

Intratekální syntéza protilátek proti infekčním agens

V. Král a kol.

Centrum imunologie a mikrobiologie

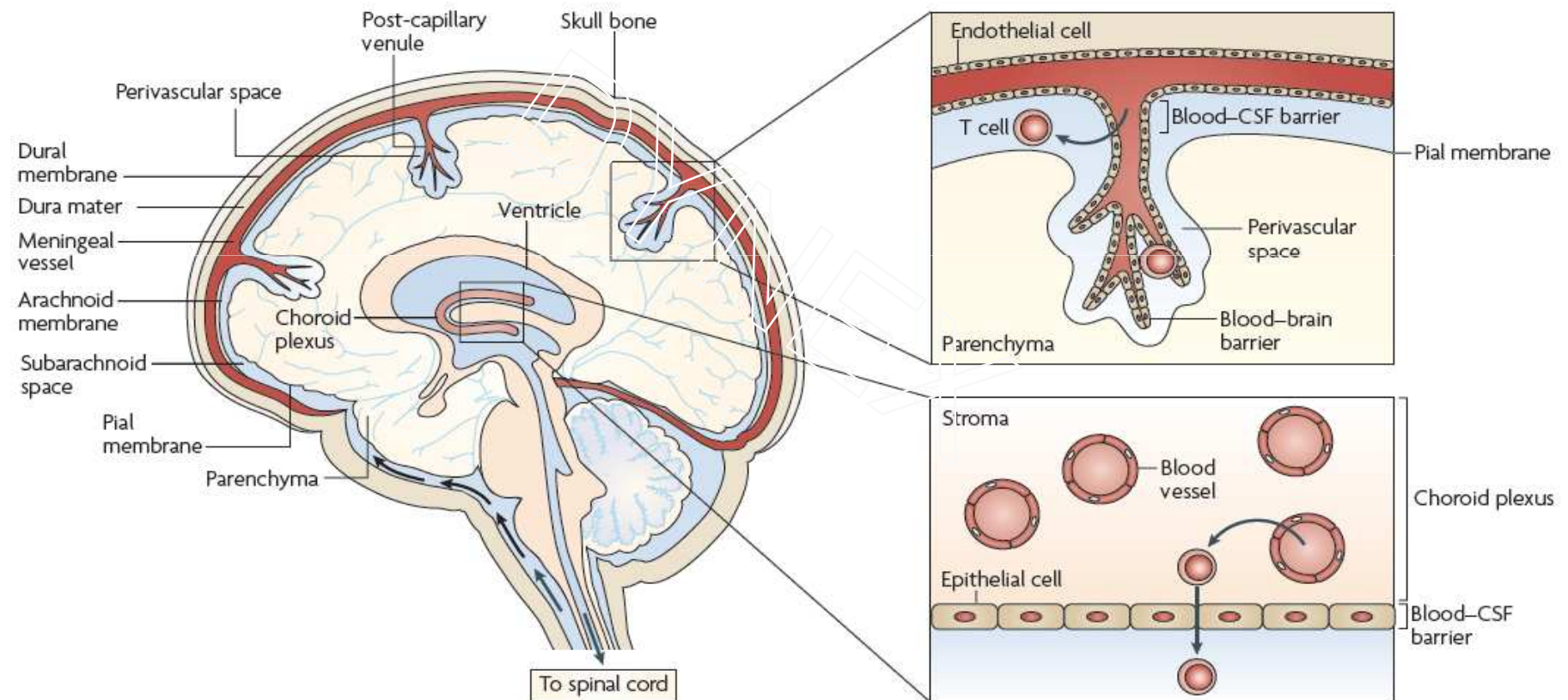
Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem

15. ČASOMIL, 1.-3.6.2011

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*

Kompartiment CNS, bariéry v CNS

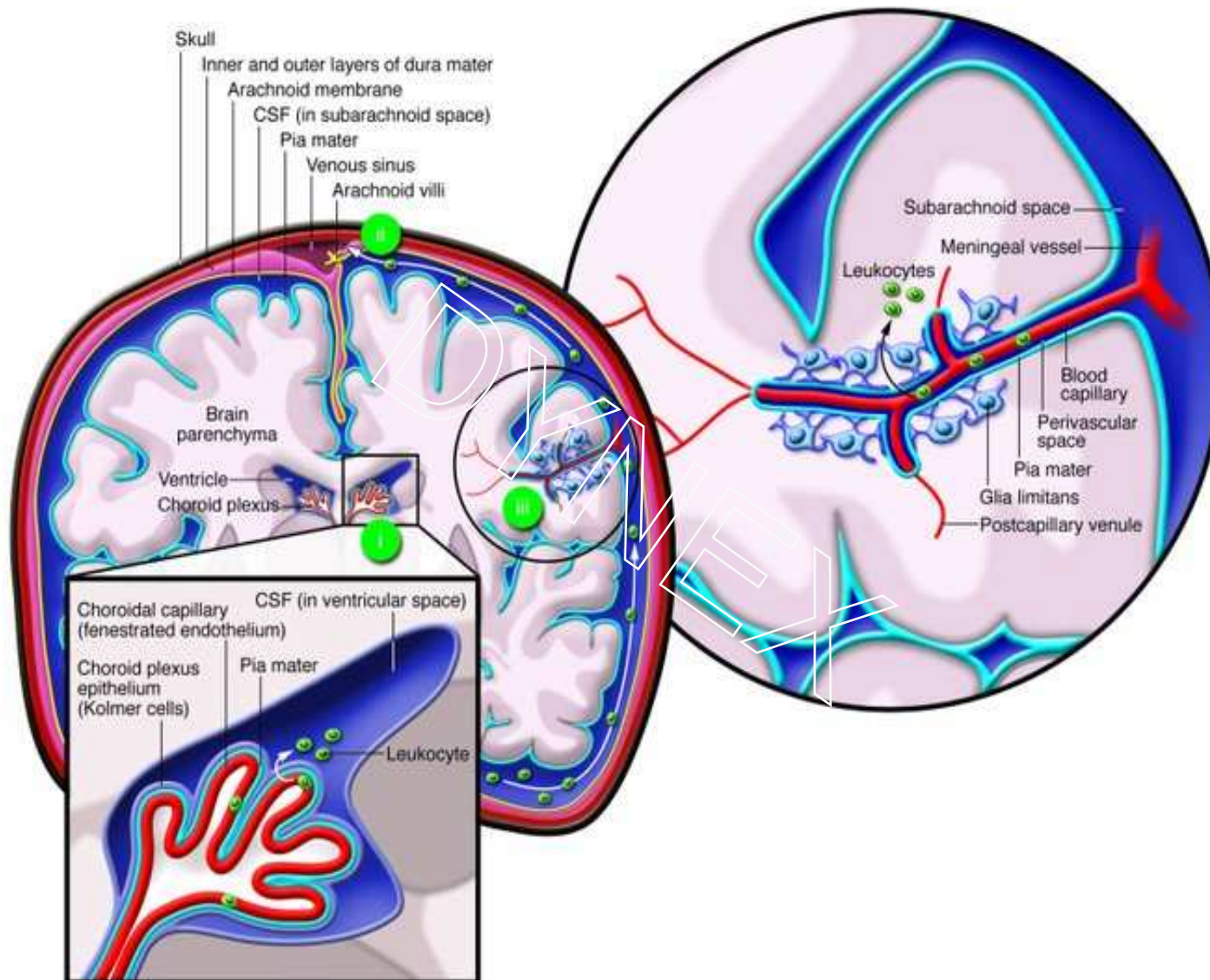


Nat. Rev. Immunol., 9 (2009)

Prostup lymfocytů přes HEB

- **T lymfocyty:** pouze aktivované buňky překonávají HEB prostupem BMVEC (brain microvessel endothelial cells)
Nebyl prokázán vliv antigenu, MHC kompatibility nebo imunofenotypu. Nemí-li rozpoznán spec. Ag (24–48 hod), dochází k eliminaci (apoptóza)
- **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

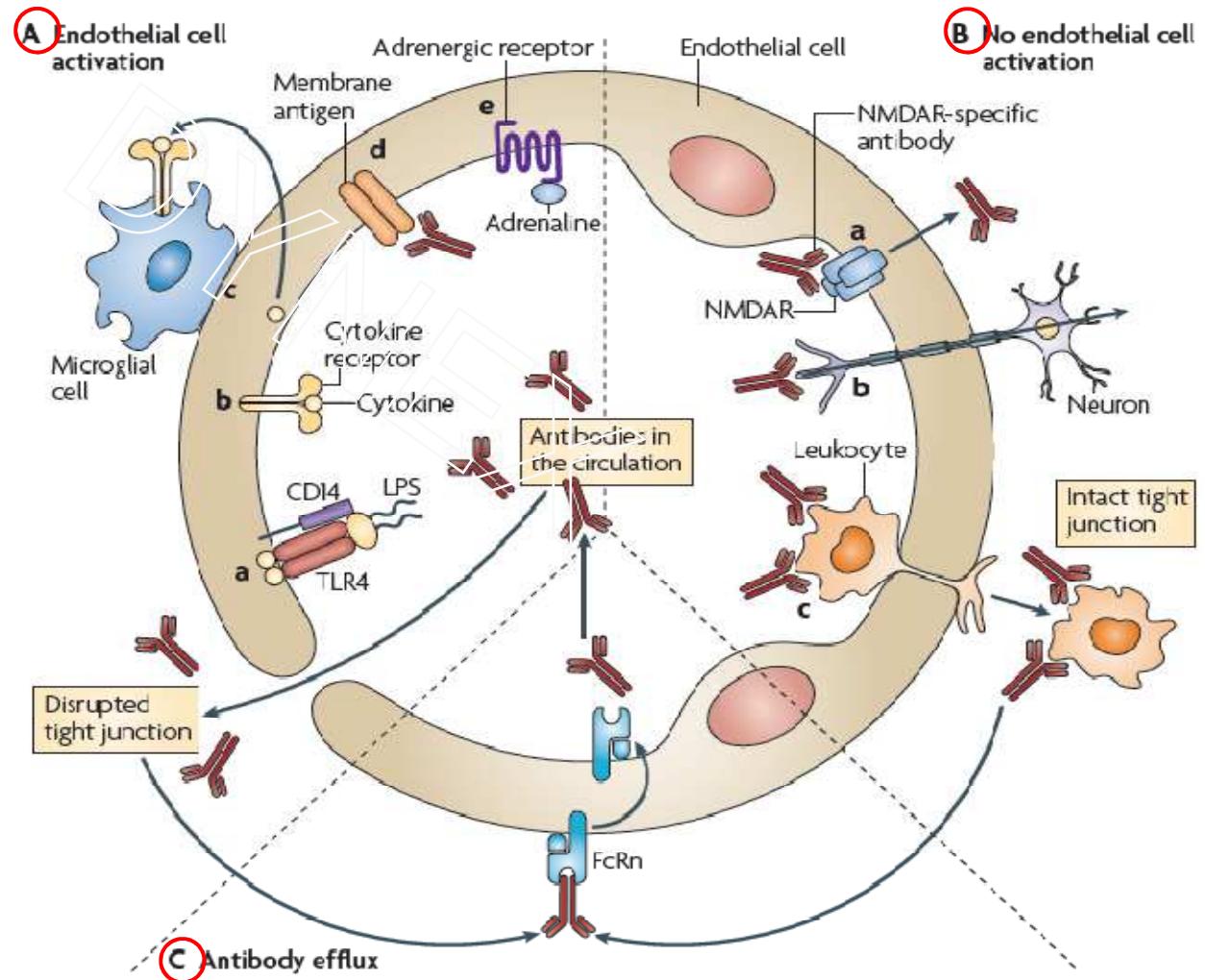
Leukocyty / lymfocyty v CNS



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

Mechanismy regulující pohyb protilátek přes HEB

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

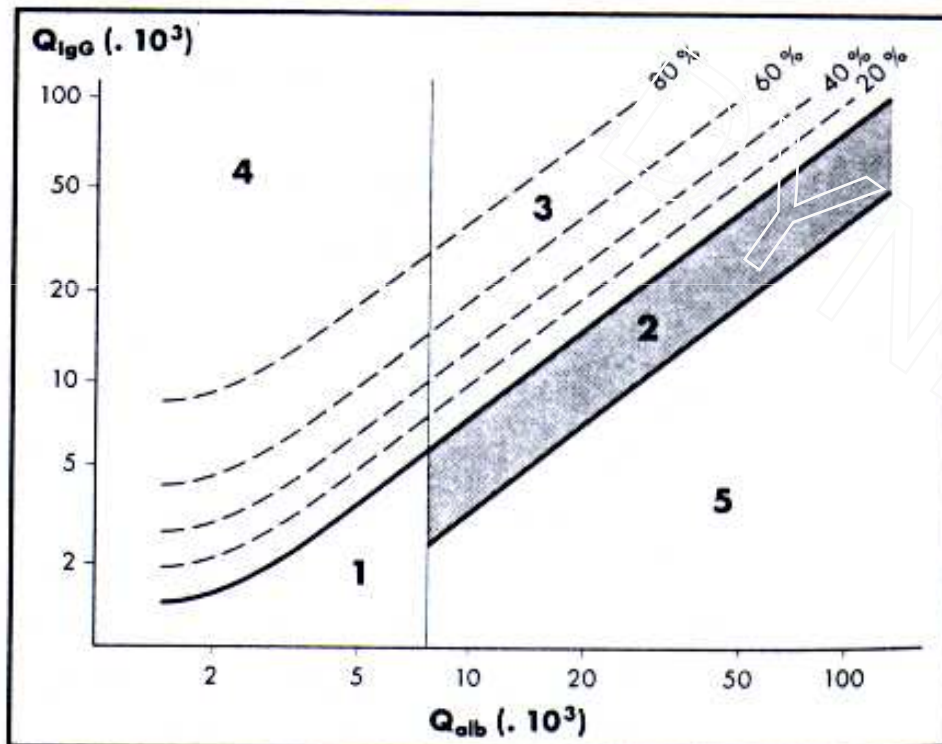


(*Nat.Rev.Immunol.*, 2010)

Intratekální syntéza protilátek (ITS) v.s. 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 infekčním agens

- ddg. neuroborelióza
- dg. neurolues
- ddg. RS (demyelinizace) – HHV6, HSV1+2, EBV, Bb s.l., MRZ reakce
- diagnostika dle anamnézy a klinického stavu
(myelitida, encefalitida, parézy – n. facialis, periferie; paraparézy, kořenové bolesti, závratě)

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

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

MRZ

Kasuistika č.1.

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

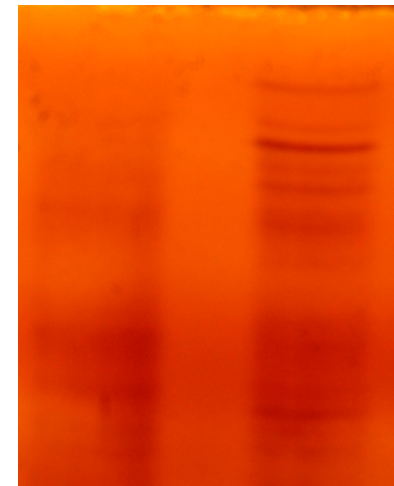
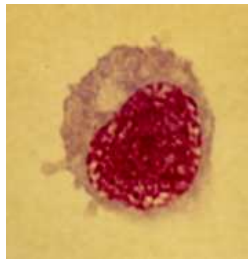
Důvod vyšetření: hospitalizace pro bolesti zad, první LP: suspektní aseptická meningitida

- **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)



Kasuistika č.2

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**

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)

Kasuistika č. 3a

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
- **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**
- **Cytologie:** není k dispozici (ani orientační)

Závěr: klinický: není k dispozici

laboratorní: v.s. neuroborelióza (Bellova obrna)

Kasuistika č. 3b

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

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**

- Cytologie: není k dispozici (ani orientační)

Závěr: klinický: není k dispozici

laboratorní: v.s. neuroborelióza (Belleva obrna)

Kasuistika č. 4

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 stanovena 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

(„starý luetik“ nakoupil další spirochetózu – CAVE Borrelia pallidum!!)

EFNS GUIDELINES/CME ARTICLE

EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis

Å. Mygland^{a,b,c}, U. Ljøstad^a, V. Fingerle^d, T. Rupprecht^e, E. Schmutzhard^f and I. Steiner^g

^aDepartment of Neurology; ^bDepartment of Rehabilitation, Sorlandet Sykehus, Kristiansund; ^cDepartment of Clinical Medicine, University of Bergen, Bergen, Norway; ^dBavarian Health and Food Safety Authority, Oberschleißheim; ^eDepartment of Neurology, Ludwig-Maximilians University, Munich, Germany; ^fDepartment of Neurology, Medical University Innsbruck, Innsbruck, Austria; and ^gNeurological Sciences Unit, Hadassah University Hospital, Mount Scopus, Jerusalem, Israel

Výběr laboratorních metod (evidence – based recommendations)

1. Základní:

- vyšetření dvojice vzorků sérum/CSF na průkaz Bb-specifických protilátek
- stanovení ITS
- stanovení markerů zánětu v CSF

2. Doplňující:

- kultivace a PCR pouze u velmi časně LNB

3. **V současné době nejsou žádné další metody doporučené**

Diagnostická kritéria EFNS

- **Dg. LNB jistá:**

Splněna následující tři kritéria:

- (i) neurologické příznaky odpovídající LNB
- (ii) pleocytóza v CSF
- (iii) ITS *Bb* – specifických protilátek

- **Dg. LNB pravděpodobná:**

Splněna dvě z uvedených tří kritérií

Kasuistika č.5

Muž V.B., 71 let, hosp. neurologie , Nemocnice Litoměřice

Důvod vyšetření:

15/9/10 – 14 dní lumbalgie, progredující svalová slabost s převahou v pletencích, subfebrilie až febrilie, klíště v anamnéze, bez ECM

7/10/10 – porucha chůze s ataxií, porucha kognitivních funkcí až deliriózní stav

• <u>Sérum:</u>		15/9/10	7/10/10
VKE IgM		P	hraniční
VKE IgG (VIEU/ml)		583	>670
VKE avidita (%)		38	60
• <u>Likvor:</u>			
Qalb:		7,8	5,5
IEF:		6/6	6/4
KEB:		27,9	28,9
• <u>Cytologie:</u>		35/3	25/3 (<i>lymfoc. pleiocytóza</i>)
VKE LSQrel. IgM		0,5	1,7
VKE LSQrel. IgG		1,7	4,5

Závěr: KE s průkazem dynamiky Ab odpovědi (aviditní zrání specif. Ab, ITS)

Naše zkušenosti se stanovením ITS specifických protilátek

- ✓ Stanovení ITS specifických protilátek pomocí souprav Euroimmun je jednoznačně přínosem; nutná je ale dostatečná vlastní zkušenost
- ✓ 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)

15. ČASOMIL, 1.-3.6.2011

3. Borelióza a další infekce možná vyhodit (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