

Detekce DNA *Borrelia burgdorferi* sensu lato pomocí real-time PCR

Bolehovská R.¹, Plíšková L.¹, Plíšek S.², Čermáková Z.³, Honegr K.², Palička V.¹

¹*Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF a FN Hradec Králové*

²*Klinika infekčních nemocí LF a FN Hradec Králové*

³*Ústav klinické mikrobiologie LF a FN Hradec Králové*

SOUHRN

Cíl práce: 1. zavedení, optimalizace a validace polymerázové řetězové reakce v reálném čase pro detekci DNA borélií včetně kontroly přítomnosti inhibitorů DNA polymerázy; 2. shrnutí dosavadních výsledků získaných pomocí zavedené metody.

Materiál a metody: Izolace DNA byla prováděna pomocí komerčního kitu MagNA Pure Isolatín Kit III (Bacteria, Fungi) na automatickém izolačním přístroji MagNA Pure LC firmy Roche. Metoda byla koncipována jako multiplex real-time PCR s amplifikací DNA borélií a koamplifikací inhibiční kontroly v jedné zkumavce.

Výsledky: Zavedená metoda byla plně optimalizována, validována a následně použita pro vyšetření 1822 materiálů, z toho 1151 likvorů, 609 krví a 62 jiných materiálů. Pouze 17 vzorků bylo pozitivních a 4 vzorky vykazovaly přítomnost inhibitorů DNA polymerázy.

Závěr: Námi zavedená a validovaná metoda je velice rychlá, citlivá a specifická pro detekci DNA borélií. Přesto v diagnostice lymeské boreliózy není vždy stoprocentně spolehlivá a klinická korelace, stejně jako u jiných metod, není uspokojivá.

Klíčová slova: lymeská borelióza, real-time PCR, validace, primery, biologické materiály, kontrola kvality.

SUMMARY

Bolehovská R., Plíšková L., Plíšek S., Čermáková Z., Honegr K., Palička V.: Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato DNA by real-time PCR

Objective: The aims of our work were to introduction, optimization and validation of real-time PCR for detection *Borrelia* DNA including control of DNA polymerase inhibitors presence and summary of the results obtained by the new method.

Material and methods: DNA was isolated by commercial kit MagNA Pure Isolatín Kit III (Bacteria, Fungi) on automatic isolation instrument MagNA Pure LC (Roche). The method is created as multiplex real-time PCR with *Borrelia* DNA amplification and co-amplification of inhibitor control in one tube.

Results: Established method was optimised, validated and then used for analysis of 1,822 biological materials, of it 1,151 cerebrospinal fluids, 609 blood samples and 62 other biological samples. Only 17 samples were positive and 4 samples contained inhibitors of DNA polymerase.

Conclusion: The established and validated method is very fast, sensitive and specific for detection of *Borrelia* DNA. In spite of, Lyme borreliosis diagnostics is not always unimpeachable and clinical correlation is not satisfactory as well as other methods.

Key words: Lyme borreliosis, real-time PCR, validation, primers, biological materials, quality control.