

Abstrakt

Lymeská borelióza je multisystémové onemocnění postihující kůži, klouby, srdce a centrální nervovou soustavu. Onemocnění způsobují spirochéty patřící do komplexu *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Tyto bakterie jsou přenášeny klíšťaty rodu *Ixodes*. V roce 2016 bylo v České republice evidováno téměř 4000 nově nakažených osob. Současná sérologická diagnostika Lymeské boreliózy není dostatečně senzitivní ani specifická a nekoreluje s patologií onemocnění v časně ani v pozdní fázi. Pro správnou diagnostiku onemocnění je nezbytné detekovat patogena spolu s jeho genotypem.

Z tohoto důvodu jsme se zaměřili na dva cíle. Metodou digital droplet PCR (ddPCR) jsme detekovali boreliovou DNA spolu s boreliovým genotypem. Byl stanoven detekční limit detekce boreliové DNA ve vzorcích gDNA izolovaných z klíšťat. Detekční limit se při počátečním množství 1 ng gDNA v reakci pohybuje v řádu 10^{-17} g specifické boreliální DNA. Boreliová koinfekce byla detekována v 5 z 12 testovaných vzorků. Nejvíce zastoupeným druhem byla *B. garinii*, jejíž přítomnost jsme detekovali v 5 vzorcích. Na základě publikovaných sekvencí genů pro virulentní faktory byly navrženy specifické primery do konzervovaných úseků genů pro PCR tak, abychom amplifikovali jejich variabilní segmenty. Genová variabilita bude následně monitorována pomocí sekvenace.

Alternativou k současné klinické diagnostice Lymeské boreliózy jsou degranulační testy. Ty se již pro detekci jiných patogenů používají. Proto jsme se zaměřili na otestování buněčné degranulace vyvolané boreliovými virulentními faktory. Nepodařilo se nám optimalizovat pozitivní kontrolu aktivace buněk, proto jsme nezískali žádná hodnotitelná data.

Klíčová slova: Lymeská borelióza, boreliální koinfekce, virulentní faktory, digital droplet PCR, detekční limit, genová konzervovanost, genová variabilita, buněčná degranulace