

Válasz Gergely Lajos Professor Úr bírálataira.

Hálásan köszönöm Gergely Lajos professzor úr bírálatait. Külön köszönöm, hogy elismerően nyilatkozott a munkásságomról, és persze legfőképp azt, hogy támogatta az MTA doktora pályázat nyilvános vitára tűzését és a disszertáció elfogadását. Nagyon örülök, hogy kiemelte, a dolgozat stílusa jól érthető, olvasmányos, mert valóban célom volt, hogy így legyen.

Néhány stiláris javaslat után **Opponensem** kérdezi, hogy miért nem elég érzékeny a PCR a Lyme diagnosztikában.

Válaszom: Vérből azért nem elég érzékeny a kimutatás, mert csak pár napig van spirochaetemia, pont akkor, amikor még nincsenek klinikai tünetek, tehát fel sem merül a vizsgálat szükségessége. Ezt követően a vérből eltűnnek a borreliák. Liquorban még olyan esetekben is sokszor negatív volt a PCR, amikor ugyanazon mintából ki tudtuk tenyészteni a kórokozót. Hozzánk hasonlóan mások is csak 15-30%-ban voltak sikeresek e téren. Úgy tudom, a liquorban a DNS-polymerase blokkoló anyagok jelenlétével magyarázzák a nagyarányú kudarcot, de ezek vizsgálatával magam nem foglalkoztam. Erythema migransból és acrodermatitis chr. atrophicansból volt olyan sorozatunk, ahol a PCR 100%-ban pozitív volt. A disszertációmban csak a ROCHE molekulárbiológiai központtal közösen végzett munka adatait említem. Később jóval nagyobb volumenű munkát végeztünk a Baxter Immunoval, de ott már csak bőrbioptziás mintákat dolgoztunk fel. Ott a PCR 10-20%-kal érzékenyebbnek bizonyult, mint a tenyésztés – nem publikáltuk.

Opponens kérdezi, a szteroid kezelés miért fokozza a spirocheták kimutathatóságát?

Válaszom: A lezáratlan munkáim közül talán ez az egyik legizgalmasabb. Nem tudom a választ. Lehet, hogy 1/ csak in vivo aktiválódnak az immunsuppressio miatt a borreliák, 2/ in vitro is lehet még hatása szteroidoknak, hiszen a tenyésztésre szánt szövetben immunológiailag aktív sejtek vannak, 3/ezeket még az emberben gátolhatta a szteroid, és a gátlás fennmarad még a tápoldatban is, mikor már ott nincs kimutatható mennyiségben immunsuppressív szer, és értelmes lenne megvizsgálni azt a felvetést is, 4/ hogy hozna-e változást, ha a tápoldatba tennénk szteroidot, hiszen a szövetben lévő immunsejteket in vitro is lehet gátolni, és ez segítheti a borreliák szaporodását. Ebből a munkából kitelne egy másik MTA doktora pályázat is... Fel lehetne használni a kutatási eredményekből származó eredményeket a terápia hatékonyságának le mérésére is – nekem ez régi vágyam.

Hálás vagyok **Opponensemnek**, hogy észrevette, milyen szellemes technikai megoldásokat alkalmaztam a Western blot kittem kifejlesztésekor.

Nagyon örültem, hogy **Opponensem** a COMPASS-t igen érdekes eljárásnak minősíti, mely számos, egyébként nehezen diagnosztizálható esetben nyújthat megbízható eredményt. Kevesen vették észre ennek az eljárásnak a fontosságát. A disszertációmban bemutatom, hogy ezzel, a valójában roppant egyszerű módszerrel, valamennyi, ma megoldhatatlannak látszó diagnosztikus kérdés megválaszolható.

Opponens kérdezi, összehasonlítottam-e más kereskedelemben kapható Western blot kitéekkel a sajátomat.

Két WB kitétet teszteltem, de annyira gyengén viselkedtek a mi tesztünkkel összehasonlítva, hogy nem volt értelme további vizsgálatoknak. Amikor mi a saját kitéttünket kifejlesztettük, még csak egyetlen WB kité volt kereskedelmi forgalomban, az MRL-é (ma Focus Lab.). Amikor ők piacra dobták a tesztjükét, és már hatalmas forgalmuk volt, még hozzá sem kezdtek a szenzitivitási/specificitási vizsgálatokhoz, melyekkel mi már addigra rég készen voltunk. Mivel elég hamar kiderült, hogy rajtunk kívül senki sem teszteli a saját kitéjét elég komolyan, hanem egy korábbi (mások által végzett) tanulmány által definiált antitestválaszhoz igazítja a határértékeit, nem láttam értelmét további vizsgálatoknak. Nem vagyok biztos abban, hogy a disszertációm elég meggyőzően bizonyítja: minden egyes antigénre külön-külön, újra meg újra meg kell határozni a határértékeket. Ezekhez klinikailag diagnosztizált betegek megfelelő számú savómintáira van szükség, ez másutt valószínűleg nem áll rendelkezésre... Tudomásom szerint nincs a világon más intézmény, ahol a klinikum és a laboratórium egy kézben lenne, ezért más helyeken a klinikai és/vagy a laboratóriumi diagnózis hibája sokkal ritkábban, nehezebben derülhet ki. Egészen a legutóbbi időkig nem jelent meg tanulmány, amely a mi vizsgálatainkhoz hasonló nagyságú, klinikailag verifikált kontroll- és betegsoporton tesztelte volna az eljárását. Mire egy ilyen tanulmány végre elkészült (Porwancher RB, Hagerty CG, Fan J, Landsberg L, Johnson BJ, Kopnitsky M, Steere AC, Kulas K, Wong SJ (2011). Multiplex immunoassay for Lyme disease using VlsE1-IgG and pepC10-IgM antibodies: improving test performance through bioinformatics. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2011;18:851-9.), mi már rég túl voltunk ezen, és az összehasonlító vizsgálatokkal foglalkoztunk. Bár a disszertációmban ezt nem tárgyalom, a COMPASS-nak különös előnye, hogy kevésbé számít a teszt minősége, mert a változás vagy annak hiánya, vagyis a szeropogresszió kimutatása vagy ki nem mutathatósága még a gyengébb tesztek esetén is meggyőző eredményt adhat. Míg a világ ma is azzal foglalkozik, hogy egy teszt mennyire szenzitív és specifikus, mi látjuk, hogy ez döntően a vizsgált populációtól függ, emiatt önmagukban nincs sok értelme ezeknek a vizsgálatoknak. Minden újabb eljárásról kiderül, hogy – legalábbis – a közlemény szerint jobb, mint a korábbiak, miközben az alapvető kérdést, vagyis

hogya a pozitívítást egy most zajló vagy már lezajlott fertőzés okozza-e, nem képesek megválaszolni. Mivel az endémiás területeken a populáció jelentős része (5-10%-a) átesik a fertőzésen, ennek a problémának a negligálása végzetes következményekkel jár. Emiatt végeztünk vizsgálatokat az erdészeti dolgozók körében, és ezekből az adatainkból derült ki, hogy ebben a magas rizikójú csoportban a Lyme szerológia pozitív prediktív értéke 1% körüli, vagyis hogy szinte minden pozitív lelet téves, vagyis semmi köze az aktuálisan fennálló panaszokhoz. Talán a válaszom világossá teszi, hogy nem látom értelmét a kereskedelmi forgalomban elérhető kiték tesztelésének. Biztos, hogy van a miénknél jobb, de a COMPASS nélkül, nem jelenthetnek előnyt. Összehasonlító vizsgálatot (COMPASS-t) meg rajtunk kívül senki sem alkalmaz...

Opponens: részt vettem-e nemzetközi szerológiai körkísérletekben?

Legalább tucatnyi körvizsgálatban vettünk részt, mindig az élmezőnyben szerepeltünk. Sokkal nagyobb elismerés, hogy több világcég az általunk gyűjtött savókat alkalmazza vagy alkalmazta kontrollsavóként. Több nagy európai tanulmányban is lábjegyzetként szerepel, hogy a vizsgálatban felhasznált savók „Magyarországról” származnak. A nevemet már csak 1-2 helyen szerepeltették...

Opponens kérdezi, mit jelent a fajlagos futtatási idő.

Válaszom: az egy vizsgálati mintára jutó futtatási idő.

Opponens: A 63. oldal I/33. ábra c. részén az Osp C-nél halvány csíkot látok.

Válaszom: Valóban látható halvány csík, az ábra tökéletesen illusztrálja az összehasonlító vizsgálat előnyét. Ha csak önmagában vizsgálnánk az ábrán szereplő 3. savómintát, nemigen tudnánk eldönteni, hogy a pozitív reakció alapján indokolt-e egy újabb antibiotikum-kezelés. Azonban az ábrán látható, hogy az előző két mintához *képest* a csökkenés egyértelmű, ennek alapján a gyógyulás definitív.

Opponens kérdése, a szerológiai javulás egyértelműen a gyógyulás jele?

Válaszom: Nincs kétségem, a szerológiai regresszió a gyógyulás jele. Igényes folyóiratban azonban ezt nem sikerült publikálni, pedig sok év, sok ezer vizsgálat alapján állítom, hogy minden, nem gyógyuló betegnek szeroprogressziója van, és ellenkező esetben kimondható a gyógyulás. Ez logikus, mégis roppant nehéz a bizonyítása.

Örülök, hogy Opponensem elfogadja a terhességi Lyme borreliosissal kapcsolatos eredményeimet, elismerve, hogy ez a világon a legnagyobb esetszámon végzett tanulmány.

Opponensem idézi az Encepurral (kullancsencephalitis elleni védőoltással) folytatott tanulmány során szerzett tapasztalatomat: Az oltási reakció intenzitása párhuzamos az immunválasz mértékével, tehát a hevesebb oltási reakció erőteljes immunválasszal párosul. Bizonyára nem is hiszi, hogy ez a megállapítás mennyire eretnek gondolatnak számított abban az időben. Ma már mindenki látja, hogy vannak nagyon finom, oltási reakciót nem okozó vakcinák (pl. az acellularis pertussis), csak hogy ezek védő hatása pár év alatt elmúlik. Libikóka effektusnak neveztem el ezt a jelenséget, és a közeljövőben sokat fogunk még erről hallani.

Opponensem kérdése: összehasonlította-e a Rickettsia conorii ellenanyagokat a Rickettsia slovaca ellenanyagokkal?

Válaszom: Persze, persze, persze. A dolgozatomban esik erről szó, de nem részleteztem, milyen szerteágazó, hatalmas munka van mögötte. Több helyről származó R. slovaca és R. conorii antigénnel végeztem IIF, ELISA és WB teszteket. Kontrollként erythema migransos, valamint erdészeti dolgozókat és véradókat használtam. Az eredmények igen nagy szórást mutattak, emiatt közlemény nem született, és a disszertációmban sem említettem azokat. Utólag arra a következtetésre jutottam, hogy az előbb említett „libikóka” effektus nemcsak a vakcinákra, hanem a természetes úton akvirált infekciókra is érvényes. Minél enyhébb lefolyású egy fertőzés, annál gyengébb és annál lassabban alakul ki, és annál rövidebb ideig tart az immunválasz. Így van ez az erythema migrans esetén, ahol a látványos klinikai tünet ellenére a betegek nagy része még szeronegatív, és így van ez a TIBOLÁ-ban is: csak a súlyosabb esetekben találunk diagnosztikus mértékű antitestválaszt.

Ez a magyarázata, hogy csak a betegeim 49%-ában találtam pozitív szerológiai reakciót.

Hozzátehetném, ahogy egyre enyhébb kórformákat látok, úgy csökken a szeropozitivitás aránya.

Nagyon hálás vagyok Gergely Professzor Úrnak, hogy úgy találta, ritka az a doktori értekezés, amely ennyire hasznos lenne gyakorlati szempontból. Jól látja: tudományos ténykedésem minden mozzanata a gyakorlati problémák megoldására irányult. Köszönöm, hogy Opponensem az értekezés nyilvános vitára bocsátását és elfogadását javasolta.

Dr. Lakos András

Budapest, 2014. április 26.