

Intratekální syntéza protilátek proti *Borrelia burgdorferi* s.l.

Kazuistiky

V. Král & al.

Centrum imunologie a mikrobiologie

Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem

Imunitní systém a CNS

- ✓ Mnohaleté paradigma imunologů – „CNS je imunitně privilegované prostředí“; kompartmentace organismu/imunity
- ✓ Historie: pokusy P. Ehrlicha na konci 19. stol. s vitálními barvivy, později obdobně Edwin Goldman
- ✓ Osobní vzpomínka: přelom 70.–80. let 20. stol., MBÚ ČSAV, prof. Šterzl: „...neprostupnost HEB není absolutní, je to otázka časového faktoru..“
- ✓ *Váhavý přístup ke stanovení ITS specifických protilátek v UL*

Prostup lymfocytů přes HEB

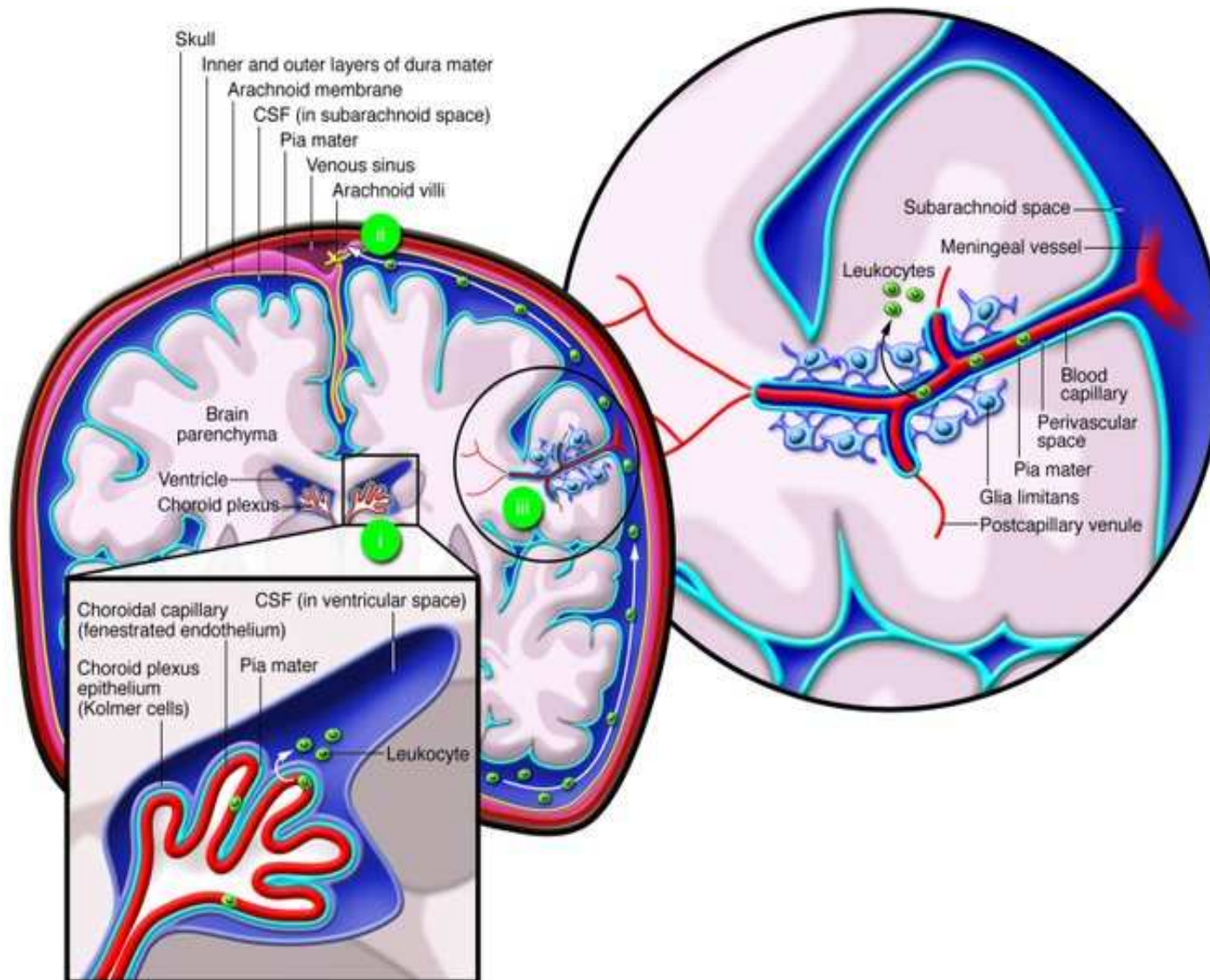
(okolo r. 2000)

- **T lymfocyty:** pouze aktivované buňky překonávají HEB prostupem BMVEC (brain microvessel endothelial cells).

Nebyl prokázán vliv antigenu, MHC kompatibility nebo imunofenotypu. Není-li rozpoznán spec. Ag (24–48 hod), dochází k eliminaci

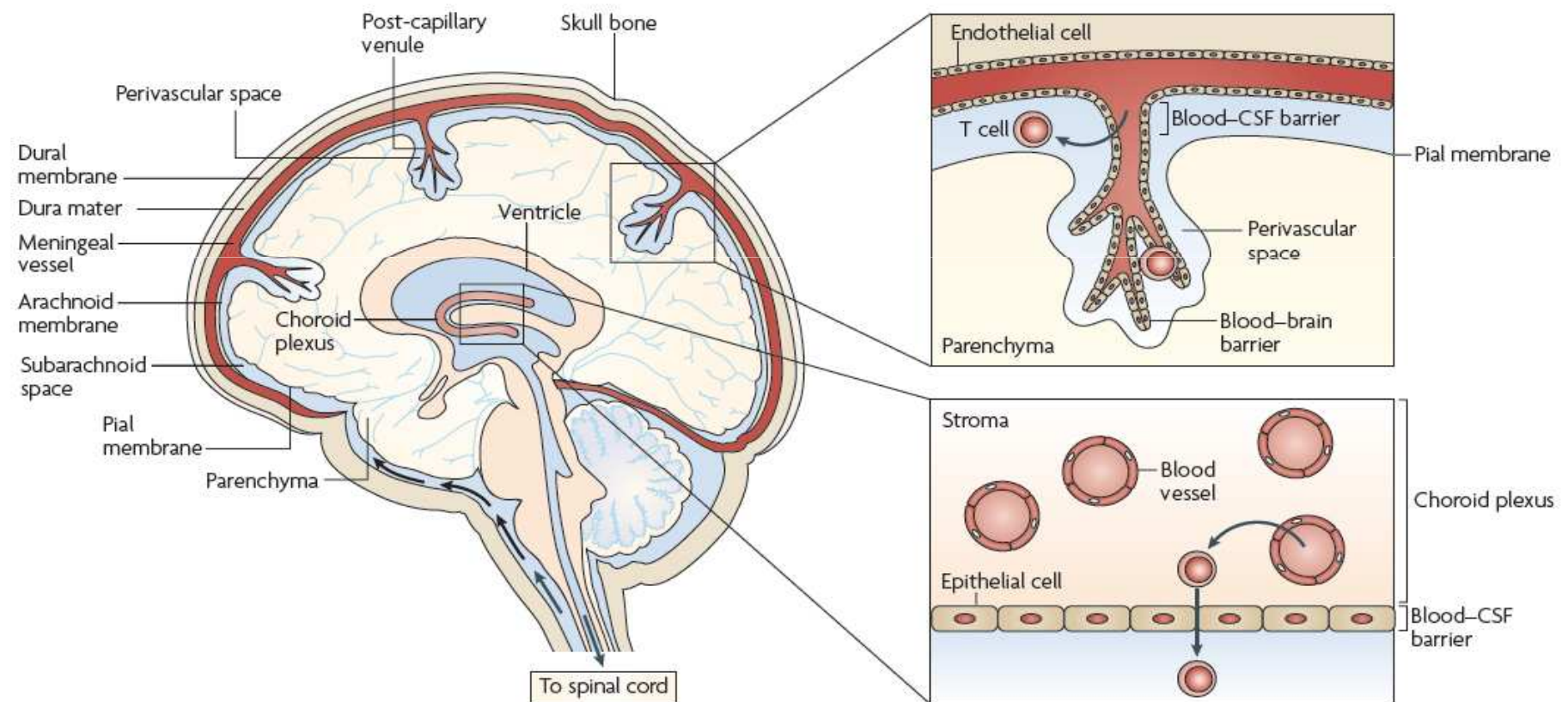
- **B lymfocyty:** minimum poznatků, exp. studie (Borna disease, potkani) – ve stadiu chronické infekce docházelo k prostupu B ly do parenchymu CNS, prokázána syntéza Ab při neporušenosti HEB

Leukocyty / lymfocyty v CNS



Na rozdíl od leukocytů resp. T lymfocytů přetrvávají nejasnosti o molekul. mechanismu přestupu B buněk přes HEB, (*JCI, 2010, No.5*)

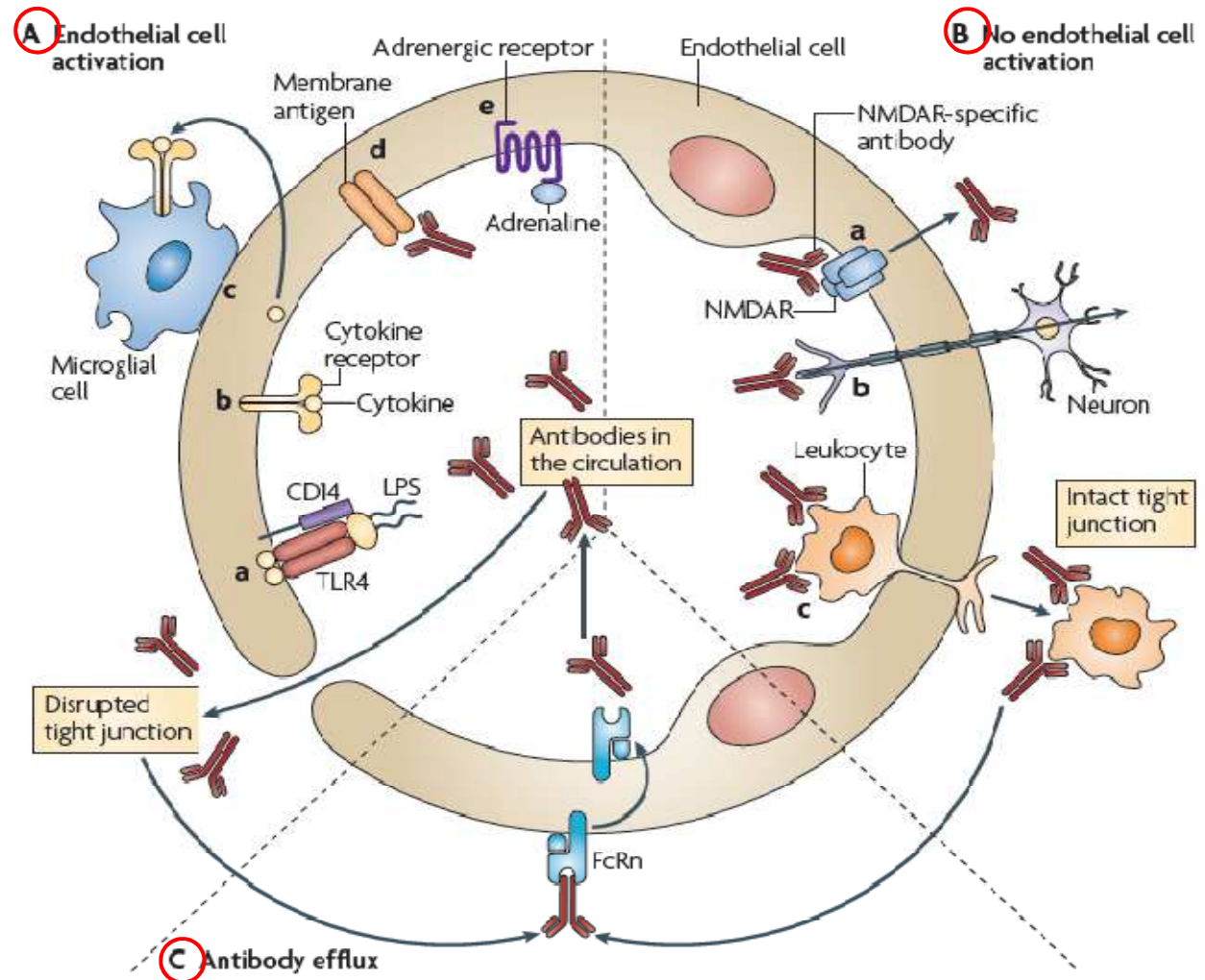
T a B lymfocyty v CNS – úloha adhezních molekul a chemokinů



Nat. Rev. Immunol., 9 (2009)

Mechanismy regulující pohyb protilátek přes HEB

- A. Aktivace endotelu
- B. Endocytóza receptorů (Trf, NMDAR, transendotel. migrace)
- C. Neonatální FcR

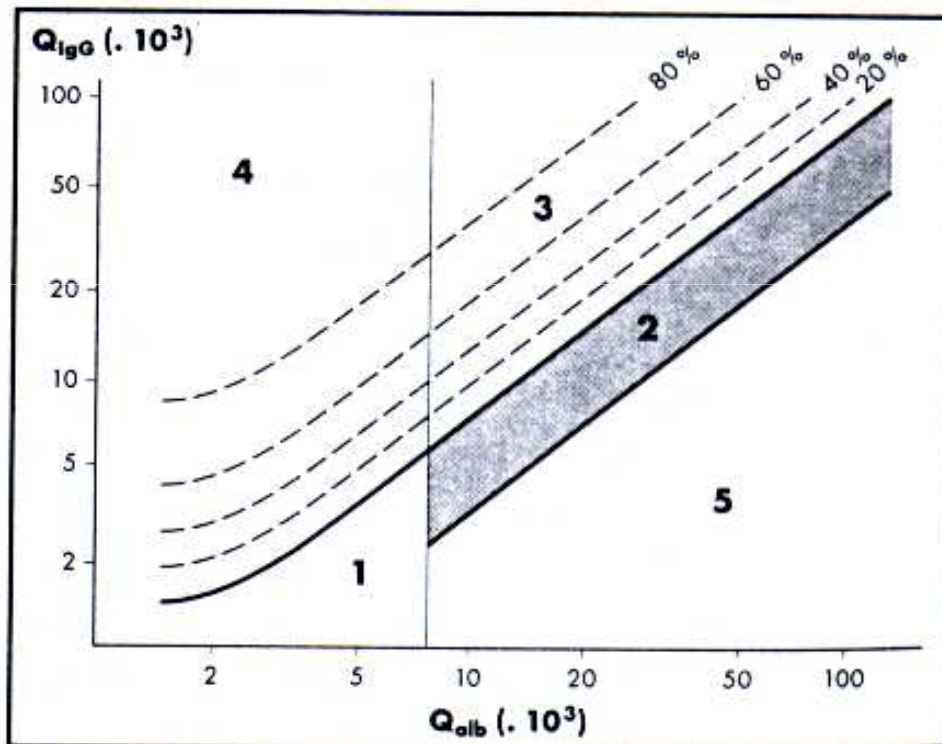


(Nat.Rev.Immunol., 2010)

Intratekální syntéza protilátek (ITS) vs. syntéza protilátek v organizmu

- Váznoucí přesmyk IgM–IgG
(vliv cytokinového prostředí?)
- Paralelní syntéza Ig izotypů (především IgM, IgG) – využití testů avidity protilátek (?)
- Dlouhodobý charakter ITS, „neúplná“ idiotypová síť (?)

Reiberův diagram k posouzení funkce HEB a ITS imunoglobulinů



1. Normální nález
2. Izolovaná porucha HEB
3. Porucha HEB s intratekální syntézou Ig
4. Izolovaná intratekální syntéza Ig
5. Odběrové či analytické chyby

LSQrel.

Euroimmun

< 1,3

1,3 – 1,5

> 1,5

Interpretace

Normální hodnoty

Hraniční hodnoty

Produkce specifických
protilátek v CNS

LSQrel.

CIM ZUUL

< 1,5

1,5 – 2,0

> 2,0

Stanovení LSQ (Euroimmun) pouze u hodnot
>20 U/ml v séru a >5 U/ml v likvoru

Nejčastější indikace stanovení ITS protilátek proti *B.burg. s.l.*

- ddg. neuroborelióza
- ddg. RS (demyelinizace)
- diagnostika dle anamnézy a klinického stavu (parézy, paraparézy, závratě, Bellova obrna)

Nabídka souprav pro stanovení ITS specifických protilátek v likvoru (fa Euroimmun)

Borrelia PLUS VlsE IgG

Borrelia IgM

TBE virus IgG

TBE virus IgM

Treponema pallidum IgG

Rubella virus IgG

Measles virus IgG

Varicella zoster virus (VZV) IgG

MRZ

Cytomegalovirus (CMV) IgG

Epstein-Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG

Herpes simplex virus (HSV-1 / 2 Pool) IgG

Herpes simplex virus 1 (HSV-1) IgG

Herpes simplex virus 2 (HSV-2) IgG

Mumps virus IgG

Toxoplasma gondii IgG

Diagnostické skupiny

1. Neuroborelióza
2. Bellova obrna
3. Borelióza a další infekce
4. Autoimunita x borelióza
5. Borelióza u RS

Diagnostické skupiny

1. Neuroborelióza
2. Bellova obrna
3. Borelióza a další infekce
4. Autoimunita x borelióza
5. Borelióza u RS

1. Neuroborelióza

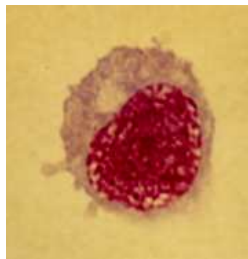
(1 / 1)

Muž, P.Č., 68 let, hosp. na neurologii

Důvod vyšetření: hospitalizace pro bolesti zad, první LP: suspektní aseptická meningitida

- **Sérum:**
Borrelia sp. IgM ELISA N IgG ELISA **241,6** RU/ml
Borrelia sp. IgM WB N IgG WB **P**
Ig, zánětlivé markery: v normě

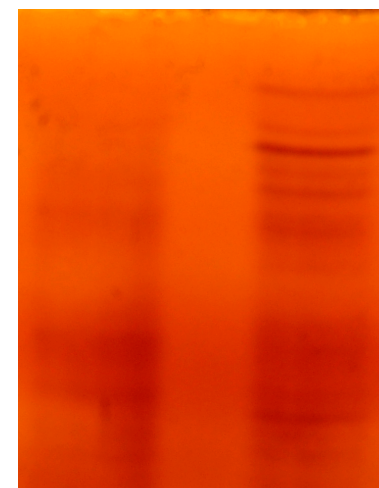
- **Likvor:**
Qalb: **40,7** (výrazně zvýšená)
IEF: **18/8** ITS IgG, IgM a IgA dle Reibera: **P**
VLŘK: **37,7** mg/L



KEB: **24,6** zánětlivé markery výrazně zvýšené, CRP v normě
Borrelia sp. IgM WB **P** IgG WB **P**
LSQrel. IgM **15,1** LSQrel. IgG **0,2**
Borrelia b. s.l. DNA: **pozitivní**

- **Cytologie CSF:** Leu **720/3**, lymfocytární pleiocytóza, plazmatické buňky, známky tkáňové destrukce

- **Závěr:** **neuroborelióza**
(klinický závěr v souladu se závěrem laboratoře)



1. Neuroborelióza

(2/1)

Žena, L.K., 35 let, hosp. infekční odd.

Důvod vyšetření: bolesti krční páteře, po trakci nemohla otevřít ústa a levé oko, periferní paréza n. VII. l. sin.

- **Sérum:**
Borrelia sp. IgM ELISA **6,6** IgG ELISA **112,3** RU/ml
Borrelia sp. IgM WB **P** IgG WB **P**
(Protilátkový profil časně fáze infekce – VlsE)
Borrelia b. s.l. DNA: negativní
- **Likvor:**
Q alb: **9,1** (mírně zvýšená)
ITS IgM a IgG dle Reibera **P**
KEB **27,7** zánětlivé markery ?
Cytologie: **264/3** (*orientačně, jiné pracoviště*)
Borrelia sp. LSQrel. IgM **3,6** LSQrel. IgG **3,7**
Borrelia b. s.l. DNA: negativní
- **Závěr:** **neuroborelióza s parézou n. VII**
(klinický závěr v souladu se závěrem laboratoře)

1. Neuroborelióza

(3/1)

Muž, O.V., 37 let, hosp. infekční odd.,

Důvod vyšetření: v.s. poštípání hmyzem, klíště neguje, 2t bolesti kloubů a za krkem, pozitivní protilátky proti boreliím

- **Sérum:** Borrelia sp. IgM ELISA **8,8** IgG ELISA **114,7** RU/ml
Borrelia sp. IgM WB **P** IgG WB **P**

(Protilátkový profil časně fáze infekce - VlsE)

Borrelia b. s.l. DNA: negativní

- **Likvor:** Qalb: **27,6** (výrazně zvýšená) ,
IEF: **2/0**, ITS **IgM a IgG** dle Reibera **P**, VLŘK **8,47**mg/L
KEB **21,7** zánětlivé markery ?
Borrelia sp. LSQrel. IgM **1,1** LSQrel. IgG **2,1**
Borrelia b.s.l. DNA: negativní

- **Cytologie:** **576/3**, lymfocytární pleiocytóza, plazmatické buňky, pěníte buňky

- **Závěr:** **neuroborelióza, akutní meningoencefalitida**

(klinický závěr v souladu se závěrem laboratoře)

Diagnostické skupiny

1. Neuroborelióza
2. Bellova obrna
3. Borelióza a další infekce
4. Autoimunita x borelióza
5. Borelióza u RS

2. Bellova obrna

(1/2)

Chlapec, J.K., 11 let, hosp. dětské odd.

Důvod vyšetření: periferní paréza n. facialis l. dx., klíště v anamnéze

- **Sérum:**
Borrelia sp. IgM ELISA **1,7** IgG ELISA **117,7** RU/ml
Borrelia sp. IgM WB N IgG WB P
(Protilátkový profil časně fáze infekce - VlsE)
- **Likvor:**
Qalb: **16,1** (zvýšená)
ITS IgM dle Reibera – P
KEB ? zánětlivé markery ? Cytologie ?
Borrelia sp. LSQrel. IgM **26,3** LSQrel. IgG **2,6**
Borrelia sp. IgM WB P IgG WB P
- **Závěr:** **klinický: není k dispozici**
laboratorní: v.s. neuroborelióza

2. Bellova obrna

(3/2)

Dívka, A.K., 9 let

Důvod vyšetření: paréza n. facialis l.sin., zpočátku febrilní průběh, vážnutí šíje, úvaha i o jiné etiologii než boreliové

- Sérum:

Borrelia sp. IgM ELISA	1,4	IgG ELISA	68,6 RU/ml
Borrelia sp. IgM WB	P	IgG WB	P

(Ab profil časně fáze infekce - VlsE)
Borrelia b. DNA: negativní
- Likvor:

Qalb: 14,1 (mírně zvýšená)
ITS dle Reibera – N
KEB ? zánětlivé markery ? cytologie?
Borrelia sp. LSQrel. IgM 6,1 LSQrel. IgG 0,7
Borrelia b. DNA: **pozitivní**
- Závěr:

klinický: není k dispozici
laboratorní: v.s. neuroborelióza

Diagnostické skupiny

1. Neuroborelióza
2. Bellova obrna
3. Borelióza a další infekce
4. Autoimunita x borelióza
5. Borelióza u RS

3. Borelióza a další infekce

(1/3)

Muž, M.S., 40 let, hosp. neurologické odd. 9/2010

Důvod vyšetření: paréza n. VII, expozice klíštěte

- Sérum:

Borrelia sp. IgM ELISA	4,9	IgG ELISA	99 RU/ml
Borrelia sp. IgM WB	P	IgG WB	P
T. pallidum IgM ELISA	N	IgG ELISA	3,0
TPHA (titr)	640	FTA	+

V r. 2003 stanovená dg. Lues (IgM ELISA N, IgG ELISA 1,35, TPHA (titr) 160, FTA +)
- Likvor:

Qalb: 6,8 (normální)
IEF: 5/2, ITS IgM a IgG dle Reibera P
VLŘK 21,8 mg/L
KEB ? Zánětlivé markery ? Cytologie ?
Borrelia sp. LSQrel. IgM 1,8 LSQrel. IgG 2,8
Borrelia sp. IgM WB P IgG WB P
T. pallidum LSQrel. IgG 2,8
Borrelia b. DNA: negativní
- Závěr: boreliová infekce u pacienta s dg. Lu v anamnéze

3. Borelióza a další infekce

(2/3)

Dívka, N.F., 8 let, dětské odd.

Důvod vyšetření: periferní paréza n. facialis l.sin., klíště před 3t., respirační infekt před 2 t., neuroborelióza? virová encefalitida?

- Sérum:

Borrelia sp. IgM ELISA	7,1	IgG ELISA	63,8 RU/ml
Borrelia sp. IgM WB	P	IgG WB	P
VKE IgM ELISA	N	IgG ELISA	270 VIEU/ml

(avidita anti VKE IgG -17%)
- Likvor:

Q alb: 8,8 (mírně zvýšená)
ITS IgM dle Reibera **hraniční nález**
KEB ? Parametry zánětu ? Cytologie ?
Borrelia sp. LSQrel. IgM 1,9 LSQrel. IgG 6,1
Borrelia b. DNA negativní
VKE IgM ELISA N IgG ELISA P
- Závěr:

klinický: není k dispozici
laboratorní: v.s. boreliová infekce s postižením CNS
boreliové etiologie, nelze vyloučit i VKE infekci

Diagnostické skupiny

1. Neuroborelióza
2. Bellova obrna
3. Borelióza a další infekce
4. Autoimunita x borelióza
5. Borelióza u RS

4. Autoimunita, borelióza (?)

(1a/4)

Žena R.M., 29 let

- **OA:** negativní
- **11/10** přijata na rizikové těhotenství, zhoršení hepatopatie, svědění celého těla, dg. hepatopatie v graviditě
- **12/10** náhlý pocit mlhy před levým okem,
Oční vyš: v.s. projevy vaskulitidy na levém oku
- **23/12/10** - z oční indikace porod císařským řezem
- **27/12/10** - MRI obraz centrální pontinní myelinolýzy
(symetrická demyelinizace centrální části mozkového kmene)

4. Autoimunita, borelióza (?)

(1b/4)

Významné laboratorní nálezy:

- Sérum:

IgM	3,3 g/l		
Borrelia sp.↑ IgM	11,1	IgG (RU/ml)	206,7
Borrelia sp. IgM WB	P	IgG WB	P
CMV IgM	2,0	IgG (AU/ml)	125,6
CIK	133,0	CIK C1q	17,6

Antifosfolipidové protilátky (U/l):

ACLA IgM	31,9	beta-2-GP1 IgM	16,3
PHS IgM	13,1	PHI IgM	8,6
- Likvor:

Qalb: 3,3 (normální),
IEF: negativní, negativní ITS dle Reibera, VLŘkappa: negativní
Cytologie: Leu1 /3, lymfocytární oligocytóza
Borrelia sp. LSQrel. IgM negativní LSQrel. IgG 2,4
Borrelia b. DNA : negativní
CMV IgM negativní IgG negativní
- Závěr: imunopatologický stav na podkladě
antifosfolipidových protilátek (antifosfolipidový syndrom)

4. Autoimunita, borelióza (?)

(1c/4)

HLA nebylo vyšetřeno (HLA-B27 ?)

Léčba: bolusová léčba metylprednisolonem 3 dny,
pak prednison 60mg/den

24/1/11

- regrese očního nálezu
- MR – regrese nálezu
- negativizace antifosfolipidových protilátek

Diagnostické skupiny

1. Neuroborelióza
2. Bellova obrna
3. Borelióza a další infekce
4. Autoimunita x borelióza
5. Borelióza u RS

5. Borelióza u RS

(1a/5)

Muž, Z.S., 40 let, hosp. neurologické odd. 5/09

Důvod vyšetření: MRI – ojedinělá demyelinizační ložiska periventrikulárně vpravo – RS?, postischemické?, atyp. záchvaty typu „deja vu“ od 12 let, stav po hepatitidě A, chronická hepatitida C (1994–2006 léčba IFN α , Ribavirin)

5/09

- **Sérum:**

Borrelia sp. IgM ELISA	N	IgG ELISA	25 RU/ml
Borrelia sp. IgM WB	N	IgG WB	N
Borrelia b. DNA	negativní		
- **Likvor:**

Qalb: 4,5 (normální)
IEF: **12/6**, ITS dle Reibera – N
KEB: v normě Zánětlivé markery: v normě
Cytologie: lymfocytární oligocytóza, aktivace, plazmocyty
Borrelia sp. IgM WB N IgG WB N
Borrelia b. DNA: N Borrelia sp. LSQrel. ?
- **Závěr:** laboratorní nálezn podporuje úvahu o demyelinizačním onemocnění , stanovena dg. RS

5. Borelióza u RS

(1b/5)

Muž, Z.S., 40 let, hosp. neurologické odd.

Důvod vyšetření: syndrom zadních provazců, hypestezie LHK,

11/09

- Sérum:

Borrelia sp. IgM ELISA	9,9	IgG ELISA	226,9 RU/ml
Borrelia sp. IgM WB	P	IgG WB	P
- Likvor:

Qalb: 4,5 (normální)
IEF: **13/5**, ITS dle Reibera – N, VLŘK **0,99** mg/l
KEB ? Zánětlivé markery ? Cytologie ?
Borrelia sp. IgM WB N IgG WB **hraniční**
Borrelia sp. LSQrel. IgM N LSQrel. IgG 1,3
Borrelia b. DNA negativní
- Závěr: boreliová infekce u RS, léčba Lendacinem do 01/2010, boreliová infekce neovlivnila průběh RS

5. Borelióza a RS

(2/5)

Žena, V.Č., 19 let, 11/07 – na dětském odd. přeléčena neuroborelióza,
pro přetrvávající klinický nález hosp. na neurologickém odd.

9/10 – vysoce aktivní forma RS i přes léčbu DMD, k vyloučení
neuroinfekce před nasazením Tysabri (Natalizumab, anti- α 4-integrin)

• <u>Sérum:</u>	11/07	12/07	4/08	9/10
Borrelia sp. IgM (index)	1,15	1,3	1,0	1,0
Borrelia sp IgG (RU/ml)	134	137	82,8	75,1
Borrelia b. DNA		N	N	N

9/10 Pozitivita IgM proti gangliosidům GM2 a GQ1b.

• <u>Likvor:</u>	14/1	16/5	16/2	
IEF				
Borrelia b. s.l. DNA			N	N

9/10 Qalb: 4,5 (normální)

ITS dle Reibera – N, VLŘK: 0,99 mg/l

Borrelia sp. LSQrel. IgM N LSQrel. IgG 2,1

- Klinický závěr: v.s. boreliovou infekcí indukovaná vysoce aktivní forma RS

Naše zkušenosti se stanovením ITS specifických protilátek

- ✓ Stanovení ITS specifických protilátek pomocí souprav Euroimmun je přínosem; nutná je ale vlastní zkušenost, k diskusi nastavení rozdílné citlivosti souprav pro středoevropský a pobaltský region
- ✓ Průkaz ITS nutno vždy hodnotit v kontextu dalších laboratorních nálezů
- ✓ ITS přetrvává dlouhodobě po léčbě

Poděkování spoluautorům

Jitka Pohořská
Ivana Stiborová
Romana Chrudimská
Andrea Holubková
Vlasta Chmelíková



Kolektiv lékařů infekčního odd. Masarykovy nemocnice Ústí n. L.
(prim. MUDr. P. Dlouhý)
Kolektiv lékařů RS centra NsP Teplice
(prim. MUDr. M. Vachová)
Kolektiv lékařů neurologického odd. NsP Děčín
(prim. MUDr. I. Onděčková)