

Patogeneza i dijagnostika lajmske borelioze

Galetić, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:758595>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

STUDIJ MEDICINA

Matea Galetić

PATOGENEZA I DIJAGNOSTIKA LAJMSKE BORELIOZE

Diplomski rad

Rijeka, 2023.

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

STUDIJ MEDICINA

Matea Galetić

PATOGENEZA I DIJAGNOSTIKA LAJMSKE BORELIOZE

Diplomski rad

Rijeka, 2023.

Mentor rada: prof. dr.sc. Marina Bubonja Šonje, dr.med.

Diplomski rad ocjenjen je dana 27.6.2023. na Medicinskom fakultetu, Sveučilište u Rijeci

pred povjerenstvom u sastavu:

1. Prof. dr. sc. Darinka Vučković, dr.med.
2. Izv. prof. dr. sc. Tanja Grubić Kezele, dr.med.
3. Doc. dr. sc. Bojana Mohar Vitezić

Rad sadrži 37 stranica, 4 slike, 1 tablicu i 50 literaturnih navoda.

POPIS KRATICA

AI	antibody indeks
ACA	acrodermatitis chronica atrophicans
EIA	enzimski imunotest
EM	erythema migrans
IFA	imunofluorescentni test
LB	Lajmska borelioza
MMP	matriks metaloproteinaze
TLR	toll-like receptor
NB	neuroborelioza
WB	western blot

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. SVRHA RADA.....	2
3. PATOGEN I EPIDEMIOLOGIJA	3
4. PATOGENEZA BOLESTI.....	4
4.1. MEHANIZMI OBRANE DOMAĆINA	6
4.2. UPALNI SIGNALNI PUTEVI U LAJMSKOJ BOLESTI.....	7
4.3. ULOGA NESPECIFIČNE IMUNOSTI	8
4.4. ULOGA SPECIFIČNE IMUNOSTI	9
5. KLINIČKA SLIKA	10
5.1. RANI LOKALIZIRANI STADIJ	10
5.1.1. ERYTHEMA MIGRANS	10
5.1.2. LYMPHOCYTOMA BENIGNUM CUTIS.....	12
5.2. RANI DISEMINIRANI STADIJ	12
5.3. KASNI STADIJ.....	13
6. DIJAGNOSTIKA	15
6.1. IZRAVNA MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA LAJMSKE BOLESTI	16
6.1.1. KULTIVACIJA	17
6.1.2. MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA	18
6.2. NEIZRAVNA MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA LAJMSKE BOLESTI	19
6.2.1. NASTANAK I DINAMINKA STVARANJA PROTUTIJELA.....	20
6.2.2. SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA LAJMSKE BOLESTI	21
6.2.3. INTERPRETACIJA SEROLOŠKIH NALAZA LAJMSKE BORELIOZE.....	22
6.2.4. SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA NEUROBORELIOZE	23
7. LIJEČENJE.....	25
8. RASPRAVA	26
9. ZAKLJUČCI	28
10. SAŽETAK	29
11. SUMMARY	30
12. LITERATURA	31
13. ŽIVOTOPIS.....	37

1. UVOD

Lajmska borelijoza (LB) je multisistemska infektivna bolest izazvana spirohetom *Borrelia burgdorferi*. *B. burgdorferi* je gram-negativna mikroaerofilna bakterija iz porodice *Spirochetaceae*. Poznato je preko dvadeset vrsti borelija iz kompleksa lajmske borelijoze, a gruba podjela uključuje borelije patogene za čovjeka te borelije čija patogenost još nije dokazana (1). *B. burgdorferi sensu lato* zajednički je naziv za sve patogene borelije, a LB uzrokuju u umjerenom klimatskom području Europe, Azije te Sjeverne Amerike. U Europi izolirane su *B. burgdorferi sensu stricto* (*B. burgdorferi s.s.*), *B. afzelli*, *B. garinii*, *B. bavariensis* (starijeg naziva *B. garinii* OspA serotip 4), *B. spielmanii*, dok je u Sjevernoj Americi patogenost dokazana jedino kod *B. burgdorferi sensu stricto*. Patogenost borelija *B. valaisiana*, *B. lusitaniae* te *B. bissetti* nije potvrđena. Broj oboljelih je u kontinuiranom porastu, a LB je najčešća infekcija koja se prenosi krpeljima u SAD-u i Europi (1-3). LB je antropozoonoza, odnosno bolest prenose **krpelji vrste *Ixodes***, a rezervoar infekcije su mnoge divlje i domaće životinje, među kojima se naročito ističu glodavci i ptice. Bakterija se prenosi sa zaraženog krpelja, ako krpelj siše krv domaćina za vrijeme spirohetemije. Čovjek je sasvim slučajni domaćin kojemu borelije prenosi zaraženi krpelj. Bolest se manifestira širokim spektrom različitih kliničkih simptoma. Prvi stadij bolesti, ujedno i patognomoničan znak infekcije, prstenasta je kožna lezija, a naziva se ***erythema migrans* (EM)**, a javlja se u više od 80% infekcija. Diseminacijom borelije iz kožne lezije, mogu se razviti sekundarni i tercijarni stadij bolesti koji su u konačnici posljedica prisutnosti (perzistencije) same borelije u organima i reakcije imunog sustava na njihovu prisutnost. Dok se dijagnoza EM postavlja na osnovu karakteristične kliničke slike, u kasnijim se stadijima bolesti zbog različitosti kliničkih simptoma provodi serološka dijagnostika kojom se određuje prisutnost specifičnih protutijela u serumu ili likvoru bolesnika. LB se liječi antibioticima kako bi se spriječila progresija bolesti (3, 4).

2. SVRHA RADA

Cilj ovog rada je sistematizacija i prikaz najnovijih saznanja o uzročniku, patogenezi i dijagnostici lajmske borelioze, s dodatnim naglaskom na kliničku sliku, čije poznavanje ima vrlo važnu ulogu u pravovremenom postavljanju dijagnoze.

3. PATOGEN I EPIDEMIOLOGIJA

Uzročnik bolesti, *B. burgdorferi*, ubraja se u koljeno **spiroheta**, zajedno s treponemama i leptospirom. *B. burgdorferi* sensu lato je kompleks gram-negativnih spiroheta koji sadrži dvadesetak genovrsta, od kojih se u Europi pojavljuju: *B. burgdorferi* sensu stricto (s.s.), *B. afzelii*, *B. bissettiae*, *B. bavariensis*, *B. kurtenbachii*, *B. garinii*, *B. lusitaniae*, *B. spielmanii* i *B. valaisiana*. Za većinu je poznato da uzrokuju infekciju u ljudi. Genom borelije čini linearna DNA uz 17 – 21 linearnih i cirkularnih plazmida. Upravo ti plazmidi kodiraju proteine vanjske membrane (Osp, engl. outer surface proteins), zaslužne za patogenezu bolesti i razvoj infekcije u sisavaca (1.) Genotipizacija borelija obično se temelji na analizi nukleotidne sekvence gena koji kodira protein C (OspC) vanjske membrane bakterije, odnosno MLST (engl. multi locus sequence typing) analizi drugih konzerviranih genskih lokusa (5).

LB se najčešće pojavljuje na sjevernoj polutki, a bolest prenose krpelji kompleksa *Ixodes ricinus* (poznat i kao šumski ili obični krpelj) (Slika 1). U SAD-u glavni vektor je *I. persulcatus*. Pojavnost LB povezana je s globalnom rasprostranjenošću krpelja upravo tog kompleksa, a njihova distribucija je ograničena uglavnom u umjerenj zoni, između 33. i 65. stupnja zemljopisne širine. Krpeljima pogoduju bjelogorične šume, s relativnom vlažnošću od 80% i više. Zaraza nastupa najčešće tijekom proljetno-ljetnih mjeseci. Prijenos borelije s krpelja na sisavca odvija se preko sline, u vrijeme hranjenja krpelja krvlju sisavca. Krpelji se hrane tijekom sva tri stadija svog višegodišnjeg ciklusa (ličinke, nimfe, adulti). Za transmisiju borelija na čovjeka najzaslužnije su nimfe (4-6).

U Hrvatskoj, bolest se pretežito javlja u sjeverozapadnom dijelu, ali i u Gorskom kotaru, Kvarneru, i Istri. Endemičnim se područjima u Hrvatskoj smatraju **Čakovec**, **Koprivnica**, **Hrvatsko zagorje** te područja oko **Zagrebačke gore** (4).



Slika 1. Prikaz krpelja iz kompleksa *Ixodes ricinus* na koži čovjeka

(Izvor: Haddad i sur, 2018) (6)

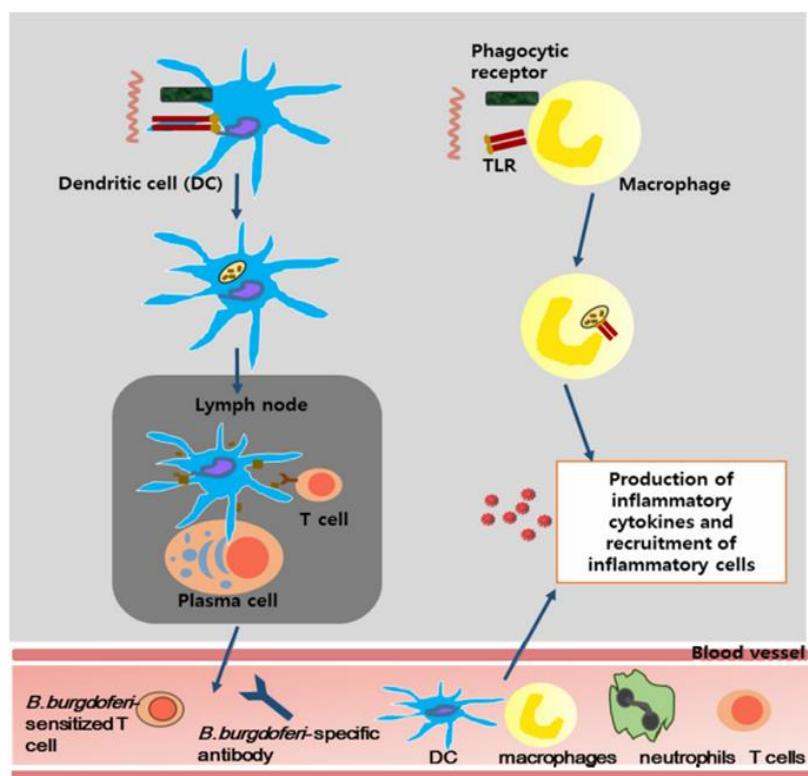
4. PATOGENEZA BOLESTI

Spiroheta *B. burgdorferi* je visoko invazivna, obligatno patogena bakterija prilagođena na dvije vrste domaćina: krpelj i sisavce. Nije točno poznat mehanizam kojim borelija uzrokuje LB. Patogenost ovisi o njejoj pokretljivosti, citotoksičnosti, antigenskoj varijabilnosti te stimulaciji molekula i stanica nespecifične i specifične imunosti. Tijekom prijenosa sa zaraženog krpelja, bakterije prolaze kroz značajne promjene u ekspresiji gena, što rezultira prilagodbom na okolinu sisavaca. Antigenska struktura bakterije podložna je promjenama tijekom životnog ciklusa u krpelju i tijekom prelaska na sisavca, no u čovjeku ostaje najčešće stabilna (1,3). Promjena lipoproteina vanjske membrane iz kompleksa **Osp** omogućava prelazak s jednog domaćina na drugog. Naime, u digestivnom sustava krpelja (*I. ricinus complex*) borelije

izražavaju proteine OspA (eng. *outer-surface* protein) i OspB, dok se za vrijeme ugriza aktivira i OspC (kada borelije putuju slinovnicama). OspC je ključan lipoprotein, jer se veže za protein Salph 15 (engl. salivary-gland protein), koji se nalazi u slini krpelja, što je preduvjet za prijenos bakterije i infekciju sisavca. Borelije koje nemaju OspC nisu patogene za sisavce. Nadalje, proteini kompleksa Osp važni su u obrani borelija od djelovanja protutijela domaćina (7).

Promjena proteina vanjske membrane borelije, koja bakteriji omogućava prijelaz u novog domaćina, je vjerojatan razlog što nakon ugriza krpelja do prijelaza borelija dolazi tek nakon 24-48 sati hranjenja krpelja na čovjeku (1).

Nakon ulaska u organizam sisavca, borelije se lipoproteinama vežu na proteoglikane, koji se nalaze na površini stanica domaćina. Borelije se razmnožavaju, šire lokalno te izazivaju upalne reakcije koje kod ljudi rezultiraju specifičnim kliničkim znakovima i simptomima. Oštećenja tkiva domaćina koji nisu rezervoari infekcije (sisavci), proizlazi ponajviše iz upalnih reakcija domaćina; nespecifičnih i specifičnih imunoloških reakcija (Slika 2). Imunološki odgovor domaćina može uzrokovati neurološke, kardiovaskularne, artritične i dermatološke manifestacije tijekom diseminiranog i perzistentnog stadija bolesti (3,8).



Slika 2. Prikaz nespecifičnog i specifičnog imunološkog odgovora na infekciju *B. burgdorferi* (Izvor: Shin i sur. 2014) (10)

Urođene imunološke efektorske stanice (dendritične stanice (DC), neutrofil i makrofagi) prepoznaju antigene *B. burgdorferi*. Njihova aktivacija dovodi do internalizacije i razgradnje spiroheta unutar fagolizosoma. DC stanice prezentiraju prerađene antigene T i B limfocitima. Limfociti T dolaze na mjesto infekcije, a limfociti B se diferenciraju u plazma stanice koje mogu izlučivati specifična protutijela te eliminirati boreliju putem putova ovisnih i neovisnih o komplementu. Proizvodnja proupalnih citokina od strane aktiviranih makrofaga rezultira regrutacijom dodatnih neutrofila, T-stanica, makrofaga i DC stanica na mjesto primarne lezije.

4.1. MEHANIZMI OBRANE DOMAĆINA

B. burgdorferi se prenosi s mjesta ugriza krpelja do različitih tkiva domaćina izravno, krvlju i limfom. Virulenciji bakterije pridonosi mnoštvo čimbenika virulencije bitnih za širenje, invaziju, kolonizaciju različitih vrsta tkiva i izbjegavanje imunološkog odgovora domaćina (8). Diseminacija bakterije je olakšana vezanjem za plaminogen, čiji aktivirani oblik plazmin djeluje kao proteaza (4). Također, diseminacija je potpomognuta vezanjem bakterije na trombocitne integrine. Osim toga, borelije adheriraju na endotelne stanice te migriraju kroz endotelne slojeve do izvanstaničnog matriksa. Lokalizacija u izvanstaničnom matriksu štiti

bakteriju od obrambenih sustava domaćina i djelovanja antibiotika. Promjena površinskih antigena omogućuje bakteriji izbjegavanje imunološkog odgovora domaćina u početnim stadijima bolesti. **Osp proteini** vanjske membrane igraju ključnu ulogu u zaštiti mikroorganizma od djelovanja zaštitnih protutijela domaćina. Također, borelije mogu modificirati imunološki odgovor (stanični i humoralni) kao i smanjiti fagocitozu. Borelija smanjuje fagocitozu narušavanjem stabilnosti membrane fagocitne stanice i otpuštanjem citotoksičnih tvari iz citoplazme fagocitnih stanica u krv domaćina. Osim toga, borelija može izravno napadati i uništavati limfocite B i T te indukcijom interleukina (IL- 1, IL- 6, IL-8, IL-10) može aktivirati otpuštanje kemotaksina i aktivirati sustav komplementa. U patogenezi LB fuzija borelija s glikozaminoglikanima: heparinom, heparan sulfatom (omogućuje spajanje spirohete s endotelom) i dermatan sulfatom (omogućuje spajanje spiroheta s glijom stanice) također ima značajnu ulogu (9).

4.2. UPALNI SIGNALNI PUTEVI U LAJMSKOJ BOLESTI

B. burgdorferi stimulira snažan upalni odgovor na mjestima kolonizacije. Tijekom infekcije dolazi do aktivacije upalnih signalnih putova, što ima za posljedicu oslobađanja proupalnih citokina i kemokina te influks upalnih stanica, čija je aktivacija posljedica mnogih kliničkih manifestacija LB. Dokazano je nekoliko signalnih putova uključenih u razvoj LB (10). Među njima su Mitogen Aktivirana Protein Kinaza (**MAPK**), i Janus Kinaza/Signal Transduktor i Aktivator Transkripcije (**JAK/STAT**). Inhibicija svakog od ovih signalnih puteva rezultira smanjenjem ekspresije specifičnih skupina citokina, kemokina i matriks metaloproteinaza (MMP) (11).

Upalne manifestacije bolesti u organotropnim organskim sustavima, kao što su koža, srce, centralni živčani sustav i zglobovi, javljaju se upravo kao posljedica imunološkog odgovora

domaćina na prisutnost patogena, što rezultira otpuštanjem citokina, kemokina i proteaza kao što su MMP, koje imaju sposobnost remodelacije tkiva. Čini se da je lajmski artritis upravo posljedica upalnog imunološkog odgovora domaćina koji se javlja kao odgovor na invaziju zglobova spirohetama. Naime, borelija proizvodi mnogo lipoproteina vanjske membrane te se vjeruje da su upravo oni odgovorni za većinu upalnih svojstava koja se pripisuju ovoj spiroheti. Ti lipoproteini (kao što je OspA, OsB, OspC) imaju sposobnost aktivacije širokog spektra staničnih vrsta, uključujući makrofage, neutrofile i endotelne stanice, čime se inducira proizvodnja širokog spektra pro- i protuupalnih medijatora (11,12).

4.3. ULOGA NESPECIFIČNE IMUNOSTI

Nespecifična, kao i specifična imunost igraju važnu ulogu u kontroli patogeneze lajmske borelije. Prije otkrića toll-like receptora (TLR), receptora urođene imunosti, glavni predmet imunoloških istraživanja u patogenezi lajmske bolesti bila je uloga specifične imunosti. Međutim, istraživanja koja su uslijedila nakon otkrića TLR-a, ukazala su na važnost nespecifične imunosti u pokretanju upalnog odgovora, odnosno urođenih imunoloških stanica, kao što su neutrofili, makrofazi i dendritične stanice (10).

Lipoproteini vanjske membrane borelije potentni su stimulansi koji mogu dovesti do aktivacije proupalnih molekula raznih imunoloških stanica, uključujući makrofage, endotelne stanice, neutrofile i B limfocite (12). Prepoznavanje borelijskog lipoproteina OspA posredovano je aktivacijom TLR1/2 heterodimera, što dovodi do nuklearne translokacije transkripcijskog faktora NFκB, koji je ključan u pokretanju upalnog odgovora (13). Ligacija TLR2 molekula s lipoproteinima borelije rezultira i aktivacijom mononuklearnih stanica periferne krvi i oslobađanjem proupalnih citokina i kemokina. Nedavno je otkriveno da osim TLR2 molekule, drugi TLR-ovi, kao što su TLR5, TLR7, TLR8 i TLR9 sudjeluju u induciranju proupalnih

molekula. Nadalje, osim TLR molekula, NOD-slični receptori (NLR, engl. nucleotide-binding oligomerization domain), NOD1 i NOD2, imaju važnu ulogu u prepoznavanju i prezentiranju antigena borelije antigen-prezentirajućim stanicama, odnosno makrofazima i dendritičnim stanicama unutar dermisa (Slika 2). Receptori nalik na NOD prepoznaju intracelularne muropeptide derivirane iz bakterijskih peptidoglikana (šećerni lanci N-acetilglukozamina i N-acetilmuraminske kiseline umreženi peptidnim lancima) (14-17).

4.4. ULOGA SPECIFIČNE IMUNOSTI

Nekoliko tjedana od početka infekcije razvijaju se humoralni i stanični imunološki odgovor. Prvo slijedi izrazito snažan stanični odgovor, nakon čega slijedi sporiji humoralni odgovor. Specifična IgM reakcija pojavljuje se, u pravilu, između 2-4 tjedna, a specifični IgG odgovor nastupa obično između 6-8 tjedana. Kao što je već istaknuto, protutijela se razvijaju sporo te u početnim stadijima infekcije oko 20-50% bolesnika razvija specifična protutijela koja kada se razviju, mogu perzistirati godinama. Imunosni odgovori kontrolira infekciju te ako je odgovor dovoljno jak, moguća je i rezolucija bolesti bez primjene antibiotika (4). Specifična humoralna imunost ima ulogu u regulacije broja spiroheta u inficiranom području tkiva (eliminaciji patogena) te ima značajnu dijagnostičku važnost. Nadalje, pokazalo se da su B stanice bitne u rezoluciji artritisa, dok su T-stanice neophodne za razvoj upale, ali upitne važnosti u kontroli širenja bolesti. T-stanice su izravno uključene u razvoj upalnih simptoma bolesti, kao što su karditis i artritis, ali nisu od kritične važnosti za rezoluciju bolesti (18).

5. KLINIČKA SLIKA

Dok u Americi samo *B. burgdorferi* uzrokuje LB s karakterističnom kliničkom slikom artritisa, raznovrsnost patogenih vrsta borelija u Europi ima za posljedicu različite kliničke slike. Tako npr. *B. afzelii* češće uzrokuje kožne manifestacije, *B. garinii* neuroboreliozu, a *B. burgdorferi* sensu strictu artritis (2).

Simptomi bolesti mogu biti raznoliki, LB se prezentira od supkliničkih oblika, odnosno manifestacija sa samo jednim simptomom, do teških organskih oštećenja (2). Razlikuje se rani i kasni stadij LB. Rana infekcija uključuje stadij rane lokalizirane infekcije (stadij 1), stadij rane diseminirane infekcije (stadij 2), a kasna (kronična) infekcija predstavlja treći stadij LB. Prijelaz iz rane u kasnu fazu bolesti nije obavezan (4).

5.1. RANI LOKALIZIRANI STADIJ

5.1.1. ERYTHEMA MIGRANS

Prva, najčešća i najznačajnija manifestacija lajmske borelioze je kožna promjena koja se naziva ***erythema migrans* (EM)**, čija je pojavnost tipična za lajmsku boreliozu te često dovoljna za postavljanje rane dijagnoze. Obično se EM javlja na mjestu uboda krpelja te se najčešće očituje nakon prosječne inkubacije od 2 do 3 tjedna (3-32 dana) pojavom izdignutog crvenila koji se širi koncentrično oko mjesta ugriza krpelja, nerijetko sa središnjim blijedenjem (Slika 3) (4). U djece inkubacija može trajati svega jedan dan. Klinička prezentacija EM značajno varira. Primarna lezija može izgledati kao difuzno crvenilo bez centralnog blijedenja, a ovisno o dermatomima može imati i nepravilne oblike; EM veličine kovanice, EM ovalnog oblika bez koncentričnih obruba, erizipeloidni EM, vezikularni EM nalik na herpes zoster, bolni EM,

skriveni EM u vlasištu i sl. (19, 20). U odraslih, EM se najčešće javlja na ekstremitetima i na trupu, ponekad u predjelu prepona, poplitealne jame te pazuha. U djece se najčešće pojavljuje na licu, ponekad čak i uz pojavnost faciopareze. Bolesnik može osjećati bol, svrbež ili pečenje, no takvi simptomi su razmjerno blagi. Moguća je i pojava lokalnog limfadenitisa te rijetko pojava općih simptoma infekcije (povišena temperatura, glavobolja, osjećaj slobosti). Katkad mogu biti prisutni i meningealni znakovi, iako vrlo rijetko. Moguća je i pojava akutne borelijske infekcije, s jedva uočljivim kožnim promjenama te izraženim općim simptomima, bez provedene terapije (21). EM obično nestaje nakon tri do četiri tjedna (i u neliječenih bolesnika), no može zaostajati do 14 mjeseci. U polovice neliječenih bolesnika eritem se širi više od 40 cm u promjeru te se razvijaju višestruke kožne lezije zbog čega se EM nekoć nazivao *erythema chronicum migrans* (4).

Diferencijalna dijagnoza LB uključuje erythema necroticans migrans, granuloma annulare, mycosis fungoides, intersticijski granulomatozni dermatitis (IGD) te tinea corporis. Važno je ne zamijeniti nespecifičnu reakciju kože nakon ugriza nezaraženog krpelja. Naime, nakon ugriza nezaraženog krpelja na mjestu ugriza se obično pojavi crvenilo koje izbledi i nestane nakon nekoliko dana (22).



Slika 3. *Erythema migrans* (izvor: Begovac i sur 2019) (4)

5.1.2. LYMPHOCYTOMA BENIGNUM CUTIS

Borelijski limfocitom druga je po učestalosti kožna promjena u LB, koja se u odnosu na EM znatno rjeđe pojavljuje. Definira kao B-stanični pseudolimfom koji se javlja kao odgovor na prisutnost borelijskih antigena u koži. Klinički se prezentira kao pojedinačni (rijetko višestruki) meki i neosjetljivi plavkastocrveni čvorić ili plak veličine između 1-5 cm, oštro ograničen. Obično se nalazi na ušnoj školjci, prsnoj areoli, a rjeđe na skrotumu ili aksilarnom naboru. Ekstrakutani znakovi i simptomi vrlo su rijetki. Najčešće se pojavljuje neovisno, ali može i zajedno sa EM te ostalim simptomima borelioze, npr. facioparezom. Signifikantno ga je na vrijeme identificirati i ne zamijeniti s tumorskom tvorbom (23).

5.2. RANI DISEMINIRANI STADIJ

Ako dođe do hematogene i limfogene diseminacije borelija, LB napreduje u diseminirani oblik te su zahvaćena brojna tkiva i organi. Diseminacije se manifestiraju nakon nekoliko tjedana ili više od godine dana od početka infekcije. Multipli EM, odnosno *erythema migrans disseminata* najčešći je oblik diseminiranog oblika LB. Sekundarni eritemi znak su hematogene rasutosti borelija (24). Nekoliko tjedana nakon pojave primarne kožne na koži se pojavljuju multiple obručaste promjene, nalik na prvotnu. Eritemi morfološki variraju i obično ih ima najviše na ekstremitetima i glutealnom području, iako mogu biti rašireni po cijelom tijelu. Kod male djece je uočeno rapidno širenje multiplih eritema po tijelu. Moguća je pojava osipa te izraženijih konstitucijskih simptoma: bolovi u mišićima, zglobovima, glavobolja, anoreksija, ukočenost vrata i umor. Djeca najčešće nemaju opće simptome (2).

Neuroborelioza (NB) je drugi najčešći oblik diseminiranog oblika bolesti (25.) Tjednima ili mjesecima nakon prvotne infekcije razvijaju se znaci zahvaćanja perifernog i/ili središnjeg živčanog sustava. Zahvaćenost živčanog sustava javlja se u do 15% slučajeva bolesnika s

neliječenom LB-om. Neurološke manifestacije uključuju limfocitni meningitis, kranijalni neuritis (bilateralna/unilateralna faciopareza) i motoričku ili osjetnu radikulopatiju (Bannwarthov sindrom), encefalomijelitis, cerebralnu ataksiju te perifernu neuropatiju. Prvi najčešći simptom je glavobolja. Za borelijski je meningitis karakteristično da započinje sa blagim simptomima ili čak asimptomatski. Obično se javlja temperatura, parestezije, radikularna bol, snažna glavobolja, opći umor i razdražljivost (4, 26-28).

Srčane manifestacije javljaju se u odraslih u 4-8% slučajeva. Očituju se kao različiti stupnjevi atrioventrikularnog bloka (blok 1.stupnja, Wenckebachova periodika ili vrlo rijetko blok 3. stupnja), rijetko kao blagi mioperikarditis, a iznimno rijetko kao pankarditis. Srčane manifestacije traju 3 dana do 6 tjedana, a najčešće su supkliničke (29).

5.3. KASNI STADIJ

U neliječenih bolesnika ili bolesnika koji su uzimali neadekvatnu terapiju tijekom ranijih faza LB-e, može doći do progresije u kasnu lajmsku bolest koja se očituje mjesecima ili nekoliko godina nakon početka infekcije (29). Kasne kliničke manifestacije uključuju neurološke manifestacije (polineuropatije, blažu encefalopatiju i encefalomijelitis) te reumatološke simptome i znakove, prije svega artritis (najčešće koljena), a rijetko se očituje kao ***acrodermatitis chronica atrophicans (ACA)***. ACA je tipična za treći stadij LB. Češće se javlja u odraslih nego u djece. U početku se na koži vidi plavičasta edematozna bolna diskoloracija, koja se s vremenom povećava i može trajati godinama. Kasnije u sredini nastaje atrofija kože i potkožnog tkiva, koja se postupno širi te zahvaća sve veći dio tkiva. Iz bioptata kože, čak i 10 godina nakon infekcije, mogu se izolirati žive borelije. Nadalje, u sklopu lajmske borelioze mogu se pojaviti i sklerotične promjene kože koje sliče sklerodermiji ili granulomu annulare. Bolest može pratiti polineuropatija te deformiranost zglobova s fibroznim čvorićima (2-4,30).

Artritis se javlja 4 dana do 2 godine (prosječno 6 mjeseci) od pojave EM. U Europi se javlja značajno rjeđe od neuroborelioze (31). U ranim stadijima, pacijenti se prezentiraju sa migrirajućim monoartritisom ili asimetričnim oligoartritisom. Prvi zahvaćeni zglob je najčešće onaj koji je najbliže primarnom EM, odnosno ugrizu krpelja. Međutim, to nije pravilo te mogu biti zahvaćeni i drugi veliki ili mali zglobovi, kao npr. temporomandibularni zglob. Natečenost zglobova s naznačenom funkcionalnom impotencijom zgloba je učestala. Zahvaćeni zglobovi su otečeni s obilnom sinovijalnom tekućinom, koža nad njim je crvena i nije vruća (2,4,31). Najteži oblik kasnog stadija LB-e je **progresivni encefalomijelitis**. Može podsjećati na multiplu sklerozu te upala zahvaća uglavnom bijelu tvar moždanog parenhima ili kralježnične moždine. *Pseudotumor cerebri* ili dobroćudna intrakranijalna hipertenzija, češća je u djece, manifestira se glavoboljom, povišenim tlakom likvora bez prisutnosti upalnih stanica u likvoru (4).

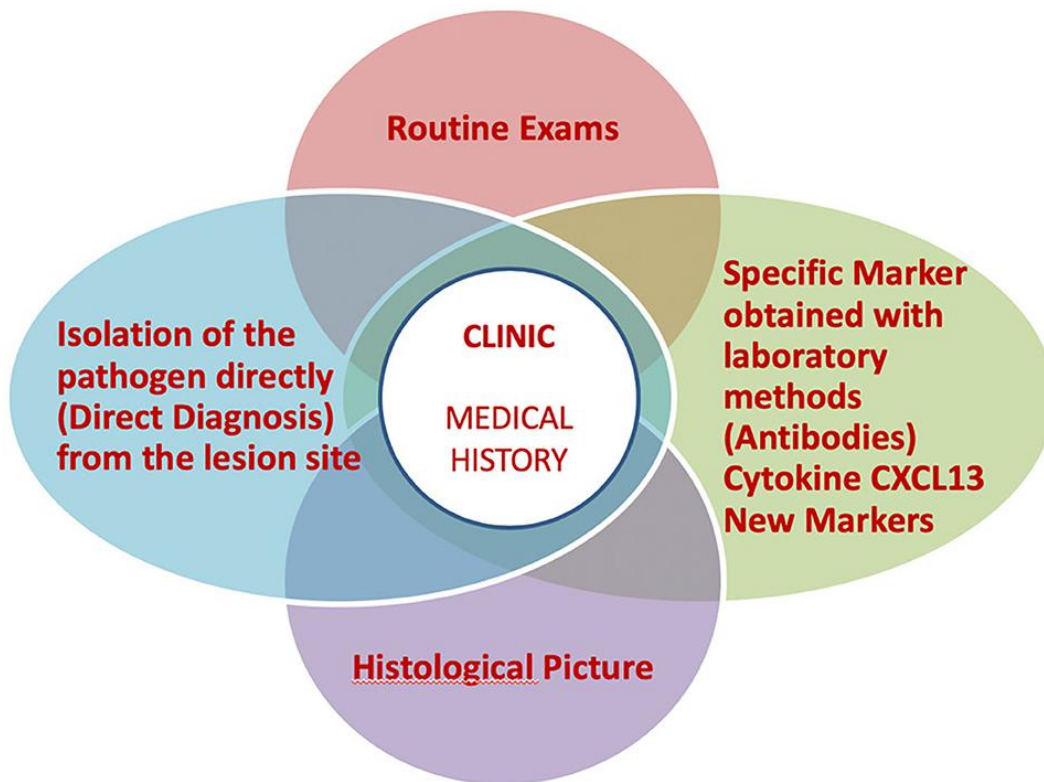
Tablica 1. Stadiji Lajmske bolesti (*Izvor: Krajinović i sur. 2018*) (5)

Stadij bolesti	Vrijeme pojave simptoma	Klinička slika
Rana infekcija	dani	lokalizirani EM
Rana diseminirana infekcija	dani ili tjedni	diseminirani EM meningitis kranijalni neuritis radikulopatija karditis
Kasna (perzistentna) infekcija	mjeseci ili godine	artritis periferna polineuropatija encefalopatija kronični encefalomijelitis acrodermatitis chronica atrophicans

6. DIJAGNOSTIKA

U ranijim stadijima LB dijagnoza se obično postavlja na temelju **specifične kliničke slike** (tipične kožne lezije) te epidemioloških podataka (anamnestički podatak o ugrizu krpelja). U nespecifičnim prezentacijama bolesti te u kasnijim stadijima bolesti, neophodna je primjerena mikrobiološka dijagnostika kako bi se postavila pravovremena dijagnoza (32).

Mikrobiološke metode u dokazivanju LB dijelimo na **izravne** – kultivacija i molekularna dijagnostika (PCR) te **neizravne** – serološko testiranje (3). Niti jedna metoda nije osjetljiva i specifična 100% zbog čega je različite testove ponekad potrebno kombinirati, ovisno o kliničkoj slici pacijenta. Kultivacijom borelije iz tkiva i mikroskopskom analizom uzorka moguće je postaviti definitivnu dijagnozu, no sam postupak nije praktičan zbog duljine trajanja postupka i slabe osjetljivosti metode. Budući da je kultivacija spor i nesiguran proces, ovo se iznimno rijetko primjenjuje u praksi. Serološka dijagnostika je najvažnija dijagnostička metoda LB. Uglavnom se primjenjuje **enzimski imunotest (EIA)** ili **kemiluminiscentni test (CLIA)**, rjeđe **test imunofluorescentnih protutijela (IFA)**. U ranim stadijima bolesti, serološka dijagnostika nije metoda izbora, jer se specifična IgM protutijela pojavljuju tek dva do četiri tjedna od pojave primarne lezije, a specifična IgG pojavljuju se još kasnije, ali traju godinama zbog čega se koriste u dijagnostici sekundarnog i tercijarnog stadija LB. Prema preporukama stručnih društava serološka dijagnostika LB, u pacijenata sa odgovarajućom kliničkom slikom, provodi se u dva koraka - nakon pozitivnog probirnog EIA/IFA testa slijedi testiranje reaktivnih rezultata specifičnijom potvrdnom **imunoblot/ Western Blot (WB)** metodom (1-4, 32,33).



Slika 4. Preklapanje dijagnostičkih postupaka prilikom postavljanja dijagnoze LM

(Izvor: Trevisan i sur., 2020)(31)

6.1. IZRAVNA MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA LAJMSKE BOLESTI

Izravno otkrivanje *B. burgdorferi* sensu lato može se postići kultivacijom uzročnika, mikroskopijom i molekularnom detekcijom genskog materijala (nukleinskih kiselina) borelije. Ove metode se međusobno razlikuju po osjetljivosti i složenosti postupka, a dokazuju prisutnost uzročnika ili njegovih komponenti u kliničkim uzorcima (tkivo, likvor, krv) (33).

6.1.1. KULTIVACIJA

Kultivacija borelija iz kliničkih uzoraka siguran je dokaz infekcije, a posebnu važnost ima za dokaz infekcije u bolesnika s nespecifičnom kliničkom slikom te u onih u kojih ne nastaje specifična imunohumoralna reakcija (negativan serološki test). Iako kultivacija ima najveću specifičnost u odnosu na druge dijagnostičke metode, nedostatak ove metode je niska osjetljivost (velik broj lažno negativnih rezultata) (34). Kao što je već spomenuto, kultivacija borelija je tehnički zahtjevna te se provodi isključivo u posebno opremljenim laboratorijima (33). Borelije se sporo umnožavaju, s generacijskim vremenom od 18 h, zbog čega je potrebno klinički materijal inkubirati 6-8 tjedana, što čini ovu dijagnostičku metodu dugotrajnom i nesigurnom. Iz navedenih razloga, kultivacija borelija više se koristi u istraživačke, nego u dijagnostičke svrhe (35).

S manjom ili većom učinkovitošću borelije se mogu izolirati iz raznih tkiva i tjelesnih tekućina kao što su koža, likvor, krv te sinovijalna tekućina. Uzgoj borelija uspijeva najčešće iz biopičkog uzorka primarne lezije (40-80%), rjeđe iz krvi i likvora (manje od 10%), dok iz sinovijalne tekućine rijetko uspijeva (3). Borelije su u kliničkim uzorcima prisutne samo periodično i u malom broju zbog čega je potrebno uzrokovati što veći inokulum (2 mL likvora, 10 mL krvi). Borelije su izrazito osjetljive na vanjske promjene te ih je potrebno čim prije inokulirati u odgovarajuće hranilište. Rastu dobro u obogaćenim tekućim podlogama koje sadržavaju N-acetilglukozamin te dugolančane masne kiseline. Uzgajaju se na modificiranim podlogama Kelly-Pettenkofer (MKP) te Barbour-Stoenner-Kelly (BSK-II, BSK-H) hranilištima, a sam uzgoj traje 9 tjedana na 33 °C (1, 35, 36).

6.1.2. MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA

S obzirom na dugotrajnost kultivacije, metode molekularne dijagnostike zasnovane na umnažanju nukleinskih kiselina lančanom reakcijom polimerazom (PCR), također su značajne u identifikaciji borelija. Iako PCR nije standardiziran za dijagnostiku LB, radi se o vrlo brzom metodi visoke specifičnosti, kojom se detektiraju ciljane molekule mikroorganizma (33). U *B. burgdorferi* sensu lato, ciljane molekule su kromosomalna DNA (16S rRNK, gen flagelina) te plazmidna DNA (gen za OspC, OspA). Međutim, osjetljivost ove dijagnostičke metode, približno je jednaka osjetljivosti kultivacije, jer ovisi o broju borelija u uzorku. U nekim slučajevim kultivacija pokazuje i veću osjetljivost (2).

U kliničkoj praksi PCR se najčešće koristi za dokazivanje prisutnosti DNA borelije u uzorcima cerebrospinalnog likvora i sinovijalne tekućine. Osjetljivost metode iznosi oko 50% za sinovijalnu tekućinu neliječenih pacijenata, 50-70% za kožne lezije (EM i ACA) te 15-30% za likvor bolesnika s akutnom neuroboreliozom (2). Nadalje, PCR dijagnostika iz likvora se pokazala korisna u dijagnostici bolesnika s ranim neurološkim manifestacijama, a negativnim nalazom specifičnih protutijela u likvoru. Nedostatak PCR metode je nemogućnost razlikovanja akutne od kronične infekcije, budući da DNA može perzistirati dugo nakon preboljele akutne infekcije. Dodatno, osjetljivost detekcije genoma borelije iz krvi PCR metodom nije dovoljno visoka budući da koncentracija spiroheta u uzorcima krvi, plazme ili seruma bolesnika s LB može biti vrlo niska. Također, moguća je pojava lažno-negativnih rezultata i zbog velike heterogenosti DNA molekula borelija (različite ciljane molekule različitih borelija) (34, 36).

6.2. NEIZRAVNA MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA LAJMSKE BOLESTI

Uz kliničku sliku i pozitivnu epidemiološku anamnezu **serološko testiranje** čini osnovu dijagnostike LB (35). Testiranje se zasniva na određivanju specifičnih protutijela klase IgM i IgG, najčešće u uzorcima seruma, te rjeđe u likvoru i sinovijalnoj tekućini (32). Zbog tipične kliničke slike i spore produkcije protutijela serologija se ne preporučuje u ranoj fazi infekcije kada se dijagnoza postavlja na osnovu tipične kliničke slike EM i pozitivne epidemiološke anamneze (ugriz krpelja). Ako postoji potreba za serološkom potvrdom kliničke dijagnoze rane borelioze preporučuje se testiranje uzorka seruma uzetog 3-6 tjedana nakon infekcije (ugriza zaraženog krpelja) kada se očekuje pojava IgM protutijela.

Imunosni odgovor na borelije nastupa relativno kasno, nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci od pojave primarne lezije. U kasnijim fazama LB borelioze specifičan imunološki odgovor rijetko izostaje - većina bolesnika ima IgG, a ponekad i IgM protutijela. Ipak, kod nekih se bolesnika imunološki odgovor nikada ne razvije zbog imunološke nereaktivnosti bolesnika.

Nastanak specifičnih protutijela u LB ovisi o:

- antigenskoj strukturi borelije
- fenotipskim obilježjima borelije
- geografskoj rasprostranjenosti borelija
- imunološkom odgovoru domaćina

Prednosti serološke dijagnostike su brojnost i dostupnost komercijalnih automatiziranih seroloških testova koji su zadovoljavajuće specifičnosti i osjetljivosti (2, 32, 33).

6.2.1. NASTANAK I DINAMINKA STVARANJA PROTUTIJELA

Razvoj imunološkog odgovora ključan je u rezoluciji svake bolesti pa tako i LB. Borelija posjeduje brojne proteine, od kojih su mnogi imunogeni te izazivaju imunološki odgovor. Obzirom da su proteini velike molekule, nose veliki broj peptida, antigena i antigenskih determinanti, što doprinosi velikoj heterogenosti patogena. Iz tog razloga, sintetiziraju se brojna specifična protutijela, usmjerena prema različitim antigenima. Tako razlikujemo dvije "vrste" antigena u borelija - **prvu grupu** čine antigeni kao što su adhezini, flagelini, stresni proteini te membranski proteini; zajednički svim borelijama, ali i mnogim drugim bakterijama. Zbog navedenog, pozitivna serološka reakcija na ove proteine nema veliku dijagnostičku važnost u dijagnostici LB. **Drugu grupu** čine antigeni specifični za borelije, kao što su OspA, OspB, OspC, p100, p39, p18, VlsE i dr. Ovi antigeni imaju veće dijagnostičko značenje i smatramo ih **specifičnima** u dijagnostici LB. Poznato je da je razvoj specifične humoralne imunosti spor proces; IgM protutijela nastaju 3-6 tjedana od početka bolesti, a IgG jedan do tri mjeseca nakon početka infekcije te mogu perzistirati doživotno (37). Moguć razlog spore imunološke reakcije je malen broj borelija u tkivu te slaba ekspresija površinskih antigena. Često je razvoj humoralne imunosti slab ili čak izostaje. Dodatno, imunološki odgovor katkad može zaostati na isključivom razvoju IgM klase protutijela, što upućuje na to da stimulans nije dovoljno jak za prekapčanje razreda u klasu IgG. Izostanak pojave protutijela ne znači nužno i odsutnost LB (32,38).

Ako bolest nije prepoznata ili je antibiotska terapija neadekvatna, borelije se umnažaju te u većini slučajeva stimuliraju nastanak protutijela. Duljina trajanja infekcije proporcionalna je s udjelom serološki pozitivnih bolesnika. Također, postoji korelacija između duljine trajanja infekcije i koncentracije protutijela - veće količine protutijela (viši titrovi, indeksi), nalaze se u infekcijama koje traju dulje (37).

Određivanje i praćenje dinamike imunološkog odgovora osobito je korisno u onih pacijenata u kojih manje specifični simptomi LB perzistiraju mjesecima ili godinama. U takvih pacijenata, serološke testove treba ponoviti nakon 3, 6 i 12 mjeseci (2). Ako se uzastopnim testiranjem ustanovi da specifična protutijela perzistiraju ne pokazujući dinamiku (smanjenje ili povećanje titra), pretpostavlja se da se radi o ranije preboljeloj infekciji s rezidualnim protutijelima, a da sadašnji nespecifični simptomi bolesnika nisu povezani s LB (33,37).

6.2.2. SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA LAJMSKE BOLESTI

U većini europskih zemalja, najčešće korišteni serološki testovi u rutinskoj dijagnostici LB su IFA, EIA, CLIA, ELISA (engl. enzyme-linked immunosorbent assay) te imunoblot testovi (Western blot, WB) (39). Testovi se međusobno razlikuju prema vrsti borelije, odnosno soju od kojeg se pripravlja antigen, zatim načinu pripreme antigena (cijela borelija, pročišćeni borelijski antigeni, rekombinantni antigeni) te metodi testiranja (2).

Nakon uvođenja EIA testa, koji kao antigen koristi imunogeni epitop peptida C6 visoko specifičnog VlsE proteina, smatralo se da je za dijagnozu dovoljan pozitivan nalaz EIA testa (40). Međutim, nedefinirani antigeni u ovim testovima na sebe vežu različite vrste protutijela, od kojih mnoga mogu biti nespecifična, odnosno nastala tijekom infekcije nekim drugim uzročnikom, ali imaju sposobnost vezanja i na borelijski antigen. Takva križna protutijela su slabijeg intenziteta vezanja, ali dovoljnog da u serološkim rezultatima stvaraju lažno pozitivnu sliku. Iz tog razloga, preporučuje se provjera pozitivnih rezultata dobivenih probirnim testom (npr. EIA) **potvrđnim specifičnijim testom**. Potvrda specifičnog imunogenog odgovora ima najveću dijagnostičku vrijednost u onih pacijenata u kojih vlada nesklad u kliničkoj slici i imunološkom odgovoru (41). Specifičnost pozitivnog serološkog rezultata potvrđuje se **imunoblot testom** (koristi se rekombinantni borelijski antigen) ili **Western blot** testom (sadrži

većinu ili sve antigene borelije razdvojene elektroforezom). Oba testa daju informaciju na koji antigen/antigene se razvio imunosni odgovor domaćina (37).

6.2.3. INTERPRETACIJA SEROLOŠKIH NALAZA LAJMSKE BORELIOZE

Međunarodno priznati kriteriji za dijagnozu LB temelje se na strogoj interpretaciji rezultata seroloških testova za specifična protutijela na *B. burgdorferi sensu lato* nakon **dvostupanjske dijagnostike**. Nakon **probirnog testiranja** testovima visoke osjetljivosti, ali nešto niže specifičnosti (IFA, EIA, CLIA i dr.), slijedi **potvrđno testiranje** (imunoblot/WB) testovima specifičnosti veće od 95% (39,42). Sve reaktivne i granične rezultate dobivene probirnim testom treba potvrditi, a ako je nalaz potvrđnog test negativan, reaktivne probirne rezultate treba interpretirati kao lažno pozitivne. U endemskim područjima dozvoljena je upotreba **jednog testa** s jako visokom specifičnošću i osjetljivošću (>98%), radi se o testovima koji koriste rekombinantne antigene borelija, na koja se vežu visokospecifična protutijela (32).

Dijagnoza rane LB utemeljena je na kliničkoj slici, detaljnoj anamnezi te epidemioloških podacima, a serološko testiranje klinički suspektne LB je indicirano, izuzev u slučaju jasnog EM (4). Nalaz seroreaktivnih IgM protutijela služi kao marker nedavne ekspozicije, no treba naglasiti da IgM protutijela nisu nužno i marker aktivne infekcije. Katkad, serološki testovi mogu ostati nereaktivni, stoga je potrebno testiranje parnog seruma. U bolesnika s EM ili nespecifičnim znacima ranog stadija bolesti, serološki odgovor može biti slab ili negativan te samo 20-50% bolesnika ima razvijena specifična protutijela klase IgM i/ili IgG. Mogući razlog ovomu može biti prerano uzorkovanje seruma. Suprotno tomu, u kasnoj fazi bolesti imunosni odgovor rijetko izostaje, odnosno većina bolesnika ima specifična IgG protutijela te se protutijela mogu detektirati dugo nakon izlječenja LB. U kasnoj fazi klinički odgovor prati jaka imunološka reakcija koja potvrđuje kliničku sliku (43).

Serološki rezultat u oko 5% zdravih pojedinaca može biti lažno pozitivan. Iz toga razloga treba biti na oprezu, jer dijagnostika temeljena isključivo na serološkim nalazima može kliničara dovesti do krivih zaključaka. Potrebno je istaknuti da se parni serumi bolesnika uvijek moraju testirati istodobno, u istim laboratorijskim uvjetima te da kvantitativni rezultati dobiveni u različitim laboratorijima (dinamika titra) nisu usporedivi. Reaktivan, odnosno lažno pozitivan serološki odgovor zabilježen je u bolesnika s autoimunim bolestima (juvenilni reumatoidni artritis, reumatoidni artritis, SLE) te u EBV ili CMV infekcija (nespecifična aktivacija limfocita B). Također, moguća je i križna reakcija s treponemama, drugim borelijama (*B. recurrentis*, *B. duttonii*, *B. hermsii*), leptospirom (rjeđe), *E. coli*, *Haemophilus* itd. (37,43). Zbog navedenog, rezultate serološkog testiranja uvijek je potrebno interpretirati u skladu s dostupnim epidemiološkim i kliničkim podacima.

6.2.4. SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA NEUROBORELIOZE

Većina bolesnika s akutnom neuroboreliozom (70-90%) ima pozitivna specifična IgM i/ili IgG protutijela. U dijagnostici neuroborelioze veliku važnost ima određivanje indeksa intratekalne sinteze specifičnih protutijela (antibody indeks, AI), odnosno izračun omjera količine protutijela likvora i seruma prema razini ukupnih proteina, albumina ili imunoglobulina iz istih uzoraka likvora i seruma. Razvojem upale, dolazi do limfocitne pleocitoze i narušavanja krvno-moždane barijere (dolazi do njene disfunkcije) te se posljedično poremete i navedeni parametri u likvoru (44, 45). Definiranje AI je važno u postavljanju dijagnoze neuroborelioze, jer raščlanjuje jesu li protutijela u likvoru posljedica pasivne transmisije iz krvi, ili su pak posljedica lokalne sinteze. Katkad, u ranoj fazi NB, specifična protutijela mogu biti pozitivna u likvoru, ali ne i u serumu. Pozitivni AI s tipičnim znacima razvoja upale u likvoru potvrđuju kliničku dijagnozu neuroborelioze (45).

1.1. KOMPLEMENTARNA DIJAGNOSTIKA

Posljednjih godina pojavio se trend postavljanja dijagnoze LB u bolesnika s nizom ozbiljnih, ali nespecifičnih simptoma, temeljem primjene neortodoksnih i nevalidiranih laboratorijskih testova. Različite se alternativne dijagnostičke metode izvode u pojedinim laboratorijima u različitim državama. Jedna od njih je određivanje razine intratekalne produkcije biomarkera kemokina **CXCL13** u dijagnostici neuroborelioze (2, 46). Iako pokazuje visoku korelaciju s LB, zbog nespecifičnosti i pojavnosti biomarkera u drugim infekcijama SŽS-a ovaj test nije standardiziran te se ne koristi rutinski za dijagnostiku LB.

Neki od alternativnih testova, kao što su **test transformacije limfocita** (LTT, engl. lymphocyte transformation test) i **interferon- γ (IFN- γ) ELISPOT test** ispituju aktivaciju staničnog imuniteta nakon stimulacije s *B. burgdorferi* antigenima. LTT mjeri klonsku proliferaciju limfocita T, a ELISPOT test otpuštanje IFN- γ i aktivaciju T-stanica. Obzirom na mnoge čimbenike koji mogu aktivirati proliferaciju limfocita i dovesti do produkcije IFN- γ , niti ovi testovi se ne smatraju specifičnim u dokazivanju LB (47).

Pregled krvi mikroskopiranjem u tamnom polju jedna je od popularnijih metoda koja se može pronaći pretragom Interneta. Atraktivni filmovi prikazuju u uzorcima krvi strukture slične spirohetama čijim se nalazom postavlja dijagnoza LB. Međutim, iz takvih se struktura nikada nisu uspjele izolirati borelije ili dokazati borelijska DNA tj. metoda nije klinički validirana. Vjerojatno se radi o nalazu kolagenih vlakana iz krvi (48).

Dokazivanje **površinske molekule CD57** također je jedna od alternativnih nevalidiranih metoda (4). Ova molekula izražena je na NK stanicama i limfocitima T te obilježava imunološki "stare" stanice koje se mogu pronaći u mnogim patološkim stanjima te stoga nije specifična za LB (48,49).

7. LIJEČENJE

Nakon ugriza krpelja do prijelaza borelija u organizam domaćina dolazi tek nakon 24-48 sati hranjenja krpelja na čovjeku. S ciljem sprječavanja prijenosa krpelja, ako se zamijeti krpelj na koži potrebno ga je izvaditi u što kraćem roku. Prije uklanjanja krpelja, kožu je potrebno dezinficirati alkoholom te koristeći se čistom pincetom uhvatiti krpelja što bliže površini kože, trudeći se uhvatiti krpelja za glavu. U jednom kontinuiranom i brzom potezu, izvaditi krpelja, a nakon uklanjanja krpelja, ponovno očistiti kožu na području ugriza te oprati ruke sapunom.

Ako do prijenosa zaraženog uzročnika ipak dođe, liječenje LB prije svega ovisi o stadiju bolesti. U ranim stadijima bolesti (EM) preporučuje se oralna antibiotska terapija, a kod neuroloških i reumatskih manifestacija bolesti sugerira se primjena parenteralne terapije. Većina LB prolazi asimptomatski, bolest je samoograničavajuća te osobe koje razviju specifična protutijela, ali ne razviju kliničke simptome, ne treba liječiti (21).

U ranim stadijima LB, infekcija se liječi primjenom **amoksicilina** ili **doksiciklina** uzetog oralno tijekom 10-14 dana, iako može i **azitromicinom** kroz pet dana. Primjena terapije pospješuje cijeljenje primarne kožne lezije. U liječenju neuroborelioze primjenjuje se **ceftriakson** kroz 2-4 tjedna. Kao alternativa može se koristiti **cefotaksim** ili čak **kristalni penicilin**. U reumatskim manifestacijama koriste se amoksicilin ili doksiciklin, iako je moguća i primjena ceftriakson i kristalnog penicilina, kroz 14-30 dana. Također, u liječenju karditisa u LB koristi se ceftriakson ili doksiciklin kroz 2-4 tjedna (3,4).

Nakon provedene terapije, neki bolesnici imaju nespecifične simptome u vidu umora, mialgija, artralgija te glavobolja, čak nekoliko mjeseci nakon provedene terapije. U bolesnika s kroničnim manifestacijama LB, uspjeh liječenja je slabiji zbog ireverzibilnog oštećenja tkiva prouzročenih borelijama, koje se ne može izliječiti antibioticima (50).

8. RASPRAVA

Lajmska bolest je antopozoonoza koja ima specifičnu kliničku sliku, karakterističnog tijeka bolesti. Bolest se manifestira čitavim spektrom kliničkih manifestacija, prije svega na koži, živčanom sustavu, srcu i zglobovima (8). Važno je naglasiti da klinička slika osobito varira ovisno o vrsti patogene borelije; tako u Europi, gdje postoji raznovrsnost patogenih vrsta, učestalost pojedinih kliničkih manifestacija varira. Republika Hrvatska je endemsko područje LB, u Zagrebu pozitivnost IgG na boreliju u zdravih ljudi iznosi 8-10%, a na području Koprivnice i više od 40%. Bolest pokazuje sezonski karakter, koji ponajviše ovisi o aktivnosti vektora - krpelja, dijapauzi, aktivnosti izletnika te drugim čimbenicima (4).

Poznavanje kliničkih i epidemioloških osobitosti LB pridonosi pravovremenom prepoznavanju kliničkih manifestacija bolesti, što omogućava da se na vrijeme započne s odgovarajućom antibiotskom terapijom. Ako bolest ostaje neliječena, povećava se mogućnost diseminacije te razvoja kroničnih stadija bolesti (1,21). Također, bazična saznanja o patogenezi bolesti omogućuju razumijevanje određenih kliničkih zapažanja. Osim standardne antibiotske terapije, značajne su i mjere prevencije bolesti, koje se primarno odnose na izbjegavanje endemičnih područja u sezonskom dijelu godine (topliji dio godine), nošenje zaštitne odjeće i primjenu repelenata, kao i redovitu provjeru tijela nakon izlaganja u prirodi (8).

Dijagnostika LB je kompleksna i zahtjevna te mora biti zasnovana na stručnom i integriranom pristupu koji uključuje razmatranje kliničke slike, epidemiološke podatke i obično serološku dijagnostiku. Iako mikrobiološke metode za dijagnostiku LB, mogu biti izravne (mikroskopija, PCR) i neizravne (serološke metode) niti jedna od metoda nije potpuno osjetljiva i specifična (3). Dijagnostika LB utemeljena je na **dvostupanjskom testiranju probirnim i potvrđnim serološkim testovima** i praćenju dinamike titra specifičnih protutijela (32). Stvaranje specifičnih protutijela dinamičan je i složen proces, koji se bazira na interakciji imunskog

sustava domaćina i borelija. Za donošenje odluke o dijagnozi i terapiji LB važno je analizirati i poznavati geografsku i vremensku distribuciju bolesti, kliničku sliku bolesti te problem sagledati diferencijalno dijagnostički. Pri tom kliničar mora paziti kako ne bi umanjio važnost dijagnoze, odnosno podlegao terminu "underdiagnosis"; katkad EM može nalikovati na ugriz pauka, radikulopatiju uzrokovanu LB-om može zamaskirati sumnja na hernijaciju diska, limfocitni meningitis zamijeniti virusnim i sl.

Simptomi LB preklapaju se sa simptomima drugih zaraznih i nezaraznih bolesti. Posljednjih godina postoji trend postavljanja dijagnoze borelioze osobama s nizom ozbiljnih, ali nespecifičnih simptoma, služeći se pri tom alternativnim, nevalidiranim laboratorijskim testovima. Primjena klinički nevalidiranih testova ili nerelevantno tumačenje rezultata omogućavaju manipulaciju nalazima od strane needuciranih, samopozvanih stručnih osoba te zavode bolesnika u pogrešnom smjeru. Često prisutna fiksacija bolesnika na LB, neutemeljena na znanosti i vođena nestručnim podacima s Interneta te izostanak postavljanja dijagnoze od strane stručne osobe, odgađaju pravovremeno postavljanje dijagnoze, čime bolest progredira i razvijaju se komplikacije. Dakle, dijagnostika LB i primjena ciljane terapija moraju biti utemeljeni na stručnoj mikrobiološkoj dijagnostici, kliničkoj slici te pravilnoj interpretaciji nalaza, izvedenoj od strane stručne osobe.

9. ZAKLJUČCI

- Lajmska borelioza je antropozoonoza, uzrokovana bakterijom *B. burgdorferi*, a na čovjeka se prenosi ugrizom šumskog krpelja (kompleks *Ixodes ricinus*)
- Patogeneza LB nije u potpunosti razjašnjena, ali je poznato da u razvoju bolesti ulogu ima patogenost same bakterije, a kliničke manifestacije bolesti posljedica su imunološkog odgovora domaćina.
- Tri su glavna stadija bolesti: rani lokalizirani, rani diseminirani i kasni (kronični stadij).
- LB može se manifestirati različitim kliničkim znakovima i simptomima, ali najznačajnija je patognomonična kožna promjena, koja se naziva *erythema migrans*.
- Dijagnoza LB postavlja se na temelju kliničke slike, epidemioloških podataka i mikrobiološke dijagnostike.
- Serološki testovi, zlatni su standard u postavljanju dijagnoze LB, ali nisu uvijek pouzdani u ranim stadijima bolesti.
- Važno je pravovremeno prepoznati i dijagnosticirati LB, kako bi se provela adekvatna antibiotska terapija te spriječilo napredovanje bolesti u kasne stadije.

10. SAŽETAK

Borrelia burgdorferi uzročnik je lajmske bolesti (LB) te pripada koljenu spiroheta. Visoko je invazivna bakterija prilagođena krpeljima i sisavcima. Patogeneza LB nije u potpunosti razjašnjena, ali ovisi o pokretljivost i citotoksičnost bakterije, antigenskoj varijabilnosti i imunološkom odgovoru domaćina. Klinička slika LB se dijeli na rani lokalizirani stadij, rani diseminirani stadij te kasni stadij. Erythema migrans (EM), ujedno i patognomoničan znak LB, je najčešća manifestacija u ranom stadiju bolesti, dok se u kasnijim stadijima javljaju neurološki simptomi, srčane manifestacije i artritis. Dijagnostika lajmske bolesti (LB) uključuje različite mikrobiološke metode u otkrivanju uzročnika, a dijeli se na izravne i neizravne metode. Izravne metode uključuju kultivaciju, mikroskopiju i PCR, dok su neizravne metode utemeljene na serološkom testiranju. PCR je brza dijagnostička metoda, ali ne može razlikovati akutnu od kronične infekcije. Serološki testovi detektiraju protutijela IgM i IgG u krvi, likvoru i sinovijalnoj tekućini. Serološka dijagnostika se provodi u dva koraka. Nakon primjene osjetljivih probirnih (EIA, IFA, CLIA i dr.) testova, reaktivni se rezultati potvrđuju potvrdnim visokospecifičnim imunoblot/Western blot testom. Serološki testovi imaju zadovoljavajuću osjetljivost i specifičnost, no interpretacija ovisi o kvaliteti testova i kliničkim podacima. U dijagnostici LB kombinira se klinička slika s laboratorijskim testovima te integracija različitih metoda osigurava pravodobno postavljanje dijagnoze i pravovremeno liječenje. Liječenje lajmske bolesti ovisi o stadiju bolesti. U ranim stadijima, koriste se oralni antibiotici tijekom 10-14 dana, dok se neurološke i reumatske manifestacije liječe primjenom parenteralnih antibiotika tijekom 2-4 tjedna.

Ključne riječi: *Borrelia burgdorferi*, borelioza, Lajmska bolest, serološka dijagnostika

11. SUMMARY

Borrelia burgdorferi is the causative agent of Lyme disease (LB) and belongs to the spirochete phylum. It is a highly invasive bacterium, adapted to ticks and mammals. The pathogenesis of LB is not fully understood but depends on the bacterium's motility, its cytotoxicity, its antigenic variability, and the host immune response. The clinical presentation of LB is divided into early localized, early disseminated, and late stages. Erythema migrans (EM), which is also a pathognomonic sign of LB, is the most common manifestation in the early stage, while neurological symptoms, cardiac manifestations, and arthritis occur in later stages. Diagnosis of LB involves various microbiological methods to detect the causative agent, categorized as direct and indirect methods. Direct methods include cultivation, microscopy, and PCR, while indirect methods are based on serological testing. PCR is a rapid detection method but cannot differentiate between acute and chronic infections. Serological tests detect antibodies (IgM and IgG) in blood, cerebrospinal fluid, and synovial fluid. A two-step testing process for LB is currently recommended. The most commonly screening tests are EIA, IFA and CLIA followed by confirmatory immunoblot/Western Blot test. Serological tests have satisfactory sensitivity and specificity, but interpretation depends on the test quality and clinical data. LB diagnosis combines clinical presentation with laboratory tests, and integration of different methods ensures timely diagnosis and treatment. Treatment of LB depends on the disease stage. In early stages, oral antibiotics are used for 10-14 days, while neurologic and rheumatic manifestations are treated with parenteral antibiotics for 2-4 weeks.

Key words: *Borrelia burgdorferi*, borreliosis, Lyme disease, serology

12. LITERATURA

1. Kalenić S i sur. Medicinska mikrobiologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2019
2. Đaković Rode O. Lyme boreliozna – dijagnostika. Paediatr Croat 2011; 55: 57-66
3. Uzunović-Kamberović S. Medicinska mikrobiologija. Zenica: Štamparija Fojnica d.o.o.; 2009
4. Begovac J i sur. Klinička infektologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2019
5. Krajinović V, Krajinović L. Krpeljima prenosive bolesti – globalna prijetnja zdravlju. Medix. 2018;135:332-40
6. Haddad V, Haddad MR, Santos M, Cardoso JLC. Skin manifestations of tick bites in humans. 2018; 93(2): 251–255. doi: 10.1590/abd1806-4841.20186378
7. Schwan TG, Piesman J, Golde WT, Dolan MC, Rosa PA. Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92:2909-13. doi: 10.1073/pnas.92.7.2909
8. Stanek G, Strle F, Gray J, Wormser GP. History and characteristics of Lyme borreliosis. In: Gray J, Kahl O, Lane RS, Stanek G, ed. Lyme borreliosis - Biology, epidemiology and control: CAB International, 2002: 1-28. doi: 10.3201/eid1003.030686
9. Zajkowska JM, Hermanowska-Szpakowicz T. New aspects of the pathogenesis of Lyme disease. Przegl Epidemiol 2002; 1: 57-67.
Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12194230/>
10. Shin OS. Insight into the Pathogenesis of Lyme Disease: J Bacteriol Virology 2014; 44: 10-22. Dostupno na : <http://dx.doi.org/10.4167/jbv.2014.44.1.10>
11. Behera AK, Thorpe CM, Kidder JM, Smith W, Hildebrand E, Hu LT. *Borrelia burgdorferi*-induced expression of matrix metalloproteinases from human chondrocytes requires mitogen-activated protein kinase and Janus kinase/signal transducer and

- activator of transcription signaling pathways. *Infect Immun* 2004; 72:2864-71. doi: 10.1128/IAI.72.5.2864-2871.2004
12. Ma Y, Weis JJ. *Borrelia burgdorferi* outer surface lipoproteins OspA and OspB possess B-cell mitogenic and cytokine-stimulatory properties. *Infect Immun* 1993; 61:3843-53. doi: 10.1128/iai.61.9.3843-3853.1993
13. Hirschfeld M, Kirschning CJ, Schwandner R, Wesche H, Weis JH, Wooten RM, et al. Cutting edge: inflammatory signaling by *Borrelia burgdorferi* lipoproteins is mediated by toll-like receptor 2. *J Immunol* 1999; 163:2382-6. Dostupno na: <https://journals.aai.org/jimmunol/article/163/5/2382/32753/Cutting-Edge-Inflammatory-Signaling-by-Borrelia>
14. Cervantes JL, La Vake CJ, Weinerman B, Luu S, O'Connell C, Verardi PH, et al. Human TLR8 is activated upon recognition of *Borrelia burgdorferi* RNA in the phagosome of human monocytes. *J Leukoc Biol* 2013;94:1231-41. doi: 10.1189/jlb.0413206
15. Cervantes JL, Dunham-Ems SM, La Vake CJ, Petzke MM, Sahay B, Sellati TJ, et al. Phagosomal signaling by *Borrelia burgdorferi* in human monocytes involves Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR8 cooperativity and TLR8-mediated induction of IFN-beta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:3683-8. doi: 10.1073/pnas.1013776108
16. Petzke MM, Brooks A, Krupna MA, Mordue D, Schwartz I. Recognition of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease spirochete, by TLR7 and TLR9 induces a type I IFN response by human immune cells. *J Immunol* 2009;183:5279-92. doi: 10.4049/jimmunol.0901390
17. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int Rev Immunol* 2011;30: 16-34. doi: 10.3109/08830185.2010.529976

18. Zajkowska JM, Hermanowska-Szpakowicz T, Pancewicz SA, Kondrusik M. Selected aspects of immuno-patho-genesis in Lyme disease. *Pol Merkur Lekarski*. 2000; (50): 579–583. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11081331/>
19. Mullegger RR, Glatz M. Skin manifestations of lyme borreliosis: diagnosis and management. *Am J Clin Dermatol*. (2008) 9:355–68. doi: 10.2165/0128071-200809060-00002
20. Sharma A, Guleria S, Sharma R, Sharma A. Lyme disease: a case report with typical and atypical lesions. *Indian Dermatol Online J*. 2017;8:124–7. doi: 10.4103/2229-5178.202271
21. Strle F. Principles of the diagnosis and antibiotic treatment of Lyme borreliosis. *Wien Klin Wochenschr* 1999; 111: 911-5.
Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10666801/>
22. Pauluzzi P, Bonin S, Gonzalez Inchaurreaga MA, Stanta G, Trevisan G. Detection of spirochaetal DNA simultaneously in skin biopsies, peripheral blood and urine from patients with erythema migrans. *Acta Derm Venereol* 2004;84:106–10. doi: 10.1080/00015550310006815
23. Maraspin V, Nahtigal Klevisar M, Ružić-Sabljić E, Lusa L, Strle F. Borrelial lymphocytoma in adult patients. *Clin Infect Dis*. 2016;63:914-21. doi: 10.1093/cid/ciw417
24. Arnez M, Pleterski-Rigler D, Luznik-Bufon T, Ružić-Sabljić E, Strle F. Solitary and multiple erythema migrans in children: comparison of demographic, clinical and laboratory findings. *Infection* 2003; 31: 404-9. doi: 10.1007/s15010-003-4007-3
25. Zekan Š, Himbele M. Neuroborelioza - prikaz bolesnika liječenih u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu od 1996- *Infektol glasnik* 2002; 22: 57-64.

26. Marques AR. Lyme Neuroborreliosis. *Continuum (Minneapolis, Minn)*. 2015;21(6 Neuroinfectious Disease):1729-1744. doi:10.1212/CON.0000000000000252
27. Halperin JJ. Nervous system Lyme disease. *Infect Dis Clin North Am*. 2015; 29:241–53. doi: 10.1016/j.idc.2015.02.002
28. Huppertz HI, Sticht-Groh V. Meningitis due to *Borrelia burgdorferi* in the initial stage of Lyme disease. *Eur J Pediatr*. 1989;148:428–30. doi: 10.1007/BF00595904
29. *Wien Klin Wochenschr*. Principles of the diagnosis and antibiotic treatment of Lyme borreliosis. 1999;10;111(22-23):911-5.
Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10666801/>
30. Edwards L, Hoshaw RA, Burgdorf WH. Acrodermatitis chronica atrophicans. *Arch Dermatol*. 1992;128(6):858-860.
31. Trevisan G, Bonin S, Ruscio M. A Practical Approach to the Diagnosis of Lyme Borreliosis: From Clinical Heterogeneity to Laboratory Methods. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:265.
32. Eldin C, Raffetin A, Bouiller K, et al. Review of European and American guidelines for the diagnosis of Lyme borreliosis. *Med Mal Infect*. 2019;49(2):121-32. doi: 10.1016/j.medmal.2018.11.011
33. Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I, Wormser GP. Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev*. 2005; 18:484–509. doi: 10.1128/CMR.18.3.484-509.2005
34. Cerar T, Ruzic-Sabljić E, Glinšek U, Zore A, Strle F. Comparison of PCR methods and culture for the detection of *Borrelia* spp. in patients with erythema migrans. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14:653–8. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02013.x

35. Robertson J, Guy E, Andrews N, Wilske B, Anda P, Granstrom M, et al. A European multicenter study of immunoblotting in serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:2097–102. doi: 10.1128/.38.6.2097-2102.2000
36. Wilske B. Microbiological diagnosis in Lyme borreliosis. *Int J Med Microbiol* 2002; 291 (33): 114-9. doi: 10.1016/s1438-4221(02)80022-4
37. Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007;49(1):13-21. doi: 10.1111/j.1574-695X.2006.00139.x
38. Stanek G, Strle F. Lyme borreliosis-from tick bite to diagnosis and treatment. *FEMS Microbiol Rev.* 2018;42(3):233-58. doi: 10.1093/femsre/fux047
39. Theel ES. The Past, Present, and (Possible) Future of Serologic Testing for Lyme Disease. *J Clin Microbiol.* 2016;54(5):1191-6. doi: 10.1128/JCM.03394-15
40. Peltomaa M, McHugh G, Steere AC. Persistence of the antibody response to the VlsE sixth invariant region (IR6) peptide of *Borrelia burgdorferi* after successful antibiotic treatment of Lyme disease. *J Infect Dis.* 2003; 187:1178–86. doi: 10.1086/374376
41. Robertson J, Guy E, Andrews N, Wilske B, Anda P, Granstrom M, et al. A European multicenter study of immunoblotting in serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2097–102. doi: 10.1128/.38.6.2097-2102.2000
42. Waddell LA, Greig J, Mascarenhas M, Harding S, Lindsay R, Ogden N. The Accuracy of Diagnostic Tests for Lyme Disease in Humans, A Systematic Review and Meta-Analysis of North American Research. *PLoS One.* 2016;11(12):e0168613
43. Linden Hu, MD. Diagnosis of Lyme disease. 2023.
Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/diagnosis-of-lyme-disease>

44. Rauer S, Kastenbauer S, Fingerle V, Hunfeld KP, Huppertz HI, Dersch R. Lyme Neuroborreliosis. *Dtsch Arztebl Int.* 2018; 115(45):751-6. doi:10.3238/arztebl.2018.0751
45. Rauer S, Kastenbauer S, Hofmann H, et al. Guidelines for diagnosis and treatment in neurology - Lyme neuroborreliosis. *Ger Med Sci.* 2020;18:Doc03. doi:10.3205/000279
46. Cerar T, Ogrinc K, Lotric-Furlan S, et al. Diagnostic value of cytokines and chemokines in Lyme neuroborreliosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2013;20(10):1578-84. doi: 10.1128/CVI.00353-13
47. Jin C, Roen DR, Lehmann PV, Kellermann GH. An Enhanced ELISPOT Assay for Sensitive Detection of Antigen-Specific T Cell Responses to *Borrelia burgdorferi*. *Cells.* 2013;2(3):607-20. doi: 10.3390/cells2030607
48. Raffetin A, Saunier A, Bouiller K, et al. Unconventional diagnostic tests for Lyme borreliosis: a systematic review. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26(1):51-9. doi: 10.1016/j.cmi.2019.06.033
49. Nielsen CM, White MJ, Goodier MR, Riley EM. Functional Significance of CD57 Expression on Human NK Cells and Relevance to Disease. *Front Immunol.* 2013;4:422. doi: 10.3389/fimmu.2013.00422
50. European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis E. Treatment of Lyme Borreliosis in Europe. 2010. Dostupno na: http://meduni09.edis.at/eucalb/cms/index.php?option=com_content&task=view&id=44&Itemid=74

13. ŽIVOTOPIS

Autorica ovog preglednog diplomskog rada je Matea Galetić, rođena 31. prosinca 1997. godine, u Zagrebu, u Republici Hrvatskoj. Nakon završene Osnovne škole Sveta Nedjelja, upisuje Gimnaziju Lucijana Vranjanina u Zagrebu, opći smjer. Srednju školu završava 2016./2017. akademske godine. Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci upisuje 2017/2018 akademske godine.