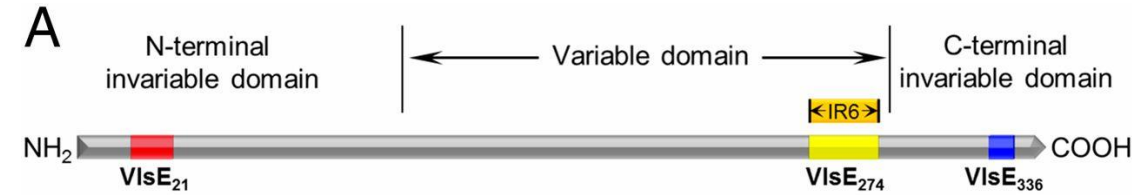
- Tek test, **tercihan ELISA**
- Sınırlı sayıda tanımlanmış **rekombinant** veya **sentetik** yapılı antijen,
- Bu beklenti, suşlara ve pasajlarına bağlı olarak değişim gösteren **tüm hücre antijen** ekstraktlarının bileşimleriyle sağlanamaz...

VisE molekülünün;

İmmünodominat ve korunmuş,

Değişken olmayan bölge 6 (Invariable Region 6) olarak adlandırılan küçük bir bölümünde 25 AA peptid

- Membran üzerinde – Antikor yanıtını tetikler





En İyi Durum Senaryosu

C6 peptid antijenin kullanıldığı ELISA
IgM/IgG

- Tek aşamalı test ancak;
- İki aşamalı yaklaşıma benzer duyarlılık ve özgüllük.

Sınırlı Kullanım;

Avrupa'da birkaç patojenik genotipin varlığı;

- ✓ immunodominant antijenlerde değişkenlik,
- ✓ Biraz daha düşük özgüllük.

Stage	Test	Sensitivity	Specificity
Single test	C6 peptide ELISA	53.9%	92.1%
First tier with equivocal	C6 peptide ELISA	60.1%	92.1%
Single test	ELISA	62.3%	96.8%
Single- or two-tier test	Western blot	62.4%	94.8%
Combined	Two tier	53.7%	99.7%
Average	All	59.4%	95.8%



En İyi Durum Senaryosu

	Number positive (%)						
	WCS EIA ^a	C6 EIA ^a	IgM WB ^{b,c}	IgG WB ^c	IgM and/or IgG WB ^{b,c}	Standard 2-tiered algorithm ^d	2-EIA algorithm ^e
Patients with Lyme disease (N = 91)							
Stage 1: Erythema migrans (n = 63)							
Active phase	33 (52)	27 (43)	15 (24)	3 (5)	18 (29)	17 (27)	23 (37)
Convalescent phase	59 (94)	58 (92)	31 (49)	5 (8)	36 (57)	36 (57)	56 (89)
Stage 2: Acute neuritis or carditis (n = 10)	10 (100)	10 (100)	9 (90)	3 (30)	10 (100)	4 (40)	10 (100)
Stage 3: Arthritis or late neuritis (n = 18)	18 (100)	18 (100)	2 (11)	18 (100)	18 (100)	18 (100)	18 (100)

NOTE. WCS, whole-cell sonicate; EIA, enzyme immunoassay; WB, Western blot.

^a For the EIA results, the numbers represent serum samples with either positive or equivocal results.

^b In these columns, positive immunoglobulin M (IgM) Western blot results were reported regardless of the duration of illness prior to specimen collection.

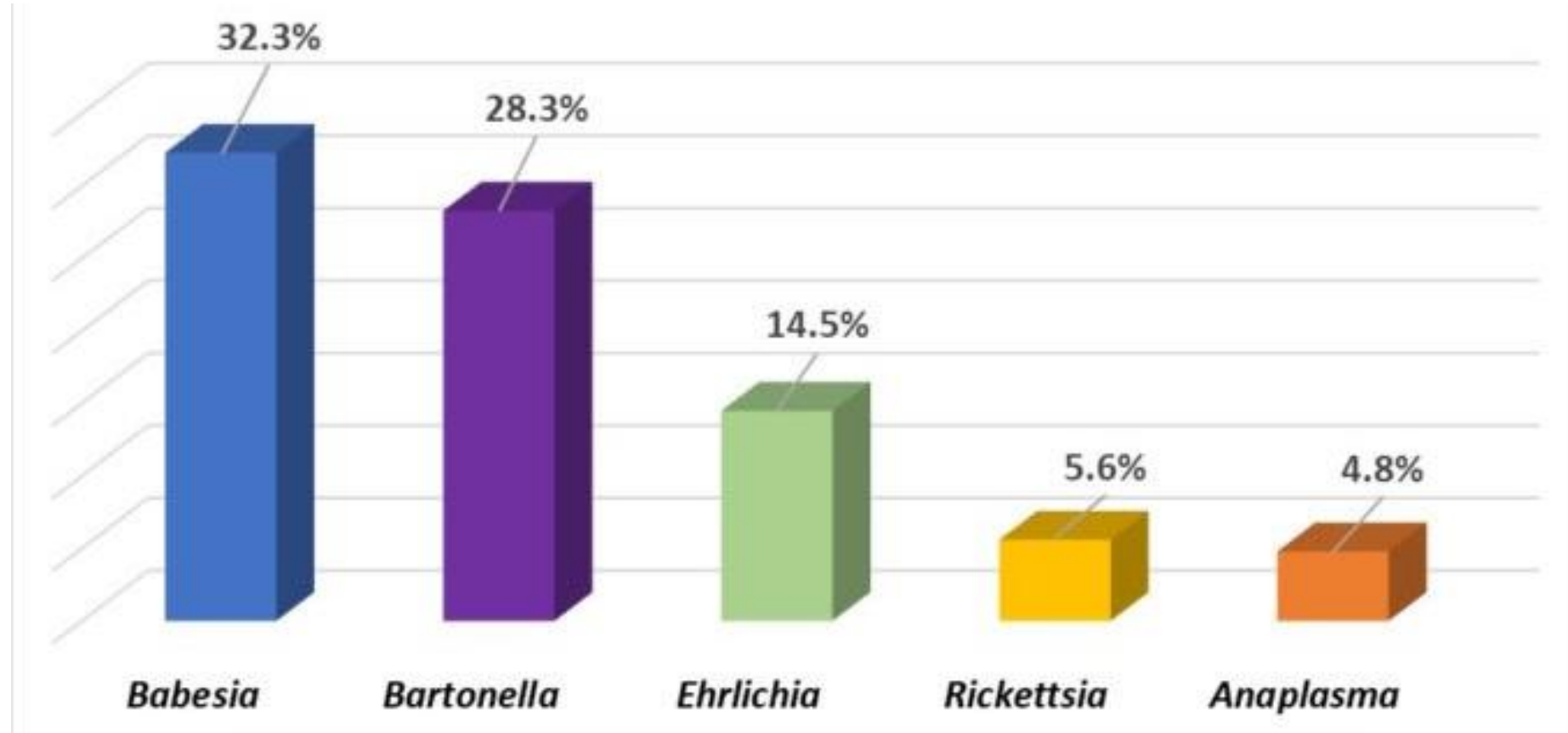
^c All phase 1 sera were analyzed by Western blot regardless of whether the first-step WCS EIA was positive or negative.

^d In this column, IgM criteria were applied only when the duration of illness prior to specimen collection was ≤ 1 month. The numbers represent serum samples that were positive or equivocal by WCS EIA and positive by either IgM or IgG WB analysis.

^e In this column, the numbers represent serum samples that were positive or equivocal by WCS EIA and positive or equivocal by C6-peptide EIA.



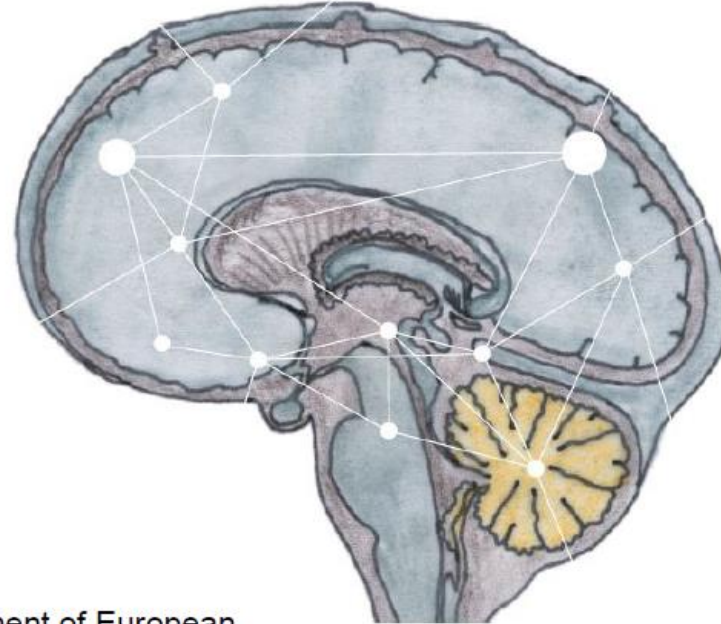
LB ve Ko-enfeksiyon (A.B.D)



**Kronik Lyme hastalığı olan olguların;
%23.5'unda en az bir ko-enfeksiyon
%29.8'inde ise iki veya daha fazla ko-enfeksiyon**



Lyme NöroBorreliyoz (LNB)



EFNS guidelines on the diagnosis and management of European
Lyme neuroborreliosis
Myglanda A et al. | European Journal of Neurology 2010, 17: 8–16

Three criteria should be fulfilled for definite Lyme Neuroborreliosis (LNB)

- Typical neurological symptoms
(meningitis, meningoradiculitis, Bannwarth syndrome, fascial palsy)
- (mainly lymphocytic) pleocytosis in CSF and
- intrathecally produced specific *Borrelia burgdorferi* (Bb) antibody
(▶ calculation of antibody index = AI)



Lyme NöroBorreliyo (LNB)

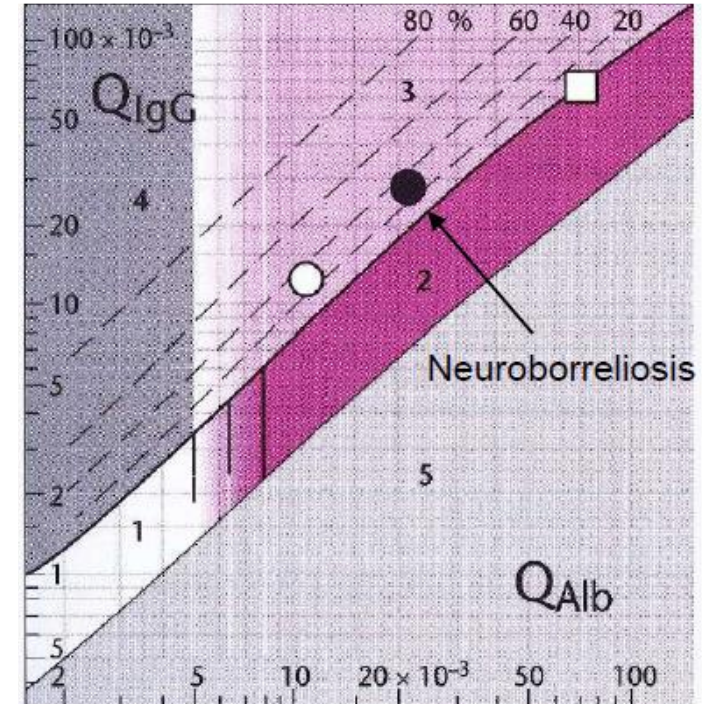
- Hücre sayısında *hafif artma (lenfositik pleositoz)*
- Total proteinde *artış*
- **Albumin Oranı:** Hafif-orta derecede kan beyin bariyer bozulması
- Kantitatif IgG, IgM ve IgA: Intratekal sentez (**IgM predominansı**)
- Oligoklonal Band varlığı
- *B.burgdorferi* Antikor spesifik indeksi: Intratekal antikor saptanması

BOS Protein analizi:

- Albumin titresi (Serum ve BOS'da)
- IgG/IgM titresi (Serum ve BOS'da)
- Oligoklonal bandlar (Serum ve BOS'da)

Reiber Kriterlerine göre değerlendirme:

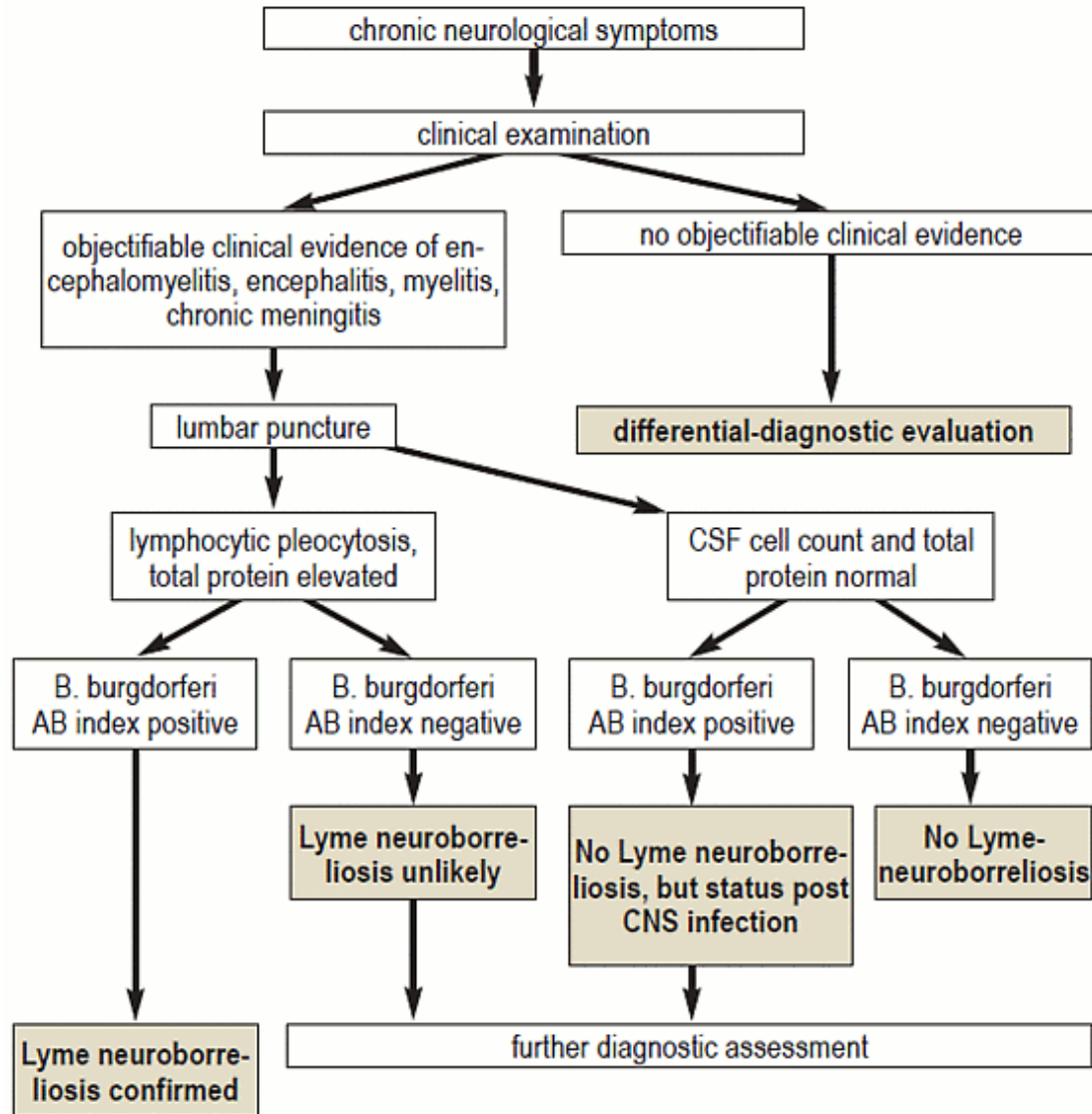
- ARTMIŞ Qalb (Alb BOS/Alb serum)
- Kan Beyin Bariyer bozulması



- 1 = reference range
- 2 = solely disturbance of Blood-CSF barrier
- 3 = disturbance of Blood-CSF barrier plus intrathecally IgG synthesis
- 4 = solely intrathecally IgG synthesis
- 5 = pre-analytical or analytical error



Lyme NöroBorreliyoz (LNB)



Spesifik Borrelia Antikor indeksi (AI) =

Borrelia IgG BOS

Borrelia IgG Serum

IgG BOS

IgG Serum

$0,6 \leq AI \leq 1,3$ normal
 $1,3 < AI < 1,5$ borderline
 $\geq 1,5$ pathologic



Lyme NöroBorreliyo (LNB)

Standard Serolojik ile Tanısal Güçlükler

- Nöroinvazif Lyme hastalığı şüphesinde sadece serum örneğinde antikor araştırılması;
- LNB olguların %15'inde serumda antikor saptanamaması (**Yalancı negatiflik**)
- Lyme-endemik bölgedeki bireylerin serum örneklerinde %5 oranında seropozitiflik (**Yalancı pozitiflik**)

LNB şüphesinde İki basamaklı test algoritmasının kullanılması önerilmemektedir;

- Serumda antikor araştırılması için geliştirilmiş olması
- Serum ve intratekal antikor üretiminin ayırt edilmesi gerekliliği
(travma veya inflamasyona bağlı pasif transfer mi yoksa aktif sentez mi?)



Lyme NöroBorreliyoz (LNB)

- İntratekal antikor üretiminin gösterilmesi **Avrupa**'da 'Altın Standart' (*B. garinii*)
 - Altın standart olmaması: çalışma sonuçlarının yorumlanmasındaki zorluklar
 - Farklı vaka tanımlarının varlığı
 - Farklı tanı yöntemleri (Kit ve antijenler)
 - Farklı yorumlama kriterleri
 - Retrospektif değerlendirme
 - Kullanılan tanı yöntemleri ve laboratuvarların karşılaştıran veri azlığı

- Akut LNB olgularında İntratekal antikor üretiminin duyarlılığı yaklaşık % 50.
- Tedaviden sonra İntratekal antikor üretimi devam edebilir.
- Enflamasyon belirtileri birkaç ay içerisinde (bir yıla kadar) düzelmektedir.



B LENFOSİT ATTRACTANT KEMOKİN TESTİ (CXCL13)

Amaç

Erken LNB tanısal belirteç

Pozitiflik

- Nörosifiliz ve serebral kriptokokoz
- HIV
- ZNS lenfoma

Kullanım

- Çoğu olguda LNB tanısı; AI ve pleositoz ile desteklenirken
- CXCL13 erken olgularda (<2 hafta) → pleositoz ve/veya AI negatif iken
- Tipik LNB semptomların varlığında ve Borrelia spesifik AI pozitifliği
- Tedavi izlemi (tedaviden sonra hızlı düşme)
- Akut LNB tanısından uzaklaşma (Yüksek negatif prediktif değer)

Öneri

- Pediatrik LNB şüpheli olgularda yararlı olabilir
- Total IgM indeksi negatif LNB'li olgularda spesifik olmayan enflamatuvar belirteç olarak yararlı olabilir
- Özel bir deneyim ve kesin sınır değere ihtiyaç var .



Lenfosit Transformasyon testi (LTT)

T helper hücrelerin fonksiyonunu değerlendiren bir test olup Lyme tanısında kullanılmaz.

LT testinin pozitif olduğu durumlar:

- *Borrelia burgdorferi*
- *Chlamydia pneumoniae*
- *Chlamydia trachomatis*
- *Ehrlichia/Anaplasma*
- *Yersinia species*
- Epstein-Barr-Virus (EBV)
- Cytomegalo Virus (CMV)
- Kandidiyaz

LTT perfomansı; klinik olarak aktif olan hastalarda duyarlılık **%89.4** ve özgüllük **%98.7**
Sadece antibiyotik tedavisi alan olgularda iyileşme göstergesi olarak kullanılması



EUCALB (European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis)

Serolojik Tanı Kılavuzu

EM	IgG ve IgM tedavi edilmemiş hastaların sadece % 40-60'ında saptanır. Seroloji EKM tanısı için şart değildir
Erken nöroborreliyo	intratekal antikor oluşumunu gösterilmeli. Çift serum örneğinde IgG ve/veya IgM titre artışı tanıyı destekler, fakat erken dönemde antikor oluşmayabilir.
Benign deri lenfadenozu	Yüksek titrede bir IgM sonucu yada çift serum örneğinde IgG ve/veya IgM titre artışı.
Kronik nöroborreliyo	Eşzamanlı alınan kan ve BOS örneğinde spesifik antikor titresi belirlenerek intratekal antikor üretimi gösterilmelidir . IgG antikoruna negatif iken IgM'nin pozitif olması kronik nöroborreliyo tanısından uzaklaştırır.
Lyme artriti	IgG antikorları (genellikle yüksek seviyede). IgG antikoruna negatif iken IgM'nin pozitif olması Lyme artriti tanısından uzaklaştırır
Lyme karditi	Yüksek titrede IgM ve IgG antikoruna veya çift serum örneğinde IgG antikoruna ait titre artışı
Kronik atrofik akrodermatit	IgG antikorları (genellikle yüksek seviyede). IgG antikoruna negatif iken IgM'nin pozitif olması KAA tanısından uzaklaştırır.



Sonuç ve Yorumlar

Tanı

- LB tanısı için standart vaka tanımına uyulmalı
- İnsan LB'unun tanısının temeli özgün laboratuvar testleri
- Klinik numunelerde direk tanı yöntemlerinin duyarlılığı düşük
- ***Seroloji en uygun destekleyici testtir (FDA onaylı iki basamaklı sistem)***
- Erken dönemde (EM) test gerekli değil
- Moleküler tanı ek tanısal yöntem (Atipik klinik tablo ve atrit) olarak önerilmekte
- LNB için belirlenerek intratekal antikor üretimi gösterilmeli

Eksiklikler

- ***Tanıda halen sorunlar var***
- Günümüzde kullanılan tanı yöntemleri ***aktif ve inaktif*** enfeksiyon ayırımını yapamamaktadır.
- Tedaviden sonra, IgM de olmak üzere hastaların yıllarca seropozitif kalması nedeniyle ayırım kolay değildir.

Neler Yapılmalı ?

- Yeni teknikler ve antijen kombinasyonlarının kullanılması
- ELISA kombinasyonların kullanıldığı araştırma sayılarının artması (iki ELISA)

TEŞEKKÜRLER



selcuk.kilic5@saglik.gov.tr, mdskilic@gmail.com

Tel: 0312-565 53 62

45