

Kullancs által terjesztett fertőzések:
Lyme Borreliosis, kullancsencephalitis,
TIBOLA

MTA DOKTORA PÁLYÁZAT
DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Lakos András
Budapest, 2012. február

Tartalomjegyzék

	Rövidítések	5
	Előszó	6
I.	Lyme borreliosis	9
I/1.	A Lyme borreliosis Magyarországon: összefoglaló tanulmány	10
I/1.1.	Áttekintés	10
I/1.2.	Epidemiológia	10
I/1.3.	Kórokozó, patomechanizmus	12
I/1.4.	Klinikum	13
I/1.4.1.	Erythema migrans (EM)	13
I/1.4.2.	Borrelia lymphocytoma	22
I/1.4.3.	Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA)	23
I/1.4.4.	Lyme carditis	24
I/1.4.5.	Perifériás facialis paresis	24
I/1.4.6.	Lymphocytás meningoradiculitis	25
I/1.4.7.	Chronicus neuroborreliosis	25
I/1.4.8.	Chronicus polyneuropathia	26
I/1.4.9.	Lyme arthritis	26
I/1.5.	Laboratóriumi diagnózis	27
I/1.5.1.	Direkt mikroszkópos vizsgálat	27
I/1.5.2.	Szövetekből történő kimutatás	27
I/1.5.3.	Polymerase láncreakció (PCR)	27
I/1.5.4.	Tenyésztés	28
I/1.5.5.	Immun szerológiai diagnózis	29
I/1.5.5.1.	A szerológiai leletek értékelése	30
I/1.6.	Differenciáldiagnózis	33
I/1.7.	Egyéb kórképek	34
I/1.8.	Terápia	36
I/1.9.	Összefoglalás	39
I.2	Előrelépés a Lyme-kór diagnosztizálásában: Western blot kit kifejlesztése	40
I/2.1.	Bevezető	40
I/2.	Módszer	41
I/2.3.	Eredmények	47
I/2.3.1.	IgG és IgM antitestek	47
I/2.3.2.	Liquorvizsgálat, intrathecalis Borrelia antitest kimutatása	48
I/2.3.3.	A specifikus antitestek kiválasztása	48
I/2.3.4.	A határérték meghatározása, szenzitivitás az ELISÁ-hoz viszonyítva	49
I/2.3.5.	El lehet-e különíteni a WB segítségével a Lb egyes formáit?	50
I/2.3.6.	A sorozatvizsgálatok tanulságai	51
I/2.4.	Megbeszélés	51
I/2.5.	Összefoglalás	56
I/3.	Előrelépés a Lyme szerológiában: comparative immunoblot assay (COMPASS)	57
I/3.1.	Bevezetés	57
I/3.2.	Kérdések	58
I/3.3.	Módszerek	62
I/3.3.1.	Western blot	62
I/3.3.2.	COMPASS	62
I/3.3.3.	Betegek	63
I/3.3.4.	Etika	63
I/3.4.	Példák	63

dc_164_11

I/3.4.1.	COMPASS a szerológiai javulás, vagyis a mikrobiológiai gyógyulás igazolására	63
I/3.4.2.	COMPASS a <i>Borrelia burgdorferi</i> túlélésének igazolására	65
I/3.4.3.	COMPASS a Lyme borreliosis esetleges relapszusának tisztázására	68
I/3.4.4.	COMPASS a terhesek kullancscsípés miatti szűrővizsgálatára	69
I/3.4.5.	COMPASS szűrővizsgálatként – többszörös kullancscsípés után	70
I/3.4.6.	COMPASS atípusos erythema migrans miatt	70
I/3.4.7.	COMPASS arcidegbénulásban	70
I/3.4.8.	COMPASS intrathecalis <i>Borrelia</i> -antitesttermelés kimutatására	71
I/3.4.9.	COMPASS a <i>Borrelia</i> -fertőzésre fokozott kockázatú emberekben	73
I/3.4.10.	COMPASS reinfekcióban	74
I/3.4.11.	COMPASS ál pozitív reakciók tisztázására	75
I/3.4.12.	COMPASS a magzati fertőzés tisztázására terhességi Lyme borreliosis esetén	76
I/3.5.	Megbeszélés	77
I/3.6.	Összefoglalás és ajánlások	82
I/4.	Automata immunoblot reader (AIR)	83
I/4.1.	Bevezetés	83
I/4.2.	Anyag és módszer	83
I/4.3.	Az AIR működése	84
I/4.4.	Megbeszélés	88
I/4.5.	Összefoglalás	89
I/5.	A terhességi Lyme borreliosis	90
I/5.1	Bevezető	90
I/5.2.	Betegek és módszerek	91
I/5.2.1	Betegek	91
I/5.2.2.	Kezelés	92
I/5.2.3.	Szerológia	92
I/5.2.4.	Statisztika	92
I/5.3	Eredmények	93
I/5.4.	Megbeszélés	97
I/5.5.	Összefoglalás	99
II.	A kullancsencephalitis	100
II/1.	A kullancsencephalitis epidemiológiája Magyarországon	101
II/1.1.	A kórokozó	101
II/1.2.	Terjedése	102
II/1.3.	Patológia	102
II/1.4.	Klinikai tünetek	103
II/1.5.	Diagnózis	104
II/1.6.	Epidemiológia	104
II/1.7.	Az incidencia változása Magyarországon és Európában	105
II/2.	Klinikai epidemiológiai tanulmány a László Kórházban	112
II/2.1.	Betegek és módszerek	112
II/2.2.	Eredmények	112
II/2.3.	Megbeszélés	113
II/3.	Klinikai vizsgálat a KE megelőzésére kifejlesztett Encepurral	114
II/3.1.	Bevezetés	114
II/3.2.	Betegek és módszerek	114
II/3.3.	Eredmények	114
II/3.3.1	Oltási reakciók	114

dc_164_11

II/3.3.2.	Mellékhatások	115
II/3.3.3.	Az immunogenitás vizsgálata	115
II/3.4.	Megbeszélés	116
II/3.5.	Összefoglalás	117
III.	TIBOLA: egy új, kullancs által terjesztett betegség	118
III/1.	A TIBOLA felfedezése	119
III/1.1	Bevezető	119
III/1.2	Eredmények az első 27 beteg alapján	120
III/1.2.1.	Epidemiológia	120
III/1.2.2.	Laboratóriumi leletek	121
III/1.2.3.	Antibiotikumok hatása	122
III/2.	Második tanulmány - 86 beteg alapján	123
III/2.1.	Betegek és módszerek	123
III/2.2.	Eredmények	123
III/2.2.1.	Klinikai tünetek és epidemiológia	123
III/2.2.2.	Laboratóriumi leletek	128
III/2.2.3.	Az antibiotikum-kezelés hatása	129
III/3.	A ló kontaktus szerepe a TIBOLÁ-ban	131
III/3.1.	Bevezetés	131
III/3.2.	Betegek és Módszerek	131
III/3.2.1.	Szerológia	132
III/3.2.2.	Kullancsok	132
III/3.2.3.	Földrajzi elterjedés	132
III/3.2.4.	Elemzések	133
III/3.3.	Eredmények	133
III/3.3.1.	Ló kontaktus	133
III/3.3.2.	Egyéb epidemiológiai adatok	135
III/3.3.3.	Kullancsok	136
III/3.3.4.	Szerológia	136
III/3.4.	Megbeszélés	137
III/5.	Összefoglalás	142
IV.	Felfedezések, felismerések, új megállapítások, tevékenységek, további kutató munka alapjai	143
	Köszönetnyilvánítás	148
	Irodalom	151

Rövidítések

ACA – acrodermatitis chronica atrophicans
ACA1 – acrodermatitises betegből izolált nemzetközileg elfogadott *B. afzelii* izolátum
AIR – automata immunoblot reader
ANOVA – analysis of variance (varianciaelemzés)
AV-block – atrioventricularis block
Bb – *Borrelia burgdorferi sensu lato*
BL – *Borrelia lymphocytoma*
BS – Bannwarth-szindróma (a neuroborreliosis egy formája)
BSK – Barbour Stoenner Kelly tápoldat
CDC – Centers for Disease for Control and Prevention
COMPASS – comparative immunoblot assay
EBV – Epstein-Barr vírus
ECDC – European Centers for Disease for Control
EIA – enzyme immuno assay
ELFA – enzyme-linked fluorescent assay
ELISA – enzyme linked immunosorbent assay
EM – erythema migrans
ENG – electro-neurographia
EUCALB – European Concerted Action on Lyme borreliosis
HGE – human garanulocytás ehrlichiosis
KE – kullancsencephalitis
Lb – Lyme borreliosis (Lyme-kór)
LMR – lymphocytás meningoradiculitis
MBC – minimális baktériumölő koncentráció
MEIA – microparticle enzyme immunoassay
MIC – minimális inhibitory (szaporodást gátló) koncentráció
NBT/BCIP – bromo-kloro-indolyl foszfát és nitro-blue tetrazolium
NT – Vírusnuetralizáció teszt
OEK – Országos Epidemiológiai Központ
OMFB – Országos Műszaki Fejlesztési Bizottság
OTKA – Országos Tudományos Kutatási Alap
PCR – polymerase chain reaction
PPV – pozitív prediktív érték
PVDF – polyvinyl-difluorid
SDS-PAGE – sodium dodecyl sulfate polyacrylamid gélelektroforézis
SFG – spotted fever group (foltosláz csoport)
TIBOLA – tick-borne lymphadenopathy
VlsE – variable major protein-like sequence expressed lipoprotein
VRONY – Veszületett Rendellenességek Országos Nyilvántartása
WB – Western blot
WHO – World Health Organization (Egészségügyi Világszervezet)

Előszó

A Lyme Borreliosis (Lb) első hazai leírása, 1984. óta foglalkozom a kullancs által terjesztett fertőzésekkel. Közel 3 évtizeden át ezen a területen végzett ténykedésemet a kíváncsiságom és nem a tudományos elismerés iránti vágy vezérelte. Kezdetben nem foglalkoztam azzal, hogy a kézirataimat jobb lapokban helyezzem el, sőt több tucatnyi tanulmányom csak előadásokban hangzott el, vagy véglegesen a fiókban maradt. Csak a legutóbbi időben döbbsenem rá, hogy nem elég, ha én megtudok valamit, kötelességem mások, minél nagyobb kör számára is hozzáférhetővé tenni a megfigyeléseimet. A jelen értekezés megírásakor is arra törekedtem, hogy közérthető, a klinikai és laboratóriumi gyakorlat számára hasznosítható anyagot állítsak össze. Az első hazai Lyme betegek felismerése után 2 évvel, 1986-ban az országban elsőként végeztem *Borrelia* antitest-meghatározást. Kezdetben indirekt immunfluoreszcens vizsgálatokat végeztem. Később összehasonlítottam az akkor legkorszerűbbnek tartott ELISA technikákat. Munkatársaimmal itthon elsőként írtam le a betegség különböző tüneteit, az erythema migrans (EM), az acrodermatitis chronica atrophicans (ACA), a Bannwarth-szindrómát, a sclerosis multiplex utánzó *Borrelia* encephalomyelitist, a Lyme carditist, és a Lb-ban gyakori, perifériás facialis paresis klinikai jellemzőit. Megállapítottam, hogy az egy napon túl, de 3 héten belül kétoldalivá váló arcidegbénulás mindig, a recidiváló facialis paresis viszont sohasem *Borrelia*-fertőzés következménye. Elsőként hívtam fel a figyelmet arra, hogy a neuroborreliosisban gyakori a TBC-s agyhártyagyulladás utánzó liquorkép. A László Kórházban 1989-ben megnyitottam a vezetésemmel működő Lyme Ambulanciát, melyet OTKA támogatással és egy nagy értékű magánadományból szereltem fel. Magyarországon elsőként tenyésztettem ki a Lb okozóját, a *Borrelia burgdorferi* (Bb) kullancsokból, majd gerincfolyadékából, később EM-os és ACA-os betegek bőrbíopsziás mintáiból is. Mind a mai napig én foglalkozom egyedül az országban *Borrelia*-tenyésztéssel. Elsők között izoláltam EM-ből egy új Lyme spirochaetát, a *Borrelia spielmanii*-t. Magánpraxis keretében 1993-ban megalapítottam a Kullancsbetegségek Ambulanciáját. Az itt végzett munka legfontosabb állomásai: egy új, kullancs által terjesztett Rickettsia-fertőzés (tick-borne lymphadenopathy -TIBOLA) felfedezése, klinikai és epidemiológiai leírása, egy OMFB támogatással előállított Lyme Western (immuno-) blot (WB) kit kifejlesztése, melynek révén Magyarországon elsőként alkalmaztam a Lb diagnosztikájában ezt, a korábbiaknál sokkal megbízhatóbb technikát. Ugyancsak OMFB támogatással készítettem el az immunoblot vizsgálatot kiértékelő számítógépes prog-

ramot, ami számszerű eredmények megadását teszi lehetővé. Az eljárásnak később az automata immunoblot reader (AIR) elnevezést adtam. Kidolgoztam a Lb szerológiai diagnózist jelentősen javító összehasonlító immunoblot vizsgálatot (comparative immunoblot assay – COMPASS). Ez az egyetlen eszköz, amivel meg lehet válaszolni, hogy egy szeropozitív lelet háttérben jelenleg is fennálló vagy épp régen lezajlott és gyógyult fertőzésről, vagy egyéb eredetű ál pozitív reakcióról van-e szó. Tudomásom szerint ezt az alapvető problémát mások eddig még nem tudták megoldani. Leírtam egy új, és a korábbiaknál egyszerűbb, megbízhatóbb módszert az intrathecalis *Borrelia* antitest meghatározására, ami nélkülözhetetlen a neuroborreliosis igazolására. Terhességi Lyme fertőzéseket vizsgálva elsőként bizonyítottam be, hogy a kezeletlenül maradtak esetében gyakoribbak a magzati károsodások. Bár sokan utaltak rá, de statisztikus munkatársaim segítségével a világon én bizonyítottam be először, hogy a szűrővizsgálatként alkalmazott Bb antitest-meghatározás pozitív eredménye a legtöbb esetben téves. Különösen érvényes ez a nagy kockázatú populációkra (pl. erdészek), ahol a szerológia gyakorlatilag használhatatlan – legalábbis abban a formában, ahogy azt ma általában alkalmazzák. A COMPASS alkalmazása megoldást jelenthet ezekre a kérdésekre is. Munkatársaim segítségével Magyarországon elsőként állítottam össze klinikai és epidemiológiai tanulmányt a kullancsencephalitistről. Ebből a munkából kiderül, hogy a betegség még azelőtt megszelídült, mielőtt megritkult volna. Mivel Európában csaknem egyedülálló jelenséggént, idehaza látványosan lecsökkent az esetszám, sokakat foglalkoztat, hogy ez minek a következtében történt így. Az általam gyűjtött adatok alapján kialakított véleményem ellentétes az általános vélekedéssel, ami szerint a diagnózisok és bejelentések elmaradása okozná a látszólagosnak tartott javulást.

A Bb felfedezését (Burgdorfer et al., 1982) követő években számos külföldi klinikusról tudok, akik a Lb laboratóriumi diagnosztikájával kezdtek foglalkozni, sőt néhány laboratóriumi szakember is végzett klinikai vizsgálatokat. Ezen kollégák azonban később tanszék- és intézetvezetők vagy gyógyszergyári munkatársak, sőt néhányan miniszterek lettek. Mára bizonyára én maradtam a világon az egyik (?) egyetlen olyan kullancs által terjesztett fertőzésekkel foglalkozó klinikus, aki a laboratóriumi vizsgálatokat is maga végzi, és értékeli ki. Bár kényszerből alakult így, sok haszonnal is járt. Közel 10 000 kullancs által terjesztett emberi fertőzés diagnózisa és kezelése során jelentős tapasztalatra tettem szert. Képtelenség valamennyi megfigyelést randomizált, kontrollált kettős vak kísérlettel alátámasztani és rangos folyóiratban publikálni, de a legfontosabbakat a jelen disszertációba beépítettem. A Lb-sal kapcsolatos vizsgálataimról egy áttekintő tanulmánnyal kezdem a pályamunkámat. Ebben összefoglalom a

legfontosabb eredményeimet, és elhelyezem azokat a jelen ismereteink között. Ez a fejezet az Orvosi Hetilap felkérésére, a 125. évi jubileumi számba írt, később Markusovszky-díjjal elismert dolgozatom kibővített változata. Ezután két laboratóriumi diagnosztikai fejezet jön: a Bb WB kit kifejlesztése, majd a COMPASS bemutatása. A terhességi Lb-ról szóló tanulmány következik, majd a kullancsencephalitisről és a TIBOLÁ-ról készült, klinikai-epidemiológiai összefoglaló olvasható. A pályamunkát igyekeztem úgy összeállítani, hogy a felvonultatott tanulmányok reprezentálják a szerteágazó munkásságomat. Klinikai munkáról szól „A Lyme borreliosis Magyarországon”, „A TIBOLA felfedezése”, szerodiagnosztikai fejlesztésről az „Előrelépés a Lyme-kór diagnosztizálásában: Western blot kit kifejlesztése” és az „Előrelépés a Lyme szerológiában: comparatív immunoblot assay (COMPASS)”. Epidemiológiai munka „A terhességi Lyme borreliosis” és „A kullancsencephalitis fejezet” nagy része, valamint a „Ló kontaktus szerepe a TIBOLÁ-ban”. Klinikai kísérletes tanulmány a „Klinikai vizsgálat a kullancsencephalitis megelőzésére kifejlesztett Encepurral”. Jórészt műszaki fejlesztés az „Automata immunoblot reader (AIR)”.

Mivel az általam végzett munka eléggé szerteágazó, nem szerepeltetek önálló módszertani részt, és ahol csak lehet, hivatkozom a megjelent közlemények metodikai fejezeteire. A módszertant a megfelelő helyeken rövidítve tárgyalom. Az egyszerűbb statisztikai számításokat magam végeztem, azokat a számításokat és ábrákat, amelyeket munkatársaim készítettek, a nevük megjelölésével közlöm. A pályázatban szereplő fényképeket, és ahol nem jelölöm másként, az ábrákat is magam készítettem.

dc_164_11

I. Lyme borreliosis

I/1. A Lyme borreliosis Magyarországon: összefoglaló tanulmány

I/1.1. Áttekintés

Európán kívül is több, kullancs által terjesztett emberi fertőzést ismerünk (Vesco et al., 2011). Mai tudásunk szerint a legtöbb megbetegedést mégis az északi féltekén honos Lb okozza. A betegséget sokféle néven említi a szakirodalom, de a leggyakrabban használt, Lb elnevezést szerzőtársam, Bózsik Béla javasolta először (Bózsik et al., 1986). A Lb Európában az esetek túlnyomó többségében jóindulatú, sokszor magától is gyógyuló betegség, amely azonban - nem prognosztizálható módon - néha progresszív lefolyást mutat. A kórkép a Bb felfedezését követően vált ismertté. A felfedezés megteremtette az antitest-meghatározáson alapuló laboratóriumi diagnosztika lehetőségét. Ez a lehetőség egyszerre jelentette a Lyme betegek mind nagyobb számban történő felismerését, ugyanakkor téves diagnózisokat, újabb és újabb kórképek *Borrelia* eredetének „felfedezését”.

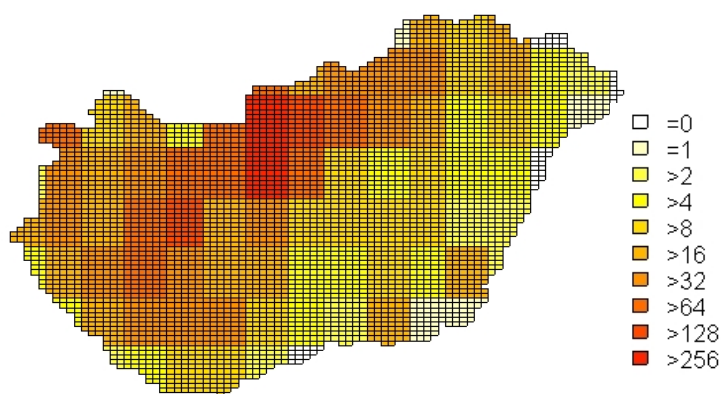
A beteg sorsa jórészt a kezelőorvoson múlik. A klinikai kép, a kórlefolyás változatos. Halálozás gyakorlatilag nincsen, de a fertőzés idültté válhat, ritkán évtizedekig is eltarthat, súlyossága ebből adódik. A fertőzés kórismézése és kezelése terén számos bizonytalansággal találkozhatunk még 35 évvel a betegség felfedezése (Steere et al., 1977) után is. A helyes döntések támogatására több klinikai és módszertani útmutató szövegezésében vettem részt (WHO, 1989; WHO, 1990; A Fővárosi Szent László Kórház Módszertani levele, 1991; WHO, 1995; Stanek et al., 1996; OEK, 1998; Lakos, 1999a-c; Brouqui et al., 2004; Lakos, 2004b; Lakos, 2008; Lakos, 2009; Infektológiai Szakmai Kollégium, 2011).

I/1.2. Epidemiológia

A Lb az északi féltekén a leggyakoribb vektor által közvetített fertőző betegség. *Ixodes* kullancsok terjesztik. A Lb - noha a kórokozó egyéb vérszívókból is kimutatható - csak megelőző kullancscsípés következtében jön létre, a csípés ténye azonban rejtve maradhat. Az Európában, Ázsiában, Észak-Amerikában elterjedt betegség incidenciája 10-300/100 000 között mozog. Közép-Európa a legfertőzöttebb területek közé tartozik. A Lb Magyarországon mindenütt előfordul, sokkal gyakoribb, mint az azonos kullancs által terjesztett, de csak góciókban

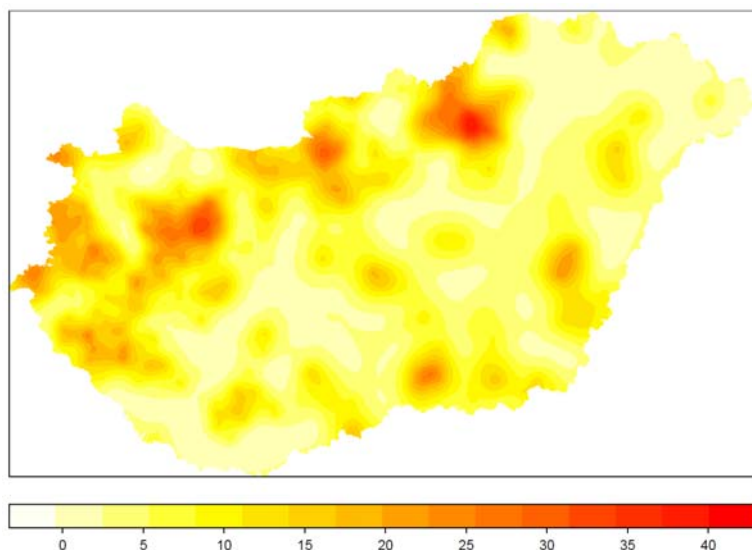
megjelenő kullancsencephalitis (Lakos et al., 1996-1997). Az Ixodesek Bb fertőzöttségét hazánkban 12% körülinek találtuk (Lakos et al., 1991). Később, az izolálási technikán javítva és többféle módszert párhuzamosan alkalmazva már minden második Ixodes ricinus nőtényben kimutattuk a Lyme spirochaetát. A kórokozó rezervoárjai főleg a rágcsálók (egér, pocok), maguk a kullancsok, és egyes madarak (feketerigó, fécán, sirályfélék), sőt új felfedezés szerint a zöldgyík is (Földvári et al., 2009).

A Lb Magyarországon 1998. óta bejelentendő betegség. Évente átlagosan 1000 esetet regisztrálnak. A bejelentett esetek száma évről-évre nő, 2011-ben várhatóan 3000 esetet fognak jelenteni, de kiszámíthatatlan, hogy ebből mennyi alapul téves diagnózison. Valódi hazai gyakoriságát a környező országok adatait is figyelembe véve 80-100/100 000/év körülire becsülhetjük (Lakos, 1989; Lakos, 1995a). A szubklinikus infekciók legalább olyan gyakoriak, mint a tünetekkel járók. Egyes területeken és populációban (pl. erdészeti dolgozók) az átfertőződés mértéke elérheti a 37%-ot, sőt az idősebb erdészek körében akár az 50%-ot is! (Lakos, 1996a; Lakos et al., 2011, Lakos et al., 2012). A mindennapi klinikai tapasztalataim alapján biztos vagyok abban, hogy nagyon sok beteget tévesen véleményeznek Lb-nak, ugyanakkor számtalan esetet nem ismernek fel, és a felismert eseteknek is csak egy töredékét jelentik. A friss esetek május-júliusban keletkeznek, ősszel egy kisebb második csúcs mutatkozik. Minden életkorban előfordul. Nők és gyermekek gyakrabban jelentkeznek a korai bőrtünet, férfiak a későbbi szervi elváltozások miatt (Lakos, 1991a). A Lb hazai területi megoszlása (I/1. ábra) hasonlít a kullancsencephalitiséhez, és mindkét betegség területi megoszlása megegyezik a nagyvadak (gímszarvas, vaddisznó) eloszlásával (lásd később).



I/1. ábra. Lyme Borreliosis előfordulása régiók szerint a Kullancsbetegségek Ambulanciáján megjelent 9540 beteg alapján (Lakos és Solymosi et al.). A térképen azok a betegek szerepelnek, akik felismerték a kullancscsípésüket, és biztosan tudták a csípés földrajzi helyét, valamint vagy a klinikum, vagy a szerológia alapján igazolódott Borrelia-fertőzésük. A csípéseket egy autóstérképen jelöltük be a térkép által használt felosztás alapján (lásd később). A színskála a betegszámot jelöli (Solymosi Norbert ábrája).

Hasonló eloszlást kapunk, ha az erdészeti dolgozók szeroprevalenciája alapján próbáljuk megállapítani, hogy melyek a legfertőzöttebb területek Magyarországon (I/2. ábra).



I/2. ábra. 2641 erdészeti dolgozó szűrővizsgálata alapján készült térkép. A területeket a dolgozó munkahelye szerint tüntettük fel. A színskálán megadott értékek a szeropozitivitás százalékos arányát jelölik. Nullával azokat a területeket jelöltük, ahol nem végeztünk vizsgálatot (Solymosi Norbert ábrája).

I/1.3. Kórokozó, patomechanizmus

A *Spirochaetales* rend 3 genusából az egyik a Borreliáké. A Borreliák rendkívül mozgékony, dugóhúzó alakú, 5-25 μm hosszú és 0,2-0,5 μm széles mikroorganizmusok. Valamennyi Borreliára jellemző a többrétegű burok, mely körülveszi a protoplazmás cilindert. A protoplazmás cylinder peptidoglican-rétegből, sejtmembránból és a sejtplazma tartalmából tevődik össze. Jellemzők a periplazmatikus csillók, melyek a külső burok és a protoplazmás cylinder között találhatók. A baktérium mindkét végén található 7-20 darab flagellum szerkezete azonos a többi csillós baktérium csillójával. A Bb egyedülálló genetikai struktúrával rendelkezik, mely eltér minden egyéb baktériumétól: lineáris kromozómája és számos lineáris, valamint cirkuláris plazmidja van.

A Burgdorfer által az USA-ban felfedezett spirochaetát *Borrelia burgdorferi*-nek nevezték el. Később Európában és Ázsiában újabb alfajait izolálták. Az eredeti amerikai spirochaeta a *B. burgdorferi sensu stricto*, míg a Lb-t okozó teljes baktériumcsoport a *B. burgdorferi sensu lato* elnevezést kapta. A *B. afzelii* elsősorban a bőrgyógyászati formák, a *B. garinii* a neurológiai tünetek okozója. Mindhárom Borreliafaj okozhat EM-t. Európában mindhárom faj jelen van, É-Amerikában csak a *B. burgdorferi sensu stricto*, Ázsiában csak a *B. afzelii* és a *B.*

garinii található. Újabb, human patogén fajait is ismerjük, az egyiket, a *B. spielmanii*-t Európában másodikként izoláltuk EM-ből (Földvári et al., 2005).

A Bb a kullancs gyomrában szaporodik, a legalább 24 órája tartó vérszívás során, vagy hamarabb, a kullancs eltávolításakor, a parazita összepréselésével kerül az emberi szervezetbe. Haematogen úton és per continuitatem is terjed a szervezetben. A véráramból az endothelt átfúrva képes kilépni (Moriarty et al., 2008). Patogenitása az endotheliumhoz illetve a subendothelialis mátrixhoz való kötődési képességével arányos. Az azonos Borreliafajba tartozó Borreliák patogenitásában nagy különbségek mutatkoznak. Vannak csaknem apatogén izolátumok, melyek tünetmentes fertőzéssel járnak, vagy okoznak ugyan bőrtüneteket, de szisztémás fertőzést nem. Ezek többnyire immunogének, ismételt fertőzések után tartós védettséget is okozhatnak. A patogenitáshoz szükséges tulajdonságaikat plazmidjaik kódolják. A teljes Borrelia genom 40%-a plazmidokon található! A dugóhúzó alakú, függén mozgó spirochaeták a szövetek között gyorsan haladnak, passzálják az intercelluláris réseket. A gerincfolyadékban a fertőzést követően 24 órán belül már kimutathatók. A gyorsan tovahaladó kisszámú mikroba is kifejezett gyulladásos reakciót képes kiváltani. A kórokozó bejut az endothelsejtekbe, fibroblastokba és a macrophagokba. Képes megfújni a lymphocytákat és azok sejthártyájába burkolózva elbújhat a gazdaszervezet immunitása elől.

I/1.4. Klinikum

Az első hazai eseteket 1984-ben ismertem fel, és munkatársaimmal az Orvosi Hetilap hasábjain ismertettem (Lakos et al., 1985). A betegség legfontosabb klinikai tüneteit az alábbiakban foglalom össze.

I/1.4. 1. **Erythema migrans (EM)**

A Lb sohasem okoz légúti tüneteket és szinte sohasem jár lázzal. Az EM a legjellegzetesebb korai tünet, többnyire a kullancscsípés helyén keletkezik; a széli részén lassan növekvő, ovális alakú bőrpír (Török et al., 1987; Lakos, 1992a; 1999c). Átmérője hetek-hónapok múlva elérheti akár az 1 m-t is. A bőrpír legalább egy hétig, esetenként hónapokig, ritkán egy éven át megmarad, de előbb-utóbb magától is eltűnik. (Attól még a kórokozó a szervezetben tovább szaporodhat). Saját számításaim (1784 beteg adatainak elemzése) alapján a kullancscsípést az EM-os betegek mintegy 70%-a veszi csak észre (Lakos, 1999c).

dc_164_11

Az EM gyakran céltáblaszerű: közepén lilás, a szélén piros, a kettő között, pedig halvány vagy épp egészségesnek látszó bőrterület mutatkozik (I/3. ábra).



I/3. ábra. Jellegzetesnek tartott, céltáblaszerű EM.



I/4. ábra. A térdhajlatban kezdődő EM kezdetben kissé duzzadt, csíkszerű lehet.

A hajlatokban (leggyakrabban a térdhajlatban) kezdődő EM kezdetben csíkszerű, napok alatt fokozatosan növekszik, majd ovális alakot ölt, elsimul (I/4-5. ábra).



I/5. ábra. Térdhajlatban kialakuló, jellegzetes formájú, mégis gyakorta fel nem ismert EM.

Fontos hangsúlyozni, hogy az EM kezdetben homogén, és többnyire csak napok, hetek múlva (akkor sem mindig) ölt céltáblaszerű rajzolatot. Az 5 cm-nél kisebb, céltáblaszerű erythema sohasem EM (I/6. ábra).



I/6. ábra. Rovarsípés nyomán kialakuló, céltáblaszerű erythema. Gyakorta tévesztik össze Lb-sal.

Különösen az alsó végtagokon, a térdhajlatban, lábszáron és a bokák felett, egész területében bevérzett, vagy vérzésekkel tarkított lehet (I/7-8. ábra).

dc_164_11

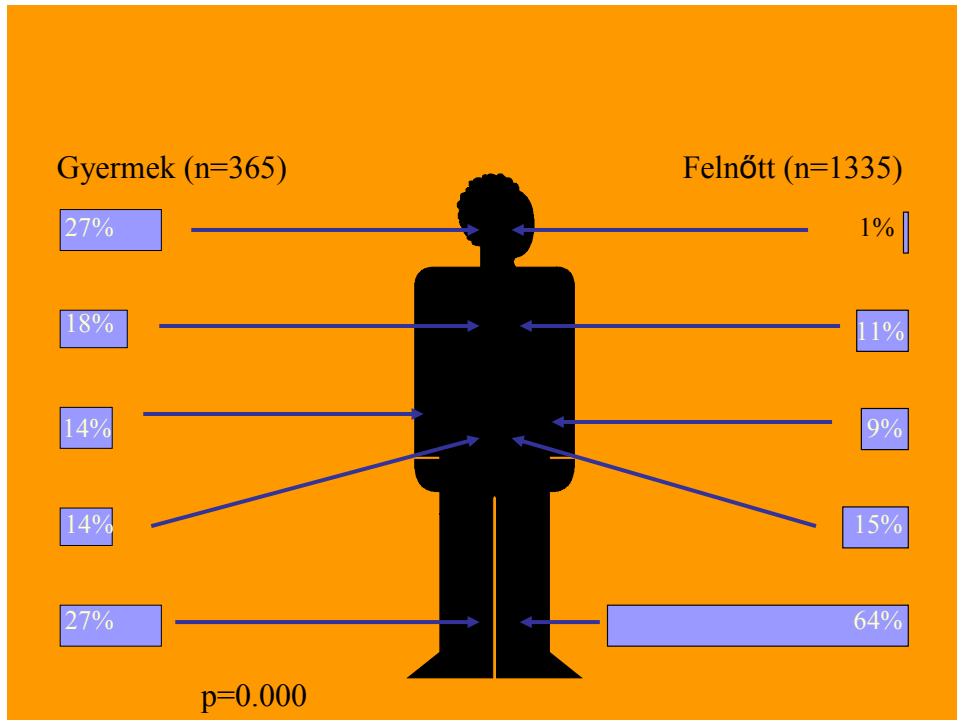


I/7. ábra. Jellegzetes, a boka körül szinte mindig bevérzésekkel járó EM.



I/8. ábra. A lábszáron kialakuló kifejezett bevérzéssel járó EM-t ritkán ismerik fel ebben a formában.

Gyermekeknél a kullancscsípés gyakori a fejen, a fül mögött, ahol csak ritkán fedezik fel (I/9. ábra).



I/9. ábra. Az EM testtájékok szerint 1700 beteg alapján (Lakos és Nagy, 2000).



I/10. ábra. A fül körül kialakuló EM a gyermekkorra jellemző. Az EM gyakran eltűnik, és a fül duzzanata fokozódik, kialakul a BL (lásd később).

A fül mögötti centrummal induló EM általában igen halvány bőrpírral jár, lehet homogén, de rendszerint csak egy nagyjából függőleges (cranio-caudalis irányban húzódó), ujjnyi széles

csíkot látunk a fül előtt, ami napok-hetek alatt vándorol előre az orr vonaláig, amikor is eltűnik (I/10-11. ábra).



I/11. ábra. A fel nem ismert, fül mögötti kullancscsípés után az arcon egy cranio-caudalis irányban húzódó csík kúszik lassan az orr felé. A felvétel különlegessége, hogy kivehető, valójában itt is egy kör alakú foltról van szó, amit a dúsabb hajzat általában (más esetekben) eltakar. Kialakulóban a Borrelia lymphocytoma.

Fájdalmat szinte sohasem okoz, viszketni is csak minimális mértékben szokott. Előfordul, hogy komoly fáradékonysággal, fej, ízületi vagy izomfájdalmakkal jár. A látványon kívül azonban többnyire semmi más panasz sem kíséri.

A multiplex EM viszonylag ritka, 1784 betegemből 121 (6,7%) esetben fordult elő (Lakos, 2011). Ilyenkor a csípéstől távoli területeken is, tipikusan 3-5 foltot látunk, ritkán 10-nél több elváltozás is előfordulhat. A multiplex EM morfológiája változatos, a foltok többnyire homogének, és gyakran a bőrjelenségek átmérője csak 2-4 cm, de előfordul a primer EM-szal egyező céltáblaszerű (I/12. ábra), akár 20-30 cm-es átmérőjű folt is. A multiplex EM diagnózisát segíti, hogy ilyenkor – ellentétben a szoliter EM-szal – mindig magas szintű, többnyire IgM osztályú szeropozitivitást találunk. Az EM csak az esetek felében-kétharmadában alakul ki. A Lb kezdődhet a későbbi formák valamelyikével, de ezek követhetik a kezeletlenül hagyott EM-t is.



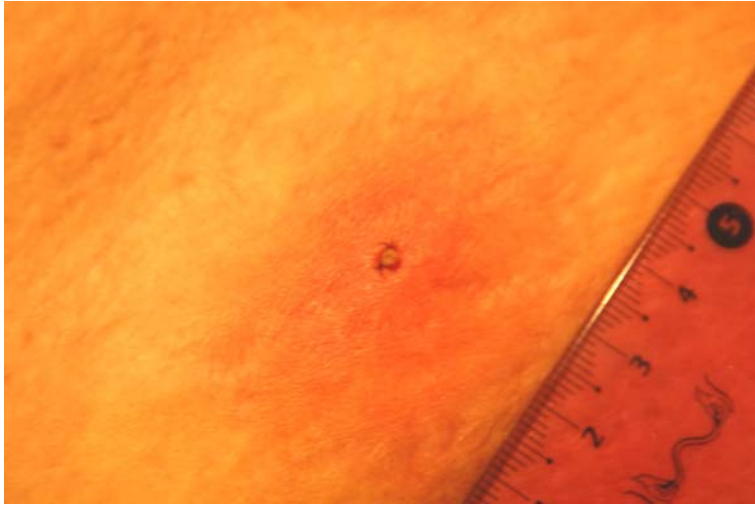
I/12. ábra. Multiplex EM.

A nemzetközi ajánlások általában csak a fokozatos növekedést és az 5 cm-es minimális átmérőt tekintik kritériumnak. Ezeket a feltételeket azonban sok egyéb bőrtünet is teljesíti. Ezekből mutatok be a teljesség igénye nélkül néhányat (I/13-19. ábra).



I/13. ábra Tinea (microsporiasis)

dc_164_11



I/14. ábra Ixodes nőstény kullancs a bőrben, hyperergiás reakció



I/15. ábra. Fix gyógyszerexanthema



I/16. ábra Schamberg purpura



I/17. ábra. Centrumában gennyes folyamat: cellulitis. Tömött, nyomásra érzékeny, a széli részen óráról órára terjedő gyulladás magas láz kíséretében.



I/18. Ábra. Granuloma anulare, gyakran tévesztik össze EM-szal.



I/19. ábra. A morpheának is van az EM-ra emlékeztető formája.

Az általam javasolt kritériumokban elkülöníttem a felismert kullancscsípés után megjelenő erythemát a csípés felismerésének hiányában mutatkozótól. Más útmutatókban nem szerepel ez a különbségtétel, pedig nyilvánvaló, hogy a felismert kullancscsípés növeli a diagnózisunk specificitását. Kullancscsípés hiányában az eredeti ajánlásokhoz képest nagyobb átmérőjű folt és hosszabb fennállás szükséges az EM diagnózisának a kimondásához. A Lb lassan progrediáló kórkép, nem a gyors, hanem a biztos diagnózisra kell törekedni.

Diagnosztikus kritériumok:

Felismert kullancscsípés esetén								
A kullancs- csípés helyén	ÉS	Legalább 24 óra lappangási idő után	ÉS	legalább 3 napja foko- zatosan növekvő,	ÉS	legalább 5 cm átmérőjű,	ÉS	ovális erythema.
Felismert kullancscsípés hiányában, vagy a felismert csípéstől távol keletkező								
Legalább 5 napja fokozatosan növekvő				ÉS	legalább 8 cm-es ovális erythema.			

I/1.4. 2. **Borrelia lymphocytoma (BL – korábban lymphadenosis benigna cutis)**

Ritkán észlelhető kórforma. Többnyire a gyermekek fülcimpája vagy az egész fülkagyló duzzadt, jellegzetesen lilás-vörös színű (I/20. ábra). A folyamat minimális érzékenységgel járhat, de alapvetően fájdalomtalan. Kezelés nélkül hónapok alatt tűnik el. Ez azért fontos, mert a fülkagylón a szúnyogcsípés, főleg a kicsiknél utánozhatja a BL-t, de azzal szemben mindig elmúlik pár nap alatt. Pubertásban és felnőttekben az emlőbimbót involválva is megjelenhet. Gyakran erythema migrans veszi körül, vagy annak a helyén fejlődik ki (Lakos, 1992a).



I/20. ábra. *Borrelia lymphocytoma*

Diagnosztikus kritériumok:

Fájdalmatlan	É S	a fülkagylón, a fülcimpán, a mellbimbón	É S	lilas-vörös tömött duzzanat.	É S	Kezeletlenül egy hétnél tovább tart.
--------------	--------	---	--------	---------------------------------	--------	---

I/1.4. 3. Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA)

Többnyire idősebb nők betegsége: akár évtizedes lappangási idő után, a végtagok fesztő oldalán lividdé, tésztás tapintatúvá válik a bőr, majd foltokban, elsősorban a kidudorodó csontok felett atrophizálódik, áttűnnek az erek (I/21. ábra). Rendszerint igen fájdalmas, mert az alatta lévő idegvégződés és csontok, ízületek is megbetegszenek. Ez a progresszív *Borrelia* encephalomyelitis mellett a másik olyan kórforma, amely kezelés nélkül folyamatosan progrediál, spontán remisszió nem fordul elő. Mindig igen magas *Borrelia* antitestszint kíséri a szövettanilag is jellegzetes folyamatot (Budai et al., 1989; Liszkay et al., 1988).



I/21. ábra. A bal lábfejen két éve fennálló ACA

Diagnosztikus kritériumok:

A vég- tagok fesztő oldalán	ÉS	hónapok vagy évek óta fennálló,	ÉS	kezdetben tésztás tapintatú, extrém livid,	VAGY	később fol- tokban atrophizáló- dó bőr,	ÉS	extrém fokú* <i>Borrelia</i> IgG szeropozitivitás.
--------------------------------------	----	--	----	--	------	---	----	--

* Lásd később!

I/1.4. 4. **Lyme carditis**

A kezeletlen fertőzést követő hetek ritka szövődménye a szívizomgyulladás. Az irodalomban korábban az szerepelt, hogy a Lyme betegek 8%-ában fordul elő. Én 1996-tól 2012-ig összesen 17 beteget láttam, ahol az alább megadott kritériumok alapján a Lyme carditis diagnózisát bizonyítottanak tartom. Ez 1% körüli gyakoriságot jelent. Akut kezdet, fluktuáló I-II-III-fokú AV-block, következményes bradycardia jellemzi. Adams-Stokes-szindróma előfordulhat (Lőrincz, Várvolgyi et al., 1989). Szívrorej soha nincsen. Kisfokú, klinikai tünetet nem okozó pericarditis kísérheti. A Lyme carditis betegek fele ideiglenes pacemaker-kezelésre szorul (Lőrincz és Lakos et al., 1989; Ormay et al., 1990) emiatt a diagnózis megállapítását kórházi felvétel kövesse, ahol kardiológiai monitorozás és ellátás rendelkezésre áll.

Diagnosztikus kritériumok:

Fluktuáló 1., 2., 3. fokú atrio-ventrikuláris blokk				
ÉS				
2 hónapnál nem régebbi kullancscsípés	ÉS/VAGY	erythema migrans után	ÉS/VAGY	WB-tal igazolt Borrelia szeropozitivitás

I/1.4. 5. **Perifériás facialis paresis**

Diagnosztikus kritériumok:

Perifériás facialis paresis								
ÉS								
2 hónapnál nem régebbi kullancscsípés	ÉS VAGY	kezeletlenül hagyott erythema migrans	ÉS VAGY	lymphocytás meningitis	ÉS VAGY	2 nap - 3 hét múlva kétoldali arcidegbénulás	ÉS VAGY	WB-tal igazolt Borrelia szeropozitivitás

Jellemző a hirtelen kezdet, a fokozatosan progrediáló arcidegbénulás Lb ellen szól. A legalább 1 nap után kétoldali váló folyamat is szinte biztos, hogy Lb következménye. A (6 hónapon túl, többnyire évek múlva) recidiváló facialis paresis viszont sohasem Borrelia-fertőzés következménye. Ez utóbbi hátterében gyakran Melkersson–Rosenthal szindróma áll. Ez a tünetegyüttes leggyakrabban csak a nyelv radiálgumi-szerű durva mintázatában mutatkozik, ehhez társul a recidiváló facialis paresis, ami az első epizódoknál még többnyire jóindulatú, később azonban maradványtünetekkel gyógyul (Hoogkamp-Korstanje et al., 1994; Lakos, 1988a-b; Lakos, 1991; Lakos és Herczegfalvi et al., 1988; Lakos és Komoly et al., 1988; Szever et al., 1988).

I/1.4. 6. **Lymphocytás meningoradiculitis**

Diagnosztikus kritériumok:

Serosus meningitis	ÉS	intrathecalis Bb antitestszintézis
--------------------	----	------------------------------------

Meningitis, 2 nap múlva kétoldalivá váló arcidegbénulás, esetleg a szemmozgató idegek bénulása és fájdalmas radiculoneuritis (Garin-Bujadoux-Bannwarth-szindróma) a fertőzés utáni hetekben alakulhat ki (Lakos és Komoly et al., 1988). A meningitis jellemzően nem jár tarkókööttséggel, alig van objektív neurológiai eltérés. A n. facialis és a szemmozgató idegeken kívül más agyidegek nem érintettek (Lakos, 2002c). Gyermekkorban különösen gyakori a meningitisszel kísért arcidegbénulás, melyhez azonban csak ritkán társul polyneuropathia (Lakos, Komoly et al., 1988; Lakos, Herczegfalvi et al., 1988; Lakos, 1991a). A liquorban emelkedett fehérje, 50-800 lymphocyt/μl, néha, különösen a sokára diagnosztizált esetekben alacsony cukorszint található (Lakos 1992b). Elsőként hívtam fel a figyelmet, hogy a liquorkép és az idült lefolyás miatt a betegség összetéveszthető meningitis basillariszal (Lakos, 1991b). A krónikus neuroborreliosis rendkívül ritka, encephalomyelitisszel, radiculomyelitisszel és krónikus meningitisszel jár (Lakos, 1986). A diagnózis megállapításának elengedhetetlen feltétele a lymphocytás pleocytosis és a specifikus intrathecalis *Borrelia*-antitesttermelés igazolása (Lakos, Ferenczi et al., 2005). A vér-agy-gát károsodása a terápia után gyorsan helyreáll, de az intrathecalis immunglobulin-termelés még hosszabb ideig kimutatható (Komoly et al., 1989).

I/1.4. 7. **Chronicus neuroborreliosis**

Diagnosztikus kritériumok:

Legalább 3 hónapja fennálló encephalomyelitis vagy radiculomyelitis,						
ÉS						
WB-tal igazolt extrém fokú IgG <i>Borrelia</i> szeropozitivitás a szérumban	ÉS	WB-tal igazolt extrém fokú IgG <i>Borrelia</i> szeropozitivitás a liquorban	ÉS	lymphocytás meningitis	ÉS	intrathecalis <i>Borrelia</i> antitest szintézis

Rendkívül ritka, krónikus meningitisszel jár (Lakos, 1986a-b). A diagnózis megállapításának elengedhetetlen feltétele a lymphocytás pleocytosis és az intrathecalis *Borrelia*-antitesttermelés igazolása. Gyakran társul memóriazavarral. Mi 18 betegből 8 esetben találunk memóriazavart. Erre a rövid távú emlékezés súlyos és különleges hibája volt a jellemző:

egy új információ tökéletesen felülírta, kitörölte az előzőleg megtanult szavakat vagy számsort. A ceftriaxon-kezelés 3. napjára 2 kivétellel látványos javulást láttunk (Szabó, 1992), igazolva, hogy a memóriazavar az aktív Bb fertőzés következménye.

I/1.4. 8. **Chronicus polyneuropathia**

Diagnosztikus kritériumok

Legalább 3 hónapja fennálló aszimmetrikus axonális degeneratio
ÉS
WB-tal igazolt extrém fokú IgG Borrelia szeropozitivitás a szérumban

Krónikus polyneuropathia meningitis nélkül is előfordul, mindig aszimmetrikus, és axonális degeneratio jellemzi. Negyvennégy betegünk alapján úgy találtuk, hogy a szenzoros idegvezetés károsodása volt a legkifejezettebb, és a kezelés utáni javulás is ebben a paraméterben volt a legkifejezettebb. A klinikai javulás 1 kivételével minden esetben látványos volt, és az antibiotikum-kezelés első napjaiban már megfigyelhető volt, és jól korrelált az EMG javulással. Azt tapasztaltuk, hogy a legdisztálisabb idegszakaszban mutatkozott először a javulás, ami a „dying back” neuropathiákra jellemző. (Horváth et al., 1992).

I/1.4. 9. **Lyme arthritis**

Láztalanul zajló, aszimmetrikus nagyízületi oligoarthritis
ÉS
WB-tal igazolt extrém fokú IgG Borrelia szeropozitivitás a szérumban

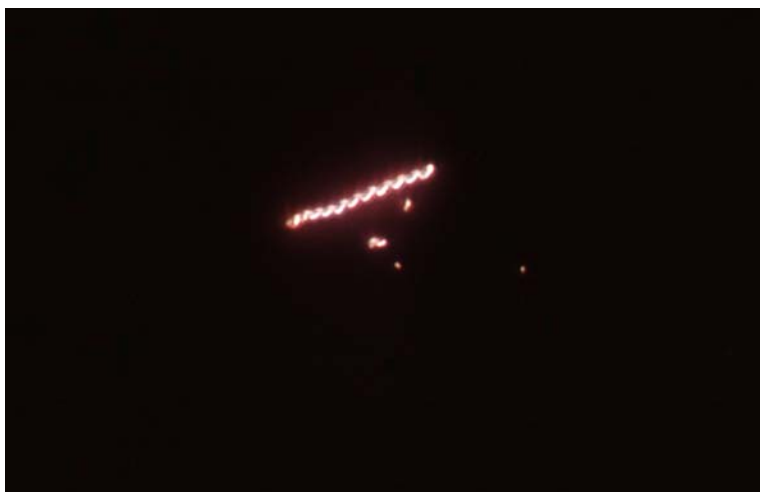
A fertőzést követően hetekkel, többnyire hónapokkal, néha évekkkel ízületi gyulladások keletkezhetnek. Legjellemzőbb a térdízület jelentős folyadékgyülemmel járó, de csak mérsékelt fájdalommal kísért duzzanata. A beteg térde kitölti a nadrágját, mégis alig sántítva lép a rendelőbe. A hetekig tartó oligoarthritis követően spontán remisszió, majd újabb hetek múlva relapszus észlelhető. Krónikus synovitis ritka, egy vagy néhány ízület érintettségével jár. Kisízületi arthritis is előfordul, de lényegesen ritkább, többnyire ACA-hoz társul. Mindig extrém mértékben emelkedett anti-Borrelia IgG-szinttel jár.

I/1.5. Laboratóriumi diagnózis

A rutin laboratóriumi leletekben általában nincs eltérés. A diagnózist a jellemző klinikai tünetek (pl. EM) és a kórokozó vagy a kórokozóra adott immunválasz kimutatása igazolja.

I/1.5.1. Direkt mikroszkópos vizsgálat

A Bb a testfolyadékokból történő direkt kimutatása elvileg lehetséges, de gyakorlatlan kezekben az ál pozitivitás és az ál negativitás kockázata is olyan nagy, hogy nem érdemes a vizsgálatot elvégezni. A szeroreakció kialakulása előtt (igen ritkán később is) a liquorból sötétlátóteres kondenzorral felszerelt fény- vagy elektronmikroszkóppal a kórokozók esetleg kimutathatók (I/22. ábra), de ez roppant idő- és munkaigényes vállalkozás.



I/22. ábra. *Borrelia burgdorferi* egy neuroborreliosisban szenvedő erdész liquorából sötétlátóteres mikroszkóppal, direkt kenetből. Kb. 1000-szeres nagyítás.

I/1.5. 2. Szövetekből történő kimutatás

Anilinfestéssel vagy ezüstimpregnációval történik. A festett készítmény értékelése nagy gyakorlatot igényel, mert a megfestődő rugalmas rostok spirochaetákra emlékeztethetnek. A Borreliák direkt immunfluoreszcens eljárással is kimutathatók.

I/1.5.3. Polymerase láncreakció (PCR)

Az ízületi folyadékból történő kimutatás kivételével a klinikai mintákból, vérből a PCR nem bizonyult elég érzékeny eljárásnak. EM-os betegek 146 vérmintájából mindössze 30, 91 vi-

zeletmintájából 14, 125 LMR-es beteg liquorából 19 esetben sikerült PCR-rel Bb-t kimutatnunk (Le Gassic, 1992; Dodge, 1993). Liquorból még azokban az esetekben is rendre negatív eredményt kaptunk, amikor a kórokozót ugyanabból a mintából ki tudtam tenyészteni.

I/1.5.4. Tenyésztés

A Bb rendkívül igényes baktérium. BSK (Barbour-Stoenner-Kelly) tápoldatban, ami 67 komponenst tartalmaz, szemianaerob körülmények között tenyészthető. EM széli részéből vagy ACA-ból vett, legalább 4 mm-es biopsziás minta ideális a tenyésztésre. A bőrbopsziás mintából az izolálás 80%-ban lehet sikeres, de voltak időszakok, amikor valamennyi mintából ki tudtam tenyészteni a Bb-t (Lakos et al., 2000). A tenyésztés minden esetben pozitív volt, ha a bőrfelületet előzőleg kortikoszteroid tartalmú krémmel kezelték. Ilyenkor nemcsak a tenyésztés esélye nőtt, hanem a tenyészidő is lerövidült. Amíg a szteroidot nem kapott betegekben átlagosan 28 nap kellett ahhoz, hogy a tenyészetből készült kenetben több mikroszkópos látóteret átvizsgálva 1-2 Borreliát találjunk, a szteroiddal kezeltékben általában egy hét múlva már hemzsegték a spirochaeták. Ez roppant izgalmas megfigyelés, de további vizsgálata a jövő feladata. A 4 mm-nél kisebb méretű biopsziás anyag az én kezemben sokkal kisebb arányban adott pozitív tenyésztési eredményt. A liquor cerebrospinalisból a fertőzés kezdeti szakában az esetek 1-10%-ában volt sikeres a tenyésztés, de egyéb szövetekből, vérből és váladékokból csak kivételesen ritkán voltunk eredményesek. Paradox módon a tenyésztés többnyire csak akkor sikerült, amikor a klinikai diagnózis megállapítása nem okozott gondot. Az 1041 EM-os páciens bőrbopsziás mintájából szignifikánsan gyakrabban tudtunk Borreliát izolálni, ha még nem alakult ki immunválasz. E vizsgálati sorozatból származó 198 izolátumot szekvenált Ian Livey (Immuno Ag, Bécs). Többségük (n=166, 84%) *B. afzelii*-nek, kisebb részük (n=16, 8%) *B. burgdorferi sensu stricto*-nak és *B. garinii*-nek (n=16, 8%) bizonyult. Az egyik 1999-ben végzett biopsziából kitenyésztett spirochaeta *B. spielmanii*-nak bizonyult (Földvári et al., 2005). Bár csak később publikáltuk, de valójában ez volt a 2. eset Európában, hogy ezt a kórokozót EM-ből sikerült kitenyészteni. A későbbiek során (idült neurológiai és mozgásszervi megbetegedések) a tenyésztés szinte mindig eredménytelen volt.

I/1.5.5. Immunszerológiai diagnózis

A betegség igazolására világszerte az immunszerológia a leginkább használt eljárás. A szerológiai eljárások mind a mai napig nincsenek standardizálva, és ezért kiterjedt használatuk igen sok tisztázatlan kérdést hozott a felszínre. Számos, rosszul beállított, vagy éppen használhatatlan kit volt, és van forgalomban. Az egyes tesztek között meglepően nagy különbségek észlelhetők (Lakos, 1990). Általában IgM és IgG típusú antitesteket vizsgálunk. Az antitestválasz lassan (3-6 hét alatt) fejlődik ki, és a gyógyulás után is tartósan perzisztálhat. IgM-reakció nem mindig mutatható ki még a korai formákban sem. Ennek az lehet az egyik oka, hogy még a ritkán (főleg multiplex EM esetén) látható, rendkívül intenzív IgM válasz is sok esetben 2-3 hét alatt eltűnik. Az is előfordul azonban, hogy az IgM válasz évekig perzisztál. Gyakori, hogy viszonylag rövid ideje, pár hete fennálló erythema migrans esetén is csak IgG reakció mutatható ki. Önmagában a pozitív IgG reakció nem jelent idült fertőzést! Az IgM-vizsgálatok esetén az aspecifikus reakciók kockázata nagy. Emiatt csak 3 hónapnál rövidebb ideje fennálló klinikai tünetek esetén van értelme a vizsgálat elvégzésének. Egy évek óta tartó ízületi gyulladás hátterében kimutatott IgM pozitivitás IgG emelkedés nélkül biztosan laboratóriumi hiba következménye. Disszeminált, vagy késői Lb esetén mindig igen magas IgG-ellenanyagszint mutatható ki. Diagnosztikus célból nem szabad szerológiai vizsgálatot végezni klinikailag egyértelmű EM esetén, a kezelés megkezdését, dózisát, tartamát nem befolyásolhatja a szerológiai eredmény!

Ma kétféle szerológiai technikával találkozunk. Az ELISA (és ennek szinonimái és módosításai az ELFA, EIA, MEIA) leolvasása objektív, fotométerrel történik, tehát automatizált. Ennek ellenére a különféle gyártmányú tesztek eredményei eltérőek, néha egy kiten belül is megengedhetetlenül nagy szórást látunk (Lakos, 1995c).

A WB-ot az utóbbi évtizedben kiterjedten alkalmazzák, elsősorban a más módszerrel kapott eredmények megerősítésére. Az eljárás lényege, hogy a *Borrelia*-fehérjéket szétválasztjuk, majd azokat a szeparáló gélből egy szabályos pórusnagyságú műanyag-membránra visszük át, és az immunreakciót azon végezzük el. Az immunreakció végén színreakciót látunk, az egyes fehérjékkel szembeni immunválaszt csíkokban (bandekben) elkülönülve láthatjuk. A színreakció intenzitása arányos az egyes fehérjékkel szemben termelt antitestek mennyiségével. Utólérhetetlen előnye, hogy a kapott eredmény alapján - bizonyos korlátok között - elkülöníthető az aktív és a lezajlott (gyógyult) fertőzés (az előbbiben éles és intenzív, az utóbbiban „kopott” fátyolos, halványabb bandek láthatók), sőt az infekció időtartama is - megfelelő gyakorlattal - elég jól megítélhető (Lakos és Nagy, 1997; Lakos és Granström, 1997). Segítségé-

vel – a szérum és a liquor párhuzamos vizsgálatával – az intrathecalis anti-Borrelia immunoglobulin-termelés egy lépésben meghatározható (lásd később részletesen). Ugyanakkor az immunoblot leolvasása szubjektív, gyakorlatot igényel, és szinte lehetetlen standardizálni. A standardizáció megkönnyítésére fejlesztettük ki az automata immunoblot readert (AIR). Ez egy számítógépes képelemző program, amely képes a futtatási eltérések korrigálására, és az egyes antitestválaszok intenzitásának számszerű interpretálására (Lakos, Radványi et al., 1998; Lakos és Nagy et al., 2008). Természetesen a WB is csak megfelelő beállítás esetén működik jól.

Függetlenül attól, hogy melyik eljárást alkalmazzuk, a Borrelia-fertőzés szerológiaiilag akkor bizonyítható, ha az ismételt vett szérummintákban kimutatható a kórokozóval szemben termelődött antitestek diagnosztikus értékű emelkedése. A savópár-vizsgálatot – mivel a napi ingadozás a laboratóriumokban igen kifejezett lehet, – párhuzamosan, tehát a korábban vett, fagyasztva tárolt és a frissen vett mintán egyszerre kell elvégezni. Az eljárás - melynek a comparative immunoblot assay (COMPASS) nevet adtam -, kiértékelése nagy gyakorlatot igényel (Lakos és Nagy et al., 2008, Lakos és Igari, 2012). A COMPASS kifejlesztése, az értékelés szabályainak megfogalmazása rendkívül fontos előrelépés a Lb diagnosztikájában, ezért ennek külön fejezetet szentelek. Ha nem áll rendelkezésre savópár, akkor a diagnózis alátámasztására egy meghatározott szint feletti antitestmennyiség kimutatása is elfogadható, de csak ritkán bizonyító erejű (lásd később).

I/1.5.5.1. A szerológiai leletek értékelése

Ma már nem használnak hígítási sorokat, így nincsenek „titerek” a Lyme szerológiai vizsgálatok eredményében. Ehelyett egyetlen savóhígítást választanak, és a végbemenő immunreakció eredményeképp keletkező szín intenzitását (extinkcióját) mérik meg. Ez az érték 0,01-től 3-ig terjedhet, ami önmagában nem jelent semmit. Az érték döntően függ az egyes komponensek – az antigén, a vizsgálandó savó, az enzimmel jelölt anti-humán antitest, valamint a színreakciót adó szubsztrát – koncentrációjától, az inkubációs időktől és hőmérséklettől, a rendszerben szereplő enzimtől, az egyes komponensek mennyiségétől és minőségétől. Csak másodlagosan függ a vizsgálati mintában szereplő antitesttől (tehát a „pozitivitás” valódi mértékétől). A rendszer egyes tényezőinek változtatásával könnyen elérhető, hogy minden savóminta „pozitív” reakciót adjon, és fordítva, lehet a rendszer teljesen érzéketlen is.

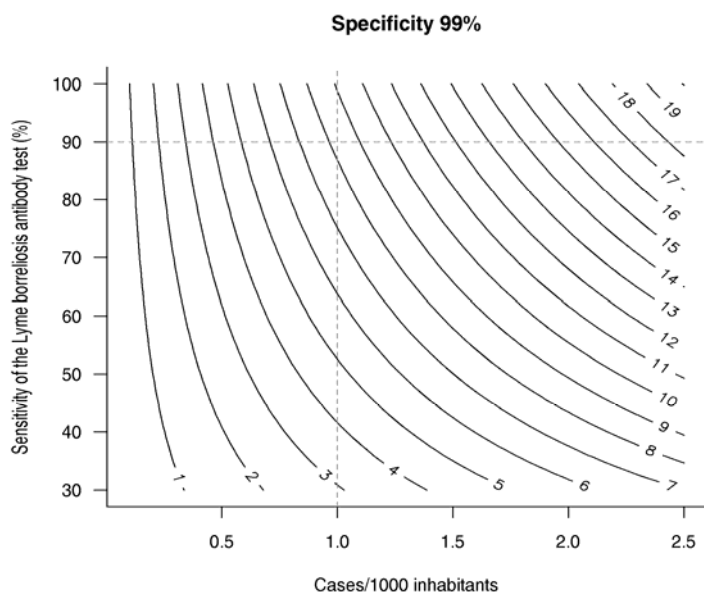
Az ötrétegű „szendvics”-ben szereplő egyes komponensek (antigén, savó, anti-humán immunoglobulin, szubsztrát, stop-reagens) optimális koncentrációját és a reakcióidőt ún. sakktábla-hígítással (Lakos 1999d) kellene meghatározni, amire azonban a gyakorlatban igen ritkán kerül sor. Hangsúlyozni kell, hogy a Lyme tesztek szűrővizsgálati alkalmazása több bajt okoz, mint amennyi hasznot hoz. Még a legjobb minőségű tesztek esetén is, amennyiben a vizsgálat próba, szerencse alapon történik, a pozitív eredmény csupán ~9%-ban utal valóban Lyme betegségre, a pozitív leletek 91%-a téves! (Lakos, Reicziegel et al., 2010). A pozitív prediktív értéket (PPV) az alábbi képlet alapján számoltuk:

$$p(A|B) = \frac{p(B|A) \times p(A)}{p(B|A) \times p(A) + p(B|\bar{A}) \times p(\bar{A})}$$

Ahol A jelöli a Lb-t, $\bar{A}$ a nem Lb eseteket és B a pozitív teszt eredményt. $p(A|B)$ a PPV, $p(B|A)$ a szenzitivitás, $p(B|\bar{A})$ 1-specificitás és $p(A)$ pedig a Lb preteszt probabilitása.

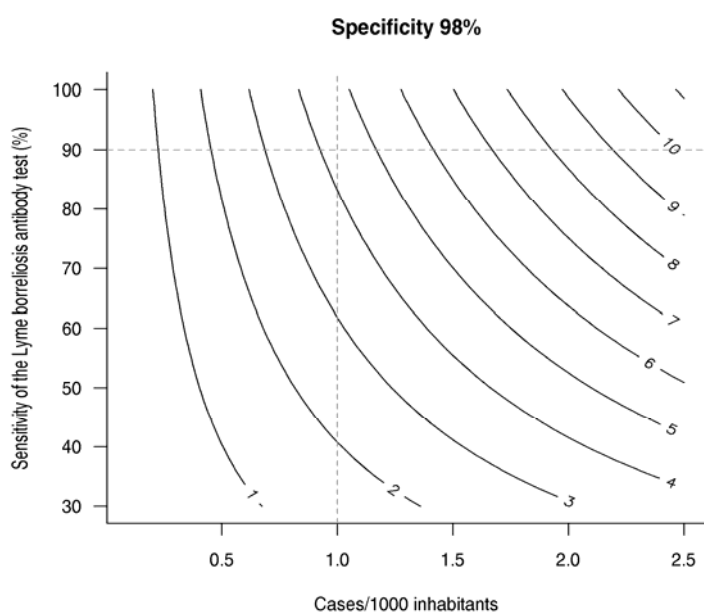
Nézzünk egy példát, vegyünk alapul a szűrővizsgálati feltételt, tehát a betegünk ízületi panaszokkal jelentkezik, és bennünk felvetődik, hátha Lb van a háttérben. A Lb előfordulási gyakorisága (incidenciája) a környező országok adatain alapuló becslésem szerint 1/1000. (A teljes lakosságra ez évi 10000 megbetegedést jelent.) A lehető legjobb Bb antitest vizsgálati kittel dolgozunk, a specifitása 99%-os. Amennyiben 10000 embert vizsgálunk, várakozásaink szerint 10 esetet fogunk kiszűrni ($10/10000=1/1000$, vagyis ennyi a becslésünk szerint feltételezett incidencia). Viszont a 10 000 vizsgált beteg esetében az 1% hiba 100 tévesen diagnosztizált beteget jelent. Szűrővizsgálat esetén tehát 10 000 betegből összesen 110 esetben kapunk pozitív eredményt. Ebből mindössze 10 a valódi, 100 pedig a téves. A PPV tehát: $10/110=9,1\%$.

Az alábbi ábrán (I/23. ábra) egy idealizált helyzetet tüntet fel, ahol az adott teszt szenzitivitása 90%-os. Mivel az EM, és általában a rövid ideje fennálló fertőzések esetében még nincs antitestválasz, ezért a szenzitivitás a gyakorlatban ennél sokkal rosszabb. Azért számolunk mégis 90%-kal, mert feltételezzük, hogy a vizsgálatot kérő orvos követi a nemzetközi előírásokat és a típusos EM esetében a tünetek alapján állapítja meg a diagnózist, és így csak a kétséges esetekben kér Lyme szerológiát.



I/23. ábra. A görbék 1-20%-ig mutatják a Bb antitest-meghatározás pozitív prediktív értékeit egy olyan szerológiai teszt esetén, aminek a specifikitása 99%-os. (Ennél nagyobb specifikitású tesztéről még nem jelent meg közlemény.) Az ábrán azt a helyzetet tüntettük fel, amikor a tesztnek 90%-os a szenzitivitása (vízszintes szaggatott vonal) és a vizsgálatot egy Magyarországhoz hasonló endémiás területen végzik, ahol a Lyme betegség incidenciája 1/1000 (függőleges szaggatott vonal), ebben az esetben a pozitív prediktív érték leolvasható a két szaggatott vonal metszéspontjánál: 8,26% (Lakos et al., 2010).

Az alábbi ábrán (I/24. ábra) látható, hogy amennyiben akár csak egyetlen százalékkal romlik a tesztünk specifikitása, a PPV a felére, a fenti feltételekkel kalkulálva 4,1%-ra romlik, ami azt jelenti, hogy a pozitív Lyme szerológiai eredmény ~96%-a téves!



I/24. ábra. A görbék 1-20%-ig mutatják a Bb antitest-meghatározás pozitív prediktív értékeit egy olyan szerológiai teszt esetén, aminek a specifikitása 98%-os. A többi feltétel azonos az előző ábrán megadottakkal.

A WB vizsgálatokat eléggé körülményesen lehet számszerűsíteni (kivétel a számítógépes képelemző rendszerek alkalmazása, – ld. a korábban említett AIR-t). Általában pozitív, negatív és kétes (határértékű) eredményt adnak ki. „Titer”-meghatározásnak WB vizsgálatok esetében nincsen értelme (Lakos, 2002a). Én bevezettem az extrém pozitív lelet fogalmát, ennek feltétele legalább 10 intenzív band a WB vizsgálatban. Az ilyen reakció PPV-je gyakorlatilag 100%-os. Ilyen reakció várható el ACA-ban, Lyme arthritisben, idült *Borrelia* encephalomyelitisben. Könnyű belátni, hogy bár a Bb antitest-meghatározás PPV-je, amennyiben szűrővizsgálati jelleggel végzik, nagyon alacsony, de az imént említett 3 kórkép esetében a negatív prediktív érték 100%-os. Gyakran merül fel pl. egy évek óta tartó neurológiai vagy reumatológiai kórkép háttérében, hogy hátha mégis Lb-ról van szó. Amennyiben IgG-ben nem látunk erőteljes immunválaszt, biztosak lehetünk abban, hogy a negatív lelet ezekben az esetekben tévedhetetlen.

Általánosan elfogadott, hogy az ELISA vizsgálatokat csak szűrővizsgálatként alkalmazzák, és ennek pozitív vagy kétes (határértékű eredménye) esetén WB vizsgálatot végeznek, és csak ennek pozitivitása esetén tekintik valóban pozitívnak a leletet. Ez egyben azt is jelenti, hogy amennyiben az ELISA vizsgálat pozitív eredményt ad, de a WB nem erősíti meg, ezt az ELISA leletet nem szabadna kiadnia a laboratóriumnak.

I.1/6. Differenciáldiagnózis

A Lb - jellegzetes tüneteinek fennállása esetén - a klinikai kép alapján kórismézhető. Ilyen jellegzetes tünet az EM, a BL, az ACA és a Bannwarth-szindróma. Igen sok esetben azonban a Lb nem jár jellegzetes vagy diagnosztikus értékű tinnel: ilyenek a serosus meningitis, a facialis paresis, az arthralgia, a myalgia, a polyneuropathia és az arthritis. Az EM gyakorlott szakember számára könnyen felismerhető, annak ellenére, hogy sokféle bőrbetegség és fertőzés okoz lassan növekvő, gyűrű alakú bőrpírt. Leggyakrabban a microsporiasis (tinea cutis), a granuloma anularis, az erythema nodosum és a morphea kórismézik tévesen *Borrelia*-fertőzésnek. A fix gyógyszerexanthema is nagyon hasonlíthat az EM-ra, de nem növekszik, gyógyszereszedés a háttérben felderíthető. Amennyiben a javasolt antibiotikumok valamelyikére az erythema nem javul, nagy valószínűséggel hibás volt a diagnózisunk. Az EM-t gyakran véleményezik allergiás vagy gombás folyamatnak, vélik pókcsep következményének, a homogén, nagy kiterjedésű formáját pedig erysipelasnak. Az 5 cm-nél kisebb bőrelváltozás alapján nem szabad diagnózist mondani. Ilyenkor 2-3 nap várakozás megoldást jelent. Hang-

súlyozni kell, hogy a Lb diagnózisának megállapításában a megbízhatóság fontosabb, mint a gyorsaság. Bizonytalan diagnózis esetén nem szabad kezelést indítani!

A perifériás facialis paresis Bb eredetének tisztázására az 1990. előtti időszakban vizsgált 654 beteget elemeztem, közülük 77-nek volt kétoldali vagy recidiváló facialis paresise (Lakos, 1991a). Akkor azt találtam, hogy a fél éven túli recidíva biztosan nem Lb következménye. Az 1996. utáni időszakban vizsgált (azóta dolgozom a korábbiaknál megbízhatóbb Western blot szerológiával) 286 perifériás facialis paresisből 24-nek volt recidiváló és 24-nek kétoldali folyamata. Ezek alapján úgy látom, hogy az eleve kétoldaliként induló facialis paresis nem Lb, még akkor sem, ha meningitis is kíséri a folyamatot. Valamennyi általam vizsgált betegre igaz, hogy amennyiben a perifériás facialis paresis 3 héten belül, de 2 napon túl vált kétoldalivá, akkor Lb-ról van szó, ezért a szerológiai eredmény bevétele előtt is meg lehet kezdeni ezekben az esetekben a kezelést. Amennyiben egyéb klinikai jel, pl. meningitis is kiderül, a Lb diagnózisa tovább erősödik. Tovább növekszik a diagnózis valószínűsége, amennyiben a fej-nyak régióban 2 hónapon belül kullancscsípést észleltek. Amennyiben a perifériás facialis paresist BL vagy EM kíséri vagy előzi meg, a bőrjelenség önmagában is elegendő a Lb diagnózisához. Alig fordul elő, hogy a facialis paresises betegeket ne kezelnék kortikoszteroidokkal. Bár ez a kezelés lerövidíti a gyógyulást, de a tünetek kezdete után csak 72 órán belül adva hatékony. A megjelent tanulmányok nem elemezték, mi történik akkor, ha szteroiddal kezelik a Bb okozta facialis paresist. Az én véleményem szerint a gyors klinikai diagnózis révén elég nagy biztonsággal ki lehet válogatni a Lb-ra gyanús eseteket, és ezeket nem lenne szabad szteroidokkal kezelni. Az anamnézis (kullancscsípés, BL, EM, a 2 nap után kétoldalivá váló arcidegbénulás), a lymphocytás meningitis, az intrathecalis Bb antitestszintézis kimutatása az általam javasolt módszerrel (lásd később) elég gyorsan segíthet a diagnózis megállapításában. Egy mostani közlemény szerint inkább az ex juvantibus antibiotikum-, mint a szteroidkezelés javasolt az endémiás területeken (Bremell et al., 2011). Én azt hiszem, hogy a klinikai tünetek és az anamnesis alapján, megfelelő szakértelemmel, gyorsan és megbízhatóan dolgozó laboratórium támogatásával a Bb fertőzés lehetősége az esetek túlnyomó többségében 72 órán belül tisztázható.

Polyneuropathia igen sok betegségben fordul elő. A korábbi vizsgálataink alapján talált eltéréseket 20 évvel később, ma is jellemzőnek tartom: eszerint a hullámozó lefolyás, a vándorló, aszimmetrikus lokalizáció, az ENG-n a sensoros vezetési sebesség csökkenése és az axondegeneratio a *Borrelia*-fertőzés mellett szól (Horváth et al., 1992). Amennyiben

intrathecalis *Borrelia*-antitesttermelés (Lakos, Ferenczi et al., 2005) kimutatható, a neuroborreliosis igazolt.

Lyme arthritis csak a szerológiai vizsgálatok alapján kórismézhető. Lyme arthritisben mindig extrém pozitív anti-*Borrelia* IgG-szintet mérünk. IgM-vizsgálatnak értelme ebben a kórformában nincsen. Gyorsult süllyedéssel járó, szimmetrikus polyarthritis sohasem *Borrelia*-fertőzés következménye (Lakos, 2001b).

Ha a kullancscsípés a hajas fejbőrön van, occipitalis vagy nyaki nyirokcsomó-duzzanatok keletkezhetnek. Amennyiben nem alakul ki a *Rickettsia*-fertőzésekre jellemző eschar (Lakos, 1997b-c; Lakos, 2002b) felmerülhet Lb is, ami – occipitalis kullancscsípés esetén – képes hasonló nyirokcsomó duzzanatosokat okozni. Ilyen esetben mindkét kórokozó irányában – négy hét intervallummal vett két vérmintán párhuzamosan – végzek savópár szerológiai vizsgálatot Bb és *Rickettsia* irányában. Az utóbbi 12 évben észlelt 185 ilyen beteg vizsgálata alapján egyik kórokozóval szemben 65%-ban tudtam szeroprogressziót kimutatni, ez eldönti a diagnózist és a teendőket. Az persze még nyitott marad, hogy a betegek harmadában miért nem sikerül diagnózist megállapítani: lehet, hogy a diagnosztikus eszközeink nem megfelelőek, és persze az is, hogy van még egy felfedezésre váró harmadik vagy negyedik betegség is...

I.1/7. Egyéb kórképek

Szinte nincs olyan tünet, amit ne hoztak volna összefüggésbe *Borrelia*-fertőzéssel. Hypacusis, Alzheimer-kór, epilepsia, opticus neuritis, trigeminus neuralgia, hepatitis, B-sejtes lymphoma, pseudotumor cerebri, különböző psychosisok több közleményben is szerepelnek. Egyes bőrbetegségek, mint pl. a morphea, a lichen sclerosus et atrophicus, az anetoderma, a hemiatrophia faciei vagy a Shulman-szindróma is sokak szerint *Borrelia*-fertőzés következménye lehet. Megítélésem szerint ezek a vélekedések tévedéseken alapulnak, és ezek a kórképek nem tekinthetők a Lb részének, az általam látott 588, a fenti diagnózisokkal hozzám került beteg csupán 4%-a volt szeropozitív, ami lényegében megfelel a populációs átlagnak. Hasonlóan, a Bb eredetű uveitis emberben kivételesen ritkán fordul elő. Amióta (1996-tól) COMPASS vizsgálatot végzünk, egyetlen, a fenti csoportba tartozó szeropozitív esetben sem tudtunk szeroprogressziót kimutatni, ami igazolja, hogy a pozitív lelet ellenére, az aktuális tüneteket nem a Lyme betegség okozta.

I.1/8. Terápia

Az EM típusos tünetét mutató betegeket minden további vizsgálat (beleértve a szerológiai vizsgálatokat is) nélkül kezelni kell. Amennyiben a klinikai kép nem egyértelmű, nem szabad antibiotikum-kezelést kezdeni. Az indokolatlanul adott antibiotikum komoly károkat okozhat. A kezelésre használható antibiotikumokat korábban közöltem (Lakos, 1999e). Azóta szűkítettem a javasolt készítmények számát. Az újabb ajánlásból azok előnytelen farmakokinetikája miatt kihagytam az egyéb penicillineket, és csak az amoxicillin maradt. A kezelésre használható antibiotikumokat (mindössze 5 molekuláról van szó!) az alábbi táblázatban foglalom össze:

	Indikáció	Felnőtt (napi adag)	Gyermekek (napi adag)	Tartam	Megjegyzés
Amoxicillin	EM, BL, ACA	3x1000 mg	50 mg/kp (1ml/tskp)	20 nap	Késői típusú celluláris allergia a 8. napon, gyakorisága 2%, ártalmatlan. Hasmenés gyakori, spontán szűnik. Idős korban stomatitis (Duomox használatakor).
Cefuroxim	EM, BL, ACA	2x 500 mg	Szirupot ne!	20 nap	Viszonylag drága!
Doxycyclin	EM, BL, ACA, arthritis, neuritis Neuroborreliosis - ha más nem adható!	2x 100 mg 2x200 mg!	8 év alatt csak, ha nincs más lehetőség!	40 nap	Fényérzékenyítő hatás. Nyáron csak akkor rendeljük, ha más nem adható! A kezelés időtartamában nincs konszenzus.
Ceftriaxon	Neuroborreliosis, graviditás, arthritis.	1x2000 mg	50 mg/tskp, max. 2g	15 nap	Drága. Allergia a 10. nap után enyhe, ismételt adáskor súlyos lehet.

Azithromycin	EM	2x250 mg	10 mg/tskp Csak, ha nincs más lehetőség	12 nap	Viszonylag drága. Hasi panaszok gyakoriak. A kezelés időtartamában nincs konszenzus.

I/1. táblázat. Lb-ban adható antibiotikumok. Nincs tudományos bizonyíték az egyes kezelési sémák alátámasztására. A fenti ajánlás a saját tapasztalataimra alapszik, de randomizált kettős vak kísérletekkel ezek sincsenek bizonyítva.

Vizsgáltuk az orális penicillinek, a doxycyclin, a cefuroxim és a ceftriaxon hatékonyságát (Ferencz et al., 1989; Lakos és Ferencz, 1993; Lakos és Horváth, 1994; Várai et al., 1994). Az EM kezelésére ajánlott készítmények hatékonyságában nem találtunk különbséget. Az adható készítmények közül az azithromycin, úgy tűnik, kevésbé hatékony (Luft et al., 1996). Az általam észlelt, 1079 azithromycinnel kezelt beteg adatai alapján a többi készítményhez képest gyakrabban (n=183, 17%) derült ki, hogy a kórokozók túléltek a kezelést. Az eredeti és a nemzetközi ajánlásokban is vezető helyen szerepel a doxycyclin. Fényérzékenyítő hatása mi-

att nyáron szedni kellemetlen. Sokak szerint 10 napos kezelés is elegendő (Wormser et al., 2006). A doxycyclin bakteriosztatikus antibiotikum, lassabban hat, mint az amoxicillin. Emiatt az elsőnek választandó antibiotikum véleményem szerint az amoxicillin. Az USA-ban 3x500 mg-ot, én (és sokan Európában) 3x1000 mg-ot rendelek 20 napon át. A 4160 amoxicillinnel kezelt betegem közül 86 ízben (2%) a kezelés 8. napján morbilliform kiütést okozott. A clavulánsavval kombinált amoxicillin készítmények adása Lb-ban haszontalan és káros. A napi kétszeri adagolással nem lehet tartós vér- és szöveti szinteket elérni, emiatt a napi háromszori adagolás a helyes.

A doxycyclin kötőszöveti érintettség (izom- és ízületi fájdalmak), illetve hosszabb ideje fennálló tünetek esetén indokolt. Adható még cefuroxim is, azonban ez indokolatlanul drága, a szirup változatát a gyermekek nagyobb része nem fogadja el. A penamecillin (Maripen) és változatai viszonylag drágák, sok tabletta bevétele szükséges a hatékony dózis eléréséhez, és ez rontja a compliance-t. Hasmenést is gyakran okoz. Felezési ideje akár 3x rövidebb, felszívódása, biológiai hasznosulása lényegesen rosszabb, mint az amoxicilliné. Használatának ma már nincs létjogosultsága, noha az első vizsgálatokat még Maripennel végeztük (Lakos és Ferencz, 1993; Lakos és B. Kovács et al., 1995), emiatt még ma is sokan használják. Az erythromycin és a roxythromycin alkalmatlan a Lb gyógyítására, noha korábbi ajánlásokban még szerepeltek. Ez utóbbi két antibiotikum adása után többször is ki tudtuk tenyészteni a Bb-t, a már gyógyultnak tűnő EM területéből, és klinikai relapszust is gyakran észleltünk. A clarithromycin hatékonyságáról nem állnak rendelkezésre megfelelő adatok. A minocyclin hazánkban nincs törzskönyvezve, nincs adat arról, hogy előnyösebb lenne, mint a doxycyclin.

A Lb-ban adható készítmények közül a központi idegrendszerbe legjobban a ceftriaxon jut be. Ennek adagja átlagos testsúly esetén naponta 1x2 g, gyermekeknek 1 adagban 50 mg/ttkp 15 napon át. Gyakran látunk ceftriaxon adása során allergiás reakciót, ami a kezelés 10. napja után jelentkezik, és minimális tünetekkel, többnyire a mellkason, arcon jelentkező apróelemű, mérsékelt viszkető kiütésekből áll. Neuroborreliosisban doxycyclin csak extrém nagy adagban (2x200 mg/die) biztonságos, a mellékhatások miatt a betegeknek csak egy része tudja ezt a kúrát teljesíteni. Ezért neuroborreliosisban szerintem csak penicillin- és cefalosporin-allergia esetén indokolt adni. Még ebben az emelt adagban sem minden esetben éri el a gerincfolyadékban a Bb MBC-ját (Karlsson, 1996; Baradaran-Dilmaghani 1996). Állatkísérletben a gerincfolyadékban a szérumszint kevesebb mint 30-ad része érhető el doxycyclin alkalmazása esetén (Kleibeuker, 2009). Ugyanakkor a ceftriaxon minden esetben jóval meghaladja a gerincfolyadékban a Lyme spirochaeta MIC és MBC értékeit (Cadoz, 1982; Millner,

1996). Bár jelentek meg ajánlások, melyek szerint a 2x100 mg doxycyclin is elegendő neuroborreliosisban (Mygland, 2010; Halperin, 2007) a hivatkozott tanulmányok minősége és a farmakokinetikai adatok alapján ezek hitelessége megkérdőjelezhető. Cefotaxim is alkalmas a neuroborreliosis kezelésére, azonban a napi 3x-i adagolás, a Borreliák a ceftriaxonhoz képest sok esetben jóval magasabb MBC értéke miatt alkalmazásának nincs indokoltsága. Orális penicillinek adása neurológiai formákban értelmetlen, mivel így nem jut be a központi idegrendszerbe. Reumatológiai folyamatok esetén 2x100 mg doxycyclin vagy 1x2 g ceftriaxon választható. Terhesek kezelésére én a ceftriaxon-kezelést tartom megfelelőnek (lásd később). A fenti adagok másfélszeresét adom 90 kp testtömeg felett, 120 kp felett pedig a kétszeresét. Nem tudok olyan ajánlásról, ahol a felnőttek testsúlyát is figyelembe vennék az adagok meghatározásánál, pedig elég nyilvánvaló, hogy nem ugyanazt az adagot kell választani egy 50, meg egy 150 kp súlyú beteg esetében.

A Herxheimer-reakció Lb-ban szinte mindig enyhe tünetekkel jár. Az amoxicillin- és a ceftriaxon-kezelés 3-4. napján, illetve a doxycyclinkezelés 7. napján szokott kezdődni. Az addig meglévő panaszok felerősödhetnek, esetleg újabb tünetek is megjelenhetnek, hőemelkedés léphet fel. Átmenetileg az erythema migrans élénkebbé válhat, esetleg szóródhat. Az általános tünetek napokig tarthatnak, a kezelés végéig azonban meg szoktak szűnni. Idült neuroborreliosisban a kezelés első napjaiban agyödéma, néhány esetben epilepsziás convulsio is előfordult. Gyakrabban látjuk, hogy a kezelés első napjaiban, az addig szoliter EM multiplexszé válik. Több olyan betegem is volt, akikben a facialis paresis antibiotikum-kezelése utáni napokban megjelent az arcon az EM, ami addig nem látszott.

Néhány esetismertetésen kívül kombinált antibiotikum-kezelés előnyét alátámasztó klinikai tanulmány még nem jelent meg. A fluorokinolonok a Lb-ban hatástalanok. In vitro körülmények között fluorokinolon és doxycyclin, illetve fluorokinolon és ceftriaxon együttadása kifejezetten javítja a Borreliák túlélési esélyeit (Lakos és Nagy, 1999; Lakos és Nagy et al., 1999). Az antibiotikum-érzékenység meghatározásához új, általam kifejlesztet módszert használtunk. Bebizonyítottuk, hogy az általánosan használt, élő baktérium számolásánál hatékonyabb és egyszerűbb, valamint automatizálható, ha az anyagcsereterméket tejsav (Lakos és Nagy et al., 1999) vagy még olcsóbban a pH-méréssel végezzük (Lakos és Nagy, 1999). Az anyagcseretermékek vizsgálata pontosabb információt ad a Borreliák állapotáról, mint a mozgásuk alapján történő véleményezés. Alapszabály, hogy baktericid és bakteriosztatikus antibiotikumok (pl. amoxicillin és doxycyclin) kombinációja hatástalanná teheti a kezelést. A kombinált kezelések feleslegesen sok mellékhatással, indokolatlanul nagy anyagi ráfordítással

és gyengébb gyógyulási eredményekkel járnak. Metronidazol, tinidazol önmagában vagy kombinációban sem alkalmas a Lb kezelésére. Semmilyen helyi antibiotikum,- dezinficiens,- szteroid- vagy antihisztamin-kezelésnek nincs helye, sőt ezek kimondottan károsak, mert esetleg módosíthatják a klinikai képet, és ezzel rontják a kezelés sikerének megítélhetőségét. A fent javasolt antibiotikum-kúrák valamelyikére egyáltalán nem reagáló folt nem lehet EM. Rosszul beállított diabeteses vagy egyéb immunszupprimált betegek és alkoholisták, valamint gravidák és idős emberek kezelése specialista feladata. Ezekben az esetekben baktericid hatású antibiotikumokat célszerű választani.

Tapasztalatom szerint az EM lokális szteroid kezelése jelentősen megnöveli a *Borrelia*-tenyésztés sikerét, rendkívül lerövidíti a tenyészidőt. Ennek alapján valószínű, hogy a szteroid kezelés segíti a fertőzés generalizálódását. Térdízületi arthritis esetén a reumatológusok gyakorta alkalmaznak intraarticularisan szteroidot. Megfigyelésem szerint ez csaknem gyógyíthatatlanná teszi a Lyme arthritist. Ezt állatkísérletek és humán tapasztalatok is alátámasztják (Bentas et al., 2000; Straubinger et al., 2000).

Klinikai adataim (lásd később) azt igazolják, hogy a kezeletlenül hagyott anyai Lb növeli a magzati szövődmények kockázatát, ezt az orális antibiotikumok valamelyest csökkentik, míg a parenterális penicillin- vagy ceftriaxon-kezelés esetén magzatkárosodással nem kell számolni (Lakos, 1995; Lakos és Solymosi 2010a-b). Ezek alapján *Borrelia*-fertőzés miatt interrupciót javasolni súlyos szakmai hiba!

I.1/9. Összefoglalás

A fentiekben összegeztem az elmúlt 27 év alatt, 10000 Lb beteg adatai alapján gyűjtött tapasztalataimat. E tapasztalatok legfontosabbika, hogy csak megalapozott diagnózis esetén szabad az antibiotikum-kezelést megkezdeni. A téves Lyme diagnózis káros következménye a többször megismételt, felesleges antibiotikum-kezelés mellett az, hogy a valódi diagnózis megállapítása esetleg helyrehozhatatlan késlekedést szenved, - és ez akár a beteg halálához is vezethet.

I/2. Előrelépés a Lyme borreliosis (Lyme-kór) diagnosztizálásában: Western blot kit kifejlesztése

I/2.1. Bevezető

Harminc évvel a Bb felfedezése után még mindig számtalan megoldásra váró kérdés van a Lyme diagnosztika terén. Az egyetlen igazán elterjedt és jól használható módszer a Bb anti-test-meghatározás. Az immunológiai vizsgálatok természetéből adódóan a fertőzés után röviddel levett vérminták "ál negatívak" lehetnek, míg különböző tényezők következtében "ál pozitív" eredményt is kaphatunk. Ez utóbbi okai között genetikailag közel álló baktériumok (pl. *Treponema pallidum*, szájüregi Borreliák), és más mikrobákban széles körben előforduló, filogenetikailag megőrzött, ún. jól konzervált antigének ellen termelt antitestek által okozott keresztreakció és nem specifikus B-sejt aktiváció (pl. EBV infekció) mellett a korábban lezajlott szubklinikus Bb fertőzés okozta perzisztáló immunválasz egyaránt szerepelhet. A ma kiterjedten használt immunfluoreszcens és ELISA technikák nem alkalmasak a keresztreakciók és a specifikus antitestek elkülönítésére, nagy háttérzajuk miatt nem segítenek a betegség gyógyulásának vagy adott esetben a fertőzés perzisztálásának a megítélésében. E háttérzaj kiküszöbölésére izolált antigénekkkel végeztek vizsgálatokat. Ezek közül a legelterjedtebb a *Borrelia* csilló antigénjének (a 41 kD-os fehérjének – Hansen, 1988) és később a rekombináns VlsE vagy C6-peptid (Bacon et al., 2003) a használata. Valószínű azonban, hogy egyetlen Bb fehérje ellen kifejlődő antitestválaszra nem lehet alapozni a Lyme-kór diagnózisát. A csilló antigén esetén azért, mert ez csaknem azonos valamennyi csillós baktériumban, másrészt mert ez az antitest sincs minden alkalommal jelen a fertőzés során. Ugyanez érvényes a VlsE és egyéb monoklonális vagy szintetikus antigénekre. A Western blot (WB) technika lehetőséget biztosít valamennyi Bb antigén ellen termelődő immunválasz elkülönített vizsgálatára és így lényegesen több információt nyújt a vizsgálatot végző számára, mint a hagyományos eljárások. A WB technika egyesíti a gélelektroforézis által nyújtott nagy felbontású fehérjesztérválasztást az immunkémiai detektálás specificitásával. Az egyik legfontosabb felhasználási területe a poliklonális savók specifikus immunglobulin tartalmának mennyiségi és minőségi meghatározása diagnosztikai célból. A WB hátránya, hogy leolvasása szubjektív, kiértékelése gyakorlatot igényel.

A WB technika hat fő lépésből áll:

1. Az antigén preparálása.
2. A minta fehérje-összetevőinek molekulasúly szerinti szétválasztása SDS-PAG elektroforézissel.
3. A szétválasztott polipeptidek transzferálása meghatározott pórusnagyságú membránra.
4. Az aspecifikus kötőhelyek blokkolása a membránon.
5. Az ellenanyag hozzáadása.
6. Előhívás.

I.2/2. Módszer

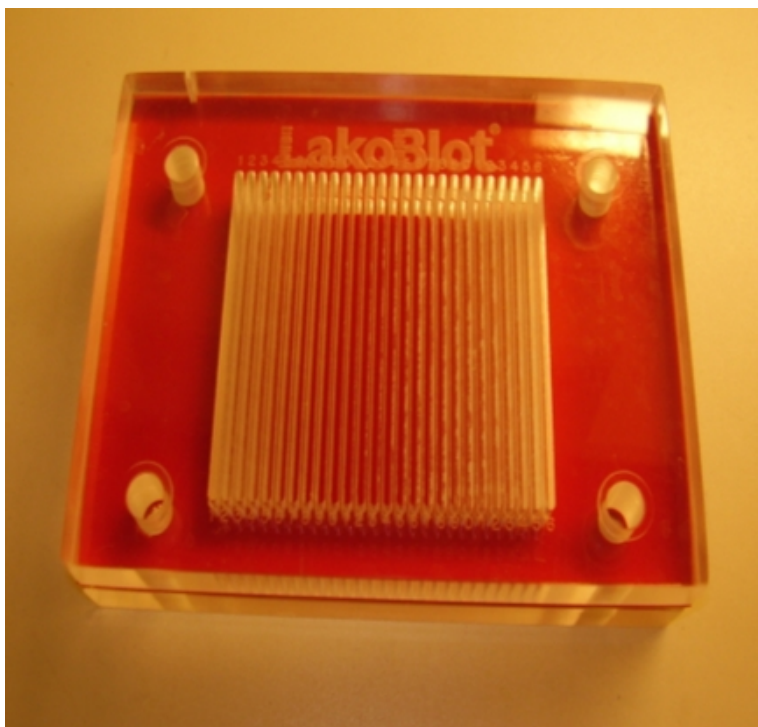
Az eljárást - némi módosítással – a mások által leírt módon végeztem (Cutler et al., 1993 Ma et al., 1992). A vizsgálatokhoz a nemzetközileg elfogadott, svéd acrodermatitises betegből származó izolátumot, az ACA1 törzset alkalmaztam (eredetileg az izoláló Eva Asbrinktől kaptam, amiért ehelyütt is köszönettel tartozom). A rendkívül igényes Bb tenyésztéséhez szükséges tápoldatot több kisebb módosítással az eredeti, ún. BSK II. receptúra alapján magam gyártottam. Ez a tápoldat 67 komponensből áll, és rendkívül érzékeny az összetevők minőségére. Az átoltások során az izolátum elveszti egyes fontos antigénjeit, emiatt alacsony passzázs számú Bb használható csak. Amennyiben az antigenitás megváltozik, egérbe oltva majd újra izolálva az eredeti antigenitás helyreállítható (ebben Ian Livey, Immuno-Baxter, Bécs volt a segítségemre, ehelyütt is köszönöm). A tápoldatban lévő indikátor elszíneződése, illetve a tápoldat zavarosodása alapján némi gyakorlattal megállapítható, hogy mikor ér a tenyészetünk a logaritmikus fázisba, vagyis amikor a legintenzívebb a mikroba szaporodása. Sötétlátóteres mikroszkópos vizsgálattal ellenőrzöm, hogy a tenyészet az elvárásomnak megfelelő-e, és akkor ismételt centrifugálással, mosások után ultrahanggal feltárom (dezintegrálok) a Bb-t, majd SDS polyacrilamyd gél ELFO-val szétválasztom a fehérjéit. Az elektroforézishez EC 120 Mini Vertical Gel System (E-C Apparatus Corporation, USA) berendezést használok. Ezután a gélből a szétválasztott fehérjéket átviszem egy műanyag (polyvinyl difluorid - PVDF) membránra (Immobilon P – Millipore, USA) - ezt hívják blottolásnak. Ehhez platinával bevont titanium anóddal felszerelt Semi dry blottert (Sigma, USA) használok.

Ez a membrán tartósabb, mint a gél, és az immunreakciót ezen a membránon végzem el. Az első réteg tehát az antigén, vagyis a Bb, rajta a vizsgálati szérum- vagy liquorminta, ebből

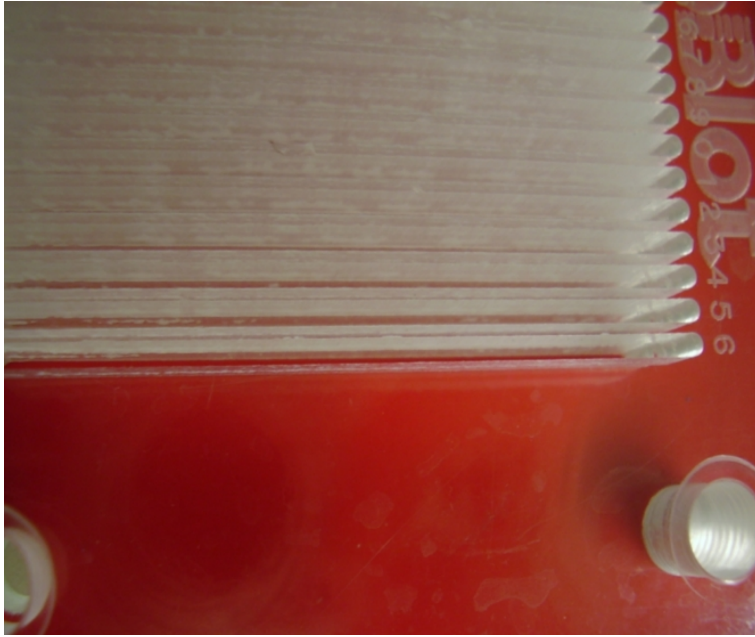
dc_164_11

olyan erősen kikötődnek az antitestek, hogy az ismételt mosások során, melyekkel minden egyéb anyagot eltávolítunk, az antitestek kötve maradnak a membránhoz. Ezután egy, az emberi ellenanyagokkal immunizált állatból származó anti-humán immunglobulint kötünk. Ezt előzőleg a gyártó (Sigma Co, USA) egy enzimmel kapcsolja (konjugálja). Az enzim azután az utolsó lépésben hozzáadott festéket kicsapja, ezért az már nem mosható ki a membránból. A kicsapódott festék egyrészt jelöli a megfelelő Bb fehérjéket, másrészt a képződött szín intenzitása arányos lesz a megfelelő Bb fehérjével szembeni humorális immunválasz erősségével. Végül szabad szemmel figyeljük a kontrollmintákon kialakuló színreakció erősségét, és akkor állítjuk le a reakciót, amikor ezt megfelelőnek találjuk. Sehol sem keletkeznek abszolút értékek. A szeparált antigénekhez kötődő antitesteket bandekben (csíkokban) látjuk, és az adott antigének molekulásúlya szerint definiáljuk.

Az ultrahangos feltárás után egy vizsgálati mintára 2 μg Borrelia-fehérjére volt szükség, ez megfelel kb. 1 μg borrelia-fehérje/gélfelület cm^2 -nek. Magam terveztem egy általam satunak elnevezett eszközt, ennek segítségével a savómintákat elkülönítve lehet vizsgálni a membrán felszeletelése nélkül is (I/25-26. ábra).

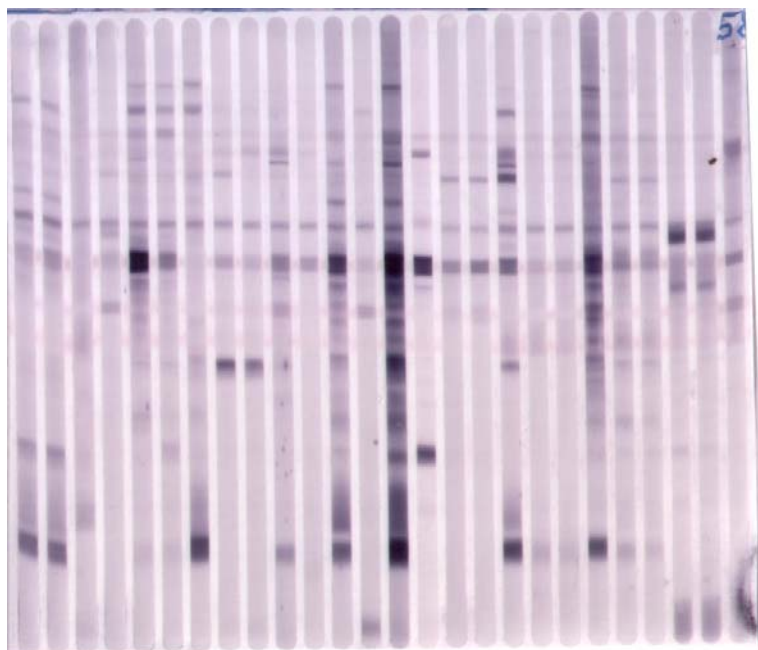


I/25. ábra. Egyetlen PVDF membrán fogadására alkalmas satu, ez 26 vizsgálati mintához elegendő. A képen nincsenek a helyükön a csavarok, amelyek összefogják az alap- és a perforált lemezt. Látható viszont a piros rugalmas alátét, ennek a két plexi lemez között van a helye, ennek a tetejére jön a PVDF membrán (a képen nem látható).



I/26. ábra. A „satu” közelebbről. Így jobban láthatók a vályúk, ezek a kereskedelmi forgalomban kapható megoldásokhoz képest jóval kevesebb vegyszert és betegmintát igényelnek. Ez utóbbinak a liquorvizsgálatoknál van különös jelentősége, ahol a mintát nagyobb koncentrációban dolgozzuk fel.

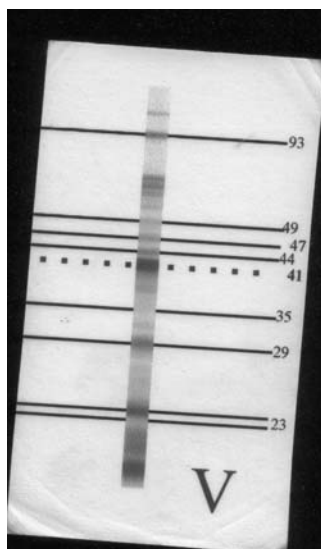
A satu segítségével a munkafolyamat során végig egyetlen membránnal kell csak dolgozni. Ez nemcsak megkönnyíti a munkát, és csökkenti a vegyszerigényt, hanem a később tárgyalt összehasonlító vizsgálatoknál (COMPASS) biztosítja, hogy a minták párhuzamos vizsgálatainál ne lehessenek technikai eltérések. A satu két, 15 mm vastag, 300x110 mm² felületű plexilapból áll. A felső lapban 65x2 mm-es vágatok vannak. Az alsó lap tetejére egy rugalmas, vízzáró műanyag lap (IKEA tányéralátét) kerül. Ennek a tetejére jön a PVDF membrán. A két lemezt csavarokkal összeszorítjuk. Egy membrán 26 vizsgálat végzésére elegendő (I/27. ábra).



I/27. ábra. A kész immunoblot. Rutinvizsgálatok céljára balról számolva a 14. vályúba tesszük az IgG, a 15-be az IgM pozitív kontrollt. Az automata immunoblot reader (AIR) használatához és teszteléséhez minden panelen 3 IgG kontrollt alkalmazunk.

A satut kétféle méretben gyártattam le, a nagyobbik 3 PVDF membrán, azaz 78 vizsgálati minta egyidejű feldolgozására alkalmas. Blokkolásra (az aspecifikus szabad kötőhelyek fedésére) az általánosan használt marhaalbumin helyett jobbnak találtam a száraz tejport és a nyúl-savót. A savókat 1:100, a liquorokat 1:5 hígításban vizsgáltam. Szobahőn, rázógépen (Oxoid Ltd, UK) csupán fél órán át inkubálok. Spricflaskából nagy nyomással, várakozás nélkül, 2x öblítem a vályúkat. Alkalikus foszfatázzal jelölt anti-humán immunglobulinnal (Sigma Co, USA) fél órán át szobahőn, rázógépen végzett inkubáció, mosás után bromo-kloro-indolyl foszfát és nitro-blue tetrazolium (NBT-BCIP – Sigma Co, USA) szubsztráttal hívom elő a reakciót. A szendvics egyes rétegeinek a minősége, a mennyisége és a koncentrációja, melyeket önkényesen változtathatunk, alapvetően befolyásolja a végeredményt, a bandek intenzitását. A cél az, hogy minél kisebb háttérzaj mellett minél intenzívebb és élesebb bandeket lássunk. Az egyes komponensek mennyiségét hígítási próbák sorozatával – ún. sakktáblahígítással – optimalizáltam. Ennek menete megegyezik azzal, ahogy azt az ELISA beállítása során leírtam (Lakos, 1999d). Az IgG és az IgM antitesteket külön-külön vizsgálom. Az egyes *Borrelia*-fehérjéket (antigéneket), illetve azok molekulásúlyát monoklonális antitestekkel határoztam meg. Az antitesteket Barbara Johnstontól (Centers for Disease Control and Prevention - CDC) és Ian Liveytől (Baxter-Immuno Ag.) kaptam, ezúton is köszönöm. A monoklonális antitestek segítségével definiáltam egy acrodermatitises betegemből származó extrém pozitív kontroll savó IgG osztályú antitestjeit. IgM kontroll céljára egy multiplex EM-

os betegem erősen pozitív savómintáját használtam. Ezekkel a pozitív kontroll savókkal a későbbiek során valamennyi PVDF membránon elvégeztem az immunreakciót. A pozitív kontrollmintákról készített képeken bejelöltem a megfelelő bandek molekulásúlyát, és később ezt használtam referenciaként. A referenciák és a valamennyi vizsgálati panelen elhelyezett pozitív kontrollminták alapján ítélem meg az egyes bandek intenzitását és molekulásúlyát. Ezt a „vonalzót” rövidebb és hosszabb futású változatokban is elkészítettem, így az elkerülhetetlen technikai változatok mindegyikére volt használható etalonom (I/28. ábra).



I/28. ábra. A pozitív kontrollról készült etalon, amivel a leolvasást standardizáltam. Csak a kiemelt jelentőségű Bb fehérjék mellett szerepelnek a kDa-ban megadott molekulásúlyok. A 41 kD-os, csilló antigén a tájékozódást segíti, ezt nem értékeljük (ld. később), de mivel szinte minden betegmintán IgG-ben megjelenik, segíti a „vonalzó” helyes elhelyezését.

Egy adott antitest-reakciót a következőképpen értékeltem:

0: ellenanyagot nem tudtam kimutatni,

0,5: az ellenanyagválasz alig látható,

1: határozott, de halvány band látható,

2: élénk, egyméteres távolságból is feltűnő csík,

3: a színreakció erőteljes – hasonlóan a túlexponált fényképfelvételekhez –, "beleég" a membránba.

Valamennyi vizsgálati mintán ELISA vizsgálatokat is végeztem. Az eljárás határértékét 400 egészséges véradón tesztelve oly módon állítottam be, hogy specifitása legalább 95% legyen. Az ELISA vizsgálatoknál az IgG és IgM típusú antitesteket egy lépésben határoztam meg.

Vizsgálati minták, betegek:

Az alábbi, klinikailag meghatározott csoportokból származó savó, ill. liquormintákat dolgoztam fel.

1. csecsemők (enteritis miatt kerültek kórházba)
2. egészséges véradók
3. uveitises betegek
4. EM
5. BS
6. ACA

Eredetileg 6x100 savóminta vizsgálatát terveztem, azonban rájöttem, hogy a klinikai gyakorlat számára fontosabb információt jelent, ha sorozatvizsgálatokat végzek. Így az ACA-s és a BS-ás betegek esetében a 100-100 vizsgálatot 25, ill. 38 betegtől, különböző időpontokban levett mintán végeztem el. A BS-ás betegeknek csak azokat a savóit dolgoztam fel, amelyhez liquormintát is tudtunk párosítani. Így a BS-ás betegek azonos napon levett - összesen 100 - liquormintájának elemzését is elvégeztem, tehát e csoportban 38 betegtől származó 200 mintát dolgoztam fel. Az eredetileg 100-ra tervezett "uveitises" (az aspecifikus reakció lehetőségével rendelkező csoportot neveztem el így) csoport véletlenül 104-re sikeredett. Az elnevezés abból adódott, hogy a vizsgálatot megelőző időben nagy számban kaptam ezzel a diagnózissal betegeket, akiknél más intézményben pozitív Bb antitestszintet mértek. Ebben a csoportban zömmel uveitises betegek anyagai mellett 2 acut lymphoid leukaemiás, 3 syphilises, 3 leptospirosisos, 5 rheumatoid arthritises beteg savói is szerepelnek, többnyire olyan vizsgálati minták, melyeket más laboratóriumok – a klinikai kép alapján történő megítélésem szerint tévesen – Borrelia pozitívnak határoztak meg. Az eredetileg tervezett 100 csecsemősavó helyett csak 59 szerepel a statisztikai feldolgozásban, mert a technikai problémák miatt többször megismételt vizsgálatok során a savók egy része elfogyott, utólagos beszerzésüket nem tudtuk megoldani. Az eredetileg tervezett 600 minta helyett végül 663 (köztük 100 liquor-) mintát vizsgáltam meg. A statisztikai feldolgozásban azonban betegenként csak egy minta szerepel, mivel kiderült, hogy a betegek antitestmintája csak minimális mértékben változik a gyógyulást követően, így nem lenne helyes, ha a számításokat az befolyásolná, hogy egyik-másik betegnek több vagy kevesebb mintája áll rendelkezésünkre. A sorozatvizsgálatokból hasznos információkat nyertem, de ezeket statisztikailag még sokáig nem tudtam feldolgozni (lásd majd a COMPASS fejezetben).

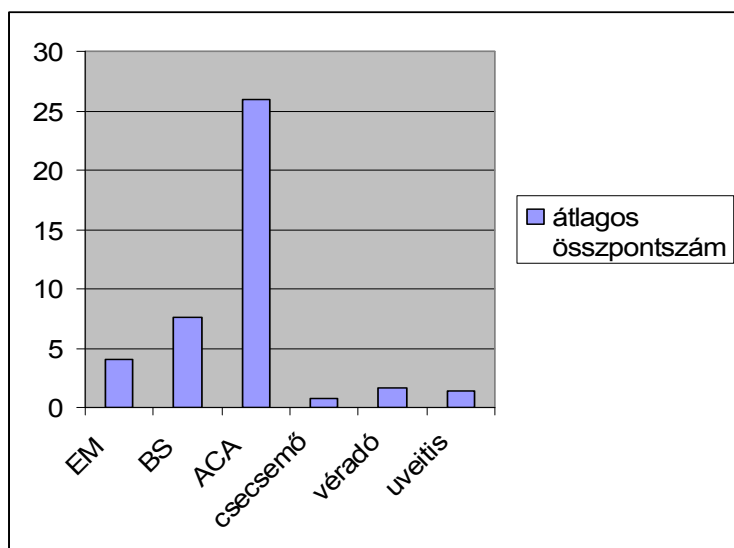
Statisztika

A statisztikai számításokat a CDC által készített programmal (EPINFO), ill. az SPSS PC statisztikai programcsomaggal végeztem. Keresztábrákat készítettem, Fisher exact tesztet, chi-négyzet számításokat, variancia (ANOVA) és diszkriminancia analízist végeztem annak megállapítására, hogy az általam használt antigénnel ebben a vizsgálati rendszerben mely antigén- és antitest-reakciók tekinthetők a legspecifikusabbaknak. Feltételezésem szerint vannak kifejezetten specifikus és aspecifikus antitestek. Ezeket kellett meghatározni.

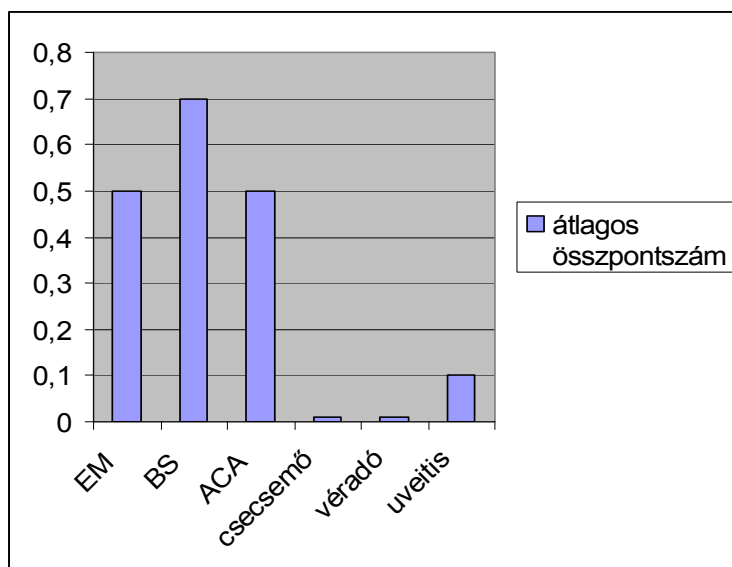
I.2/3. Eredmények

I/2.3.1. IgG és IgM antitestek

A különböző antitestekkel szemben kimutatott immunválasz pontértékét betegenként összeadtam. Így minden beteg egy IgG és egy IgM értékkel rendelkezik, ami megfelel az összes, Borreliához kötődő immunglobulin mennyiségnek. Az értékeket grafikusán is feltüntettem. Lényegesen több IgG (I/29. ábra), mint IgM (I/30. ábra) típusú ellenanyag mutatható ki.



I/29. Ábra. WB vizsgálattal mért átlagos összpontszám vizsgálati csoportok szerint – IgG



I/30. Ábra. WB vizsgálattal mért átlagos összpontszám vizsgálati csoportok szerint - IgM

Ahogy várható volt, IgG-ben a legintenzívebb reakciót a leghosszabb ideje beteg, ACA-ban szenvedő betegek vére adta, és az ő vérükben találtuk a legtöbb fajta Bb antigénhez kötődő antitestet. Ezt követi a BS-ások és a korai tünettel rendelkező EM-osok antitestszintje. A kontrollcsoportok mindegyikében is kimutatható több-kevesebb IgG és IgM antitest, de a két "tisztá" kontrollcsoport tagjai, a csecsemők és a véradók szinte sohasem rendelkeznek IgM típusú antitesttel, tehát ilyen szempontból a vizsgálat abszolút specifikus. Ha csak ezt a két kontrollcsoportot tekintjük, akkor egyetlen IgM-csík megjelenése már 98%-os, két IgM-csík pedig már 100%-os specificitást jelent!

I/2.3.2. Liquorvizsgálat, intrathecalis *Borrelia*-antitest kimutatása.

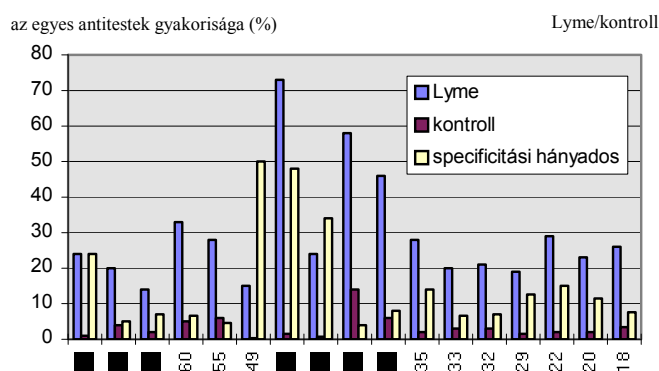
Korábbi vizsgálataink alapján feltételezhető, hogy a liquorban sohasem fordul elő aspecifikus IgM reakció. Ugyanígy, a pozitivitás kimondásához kevesebb Bb antitest is elegendő (Lakos, 1991a). Már az első vizsgálatok során láttam, hogy a liquorban talált antitestminta eltér a savóban találhatóától. Ez nehezen számszerűsíthető, hiszen gyakran csak árnyalatnyi különbségekről van szó. A különbségek azonban elegendőek ahhoz, hogy megállapítsuk az intrathecalis immunglobulin-termelést (ld. később a COMPASS fejezetben).

I/2.3.3. A specifikus antitestek kiválasztása

Sorra vettem a WB-tal kapott antitest-reakciókat. IgM típusú választ szinte kizárólag a 41 és a 22 kD-os fehérjékkel szemben tudtam kimutatni. A 41-es és a 22 kD-os reakció együttes meg-

dc_164_11

léte 100% specificitást jelentett. A Lyme-kóros betegek több mint 30%-ában mutattam ki határozott IgG immunválaszt a 60 kD-os (közös bakteriális antigén) és a 41 kD-os csilló, valamint a 47-es és a nagyon specifikusnak tartott 39 kD-os antigénnel szemben (I/31. ábra). Látható, hogy a legspecifikusabb antitestválaszok nem azonosak a leggyakrabban észleltekkkel.

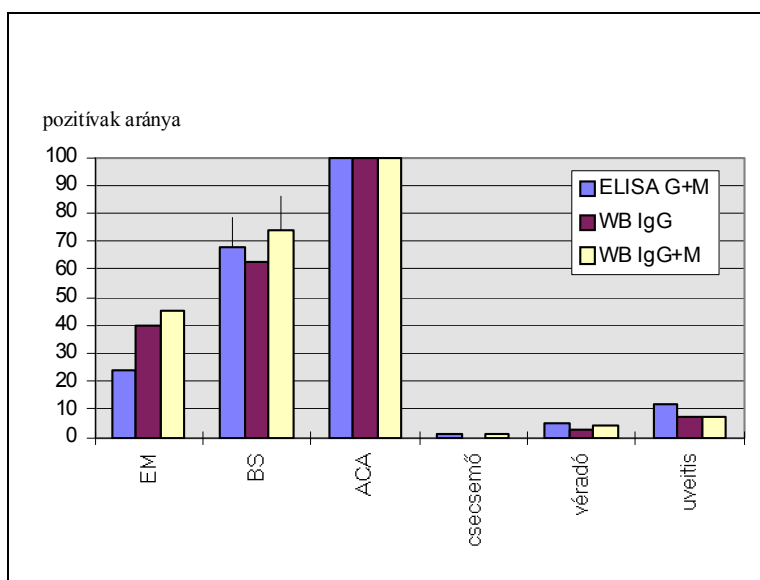


I/31. ábra. Az egyes molekulásúlyok szerint megadott Bb fehérjékkel szembeni IgG antitestválasz a Lb és a kontrollcsoportok szerint. A kettő hányadosa adja a specificitási hányadost.

Az ábrán feltüntettem a specificitási együtthatót, amit úgy kaptam, hogy a Lyme-kóros betegek savómintáiban talált egyes antitestválaszok gyakoriságát elosztottam a különböző kontrollcsoportokban mérhető válaszok incidenciájával. Csak a határozott, legalább 1 ponttal értékelt antitestválaszokat vettem figyelembe. Eszerint a legspecifikusabb válasz a 49 kD-os fehérje elleni, mert ez 50-szer gyakrabban fordul elő a Lyme-kóros betegek savómintáiban, mint a kontrollcsoport tagjaiéban. A legkevésbé specifikus a 41 kD-os csilló antigénnel szembeni válasz, mert ez mindössze 4-szer gyakoribb a Lb csoportban, mint a kontrollcsoport tagjai között. Önkényesen meghúzva a határt, azokat az antitest-reakciókat választottam ki, amelyek esetében a specificitási együttható 11,5 fölött volt. (Ez a vizsgált band pontértékének átlaga és a hozzá tartozó szórás összege. Ez a határvonal azt jelenti, hogy a specificitás már egyetlen kiválasztott antigén esetén is 92%-os.) Így a 93-as, 49-es, 47-es, 44-es, 35-ös, 29-es, és a 22-es antigénnel szembeni immunválaszt tekintettem specifikusnak, és a továbbiakban csak ezeket értékeltem.

I/2.3.4. A határérték meghatározása, szenzitivitás az ELISÁ-hoz viszonyítva

Összeadva a kiválasztott antigénekhez kötődő antitestmennyiségeket, úgy határoztam meg a határértéket, hogy a specificitás legalább 98% legyen. IgG esetében ez $\geq 1,5$ pontnak adódott, IgM esetében pedig ≥ 1 pont lett. Ezen határérték alapján csoportonként ábrázoltam a pozitivitási arányát (I/32. ábra). Az ábrán feltüntettem az ELISA-val kapott eredményeket is, WB esetében pedig külön az IgG eredményeket, valamint az IgM és az IgG párhuzamos mérése alapján kapott eredményeket. Az általam kifejlesztett WB szenzitivitása (az EM-os csoport pozitivitási aránya) az ELISA-hoz képest megduplázódott ($p < 0,005$), míg az aspecifikus reakciók aránya (véradoók és uveitisek pozitivitása) valamelyest csökkent. A BS esetében a liquor vizsgálatokkal tovább nő a módszer érzékenysége. Az ELISA esetén ez az érzékenységnövekedés 4 további beteget jelentett, a WB-nál pedig további 8 beteget. Az ábrán a függőleges vonal ezeket ábrázolja a BS-s csoport oszlopai felett. Így az ELISA 30/38 (79%), míg a WB 33/38 (87%) pozitivitást adott (I/31. ábra).



I/32. Ábra. A pozitív Western blot és ELISA eredmények aránya vizsgálati csoportonként

I/2.3.5. El lehet-e különíteni a WB segítségével a Lb egyes formáit?

Már a tanulmány első időszakában feltűnt, hogy az egyes klinikai kórformák WB mintája nem azonos. Diszkriminancia analízis segítségével kíséreltük meghatározni az egyes klinikai mintákat legjobban leíró antitest-reakciókat. Eszerint az EM-os betegek antitestmintáját a többi betegcsoporttól a 47-es IgG, valamint a 41-es és a 22-es IgM válasz különböztette meg. A BS (neuroborreliosis) csoportra a specifikusnak tartott antitestek közül a 93-as, a 49-es és a 35-ös IgG, valamint a 49-es és a 22-es IgM válasz együttes jelenléte volt a jellemző. Az ACA-ra a

93-as, a 44-es, a 29-es és a 22-es IgG válaszok kombinációja utalt. A diszkriminancia analízis a három fő betegcsoportot (EM, BS, ACA) három függvényként írja le. A statisztikai program először elemzi az antitestválasz-mintát. Megkeresi, hogy melyik minta a leginkább jellemző az egyes betegcsoportokra. Ezután elvégzi az elemzés próbáját is: a leírt függvények alapján a WB minta ismeretében sorolja be a betegeket egy-egy diagnosztikus csoportba, majd ellenőrzi, hogy milyen arányban egyezett a számítógép által javasolt diagnózis a klinikai kép alapján megadottal. Tulajdonképpen ez az eljárás ellenőrzi a függvények használhatóságát. A számítógép által ajánlott besorolás 87%-ban egyezett a klinikai diagnózissal. Az EM-os és a BS-ás csoportnál egyaránt 15-15%-ot negatívnak sorolt, míg az ACA esetében hibátlanul teljesített. Mindez azt jelenti, hogy maga a WB vizsgálat nemcsak a pozitivitás és negativitás megítélésében, de 87% biztonsággal még a Lyme-kór egyes klinikai formáinak elkülönítésében is segítheti a klinikust.

I/2.3.6. A sorozatvizsgálatok tanulságai

A BS és az ACA esetében a kezelés előtt, majd azt követően különböző időpontokban vett savómintákat vizsgáltunk. Az azonos betegtől származó savó- és liquorminták azonos panelre kerültek, kiküszöbölendő az esetleg technikai okokból adódó eltéréseket. Az eljárást összehasonlító WB vizsgálatnak neveztük el (ld. később a COMPASS fejezetben). Kiderült, hogy az összehasonlító WB képes az esetleg túlélő mikrobák kimutatására, és alkalmas a mikrobiológiai gyógyulás igazolására is.

I/2.4. Megbeszélés

A ma ismert fertőző betegségek körében bizonyára a Lyme borreliosis kezelésében a legnagyobb a fajlagos antibiotikum-fogyasztás. Megítélésem szerint 1/ betegek ezreit kezelik évenként téves laboratóriumi eredmények alapján, 2/ az újabb és újabb kontrollvizsgálatok alkalmával kapott különböző "titerű" antitestreakciók kézhezvételekor ismételten, 3/ indokolatlan és a Lyme-kór kezelésében hatástalan kombinációkkal, ill. készítményekkel, 4/ a szükségesnél jóval hosszabb vagy éppen rövidebb ideig. Mindez felbecsülhetetlen többletkiadással és a betegek számára indokolatlan szenvedéssel jár. Mindezen túl az a hihetetlen rettegés, ami a téves diagnózisok következtében a betegséget gyógyíthatatlannak beállító vélekedés nyomán a valódi Lb betegeket megszállja, elkerülhető lenne egy megbízható diagnosztikum használata esetén. A *Borrelia* szerodiagnosztikában hagyományosnak számító ELISA típusú vizsgálatok

mellett a gyakran vitatható eredmények tisztázása céljából WB technikát fejlesztettem ki. Ezzel a módszerrel – ellentétben bármelyik eddigi eljárással – pontosan meg tudjuk mondani, hogy a betegnek mely *Borrelia*-antigénekkal szemben vannak antitestjei. Mivel a Bb-antigének között vannak nagyon specifikus és vannak más kórokozókra is előforduló fehérjék, az új eljárás előrelépést jelent a Lyme diagnosztikában. A szerodiagnózis egyszerre érzékenyebbé és specifikusabbá vált. A CDC 1995 novemberében megjelent állásfoglalása (CDC, 1995). szerint az ELISA-val vagy immunfluoreszcens teszttel kapott határértékű vagy pozitív eredményt WB-tal kell megerősíteni, és az eredményt csak ennek megfelelően szabad kiadni. Magyarországon elsőként fejlesztettem ki klinikai diagnosztikai célokra WB technikát és kitétet, amit kereskedelmi forgalomban is értékesítettem. Az eljárás standardizációja során arra törekedtem, hogy minél specifikusabb tesztet kapjunk. Az ELISA tesztekhez képest az eljárás szenzitivitása is szignifikánsan javult, specifitása – tekintve a különböző kontrollcsoportok pozitivitási arányát – 93-99%-osnak mondható. Mivel biztosra vehető, hogy mind az uveitisek, mind a véradók közé elkerülhetetlenül bekerülhetnek Bb fertőzött betegek, az eredménnyel meg lehetünk elégedve. Ezt az eredményt úgy lehetett elérni, hogy diszkriminancia analízis és a kereszttáblák segítségével kiválasztottam a legspecifikusabbnak tűnő 7 IgG és 2 IgM bandet, és ezek megjelenését tekintettem diagnosztikus kritériumnak. Tekintve, hogy a vizsgálati minta példátlanul nagy volt, ez a fajta megközelítés igen kis hibával a klinikai gyakorlatban is használható.

Ellentétben az általánosan elfogadottól, a bandek intenzitását is értékeltem. Amennyiben a fenti kalkuláció alapján 1 pont született, kétes, vagy határértékű, 1,5 ponttól gyengén pozitív, 3 pontnál pozitív, 6 ponttól erősen pozitív leletet adok ki. Bár ez a leletezés önkényesen definiált alapokon nyugszik, minden értékhez jól meghatározott specifitás és szenzitivitási érték tartozik. Tudomásom szerint a kereskedelmi forgalomban kapható kitétek nem rendelkeznek ilyen adatokkal. A mi rendszerünkben pl. az erősen pozitív tartományban a specifitás 100%-os, tehát eddig még nem volt olyan betegem, akinek az aktuális tünetei és a pozitív lelete között ne lett volna okozati összefüggés, míg a gyengén pozitív lelet esetén az átlagos specifitás 98%-os (Lakos és Granström, 1997).

A WB eljárás lényegében egyidős a Lyme spirochaeta felfedezésével (Burnette, 1981; Towbin et al., 1979) mégis csak e tanulmány készítésekor (Lakos és Nagy, 1996a-b; Lakos és Granström, 1997) került ki a kutatólaboratóriumokból, és kezdett rutin diagnosztikai eljárássá válni. Az összetettebb mikrobák esetében a szeparált antigének vizsgálata által nyújtott információ kárpótol a WB viszonylag költséges és munkaigényes voltaért. Néhány apró egyszerű-

sítés segítségével sikerült az eljárást gazdaságosabbá tenni. A kisméretű gél használatával az egy vizsgálati mintára jutó fajlagos futtatási idő 5 percről 50 másodpercre csökkent. Jelentősen leegyszerűsítette és megbízhatóbbá tette a munkát a satunak elnevezett eszköz kifejlesztése is. Bár kapható a miénkhez hasonló berendezés, de számos ok miatt nem terjedt el. Néhány újítás segítségével megoldottam a munkafolyamat idejének lerövidítését, megoldottam, hogy az eljárás tömegvizsgálatokra is alkalmas legyen, emellett a korábbiakhoz képest jelentős vegyszer megtakarítást is sikerült elérni. Míg korábban egyetlen vizsgálati mintához valamennyi reagensből 3-5 ml-re volt szükség, most ennek a tizede, 480 μ l is elegendő. A spriccelő vízzel végzett mosás lehetővé tette, hogy lerövidítsük a mosási fázist. A blokkolási fázist egyesítettük a primer antitest-reakcióval. Mindezek eredményeként a jel-háttérzaj arány kedvezőbbé vált. Az egyszerűsítések szerencsére a minőség javulását eredményezték. Ezeket az egyszerűsítéseket részben az tette lehetővé, hogy a nitrocellulóz membránt PVDF-re cseréltem. Bár a termék drágább, egyéb előnyeinek köszönhetően ára bőségesen megtérül. Előnyei között a nagyobb fehérje-kötőképességét és könnyebb kezelhetőségét szokták kiemelni. Vizsgálataim alapján a PVDF különösen a kis molekulású fehérjék megkötésében látszott sokkal hatékonyabbnak, mint a hagyományos nitrocellulóz. A módosításoknak köszönhetően egyetlen asszisztens egy munkanap alatt 250 vizsgálatot tud elvégezni, miközben a következő 250 minta vizsgálatához szükséges futtatást és blottolást is megoldja. A WB vizsgálat számos nyilvánvaló előnye mellett hátrányokkal is jár: kiértékelése – különösen a bakteriális diagnosztikában – sokkal nehezebb. A leolvasás bizonyos mértékben szubjektív, ennek ellenére a gyakorlott és gyakorlatlan leolvasók eredményei is jó egyezést mutattak (Cutler et al., 1993). A szubjektivitásból eredő hibát nagymértékben csökkentette, hogy a valamennyi futtatásnál használt pozitív kontroll egy-egy reakcióját a leírtak szerinti „vonalzó” segítségével értékeltük, és a későbbiek során mindig ehhez viszonyítottuk a leolvasást.

Nem elég egyetlen határérték megállapítása, hiszen az értékelést minden egyes antigén esetében külön-külön el kell végezni. A Lyme spirochaeta egyik-másik antigénjéhez az egészséges véradók, sőt még a csecsemők többségének is kötődik antitestje. Milyen kritériumok alapján mondhatjuk ki, hogy egy vizsgálati minta pozitív? Az első – és azóta is a legtöbbet idézett, a kérdés megválaszolását célul kitűző – tanulmányt Dressler és munkatársai készítették (Dressler et al., 1993). A vizsgálatot a miénknél jóval kisebb számú (4 csoportba sorolható, összesen 100) betegen végezték. Hasonló céllal már több tanulmány is készült, azonban az esetszám mindenütt 100 alatt maradt (Cinco et al., 1996; Norman et al., 1996; Zöller et al., 1991). A CDC állásfoglalása szerint (CDC, 1995) IgG esetén pozitívként értékelhető a vizsgá-

lat, ha a kiválasztott tíz antigénből 5-tel szemben kimutatható antitest, IgM leolvasásakor háromból két antitest jelenléte alapján lehet a pozitivitást kimondani. Az állásfoglalás megjelenése után röviddel újabb javaslatok láttak napvilágot (Sivak et al., 1996). Nem tudok azonban olyan ajánlásról, ahol a bandek intenzitását is figyelembe vennék (ahogy én teszem), és ez a hiba aztán később újabb ajánlásokat generált, ez vezetett a „kétlépcsős protokoll” (lásd később) bevezetéséhez.

A szerzők mindegyike egyetért abban, hogy a WB a korábbi eljárásoknál lényegesen megbízhatóbb (pl. Nachamkin et al., 1996). Egy tanulmányban pl. az SLE-s betegek 40, a rheumatoid arthritisek 8%-a ELISA-val vizsgálva Bb szeropozitív volt, míg a WB minden esetben negatív eredményt adott (Weiss et al., 1995). Sood és mtsai is rheumatoid arthritises betegeket vizsgáltak (Sood et al., 1993). ELISA-val vizsgálva a betegek 9%-a volt pozitív, néhány *Borrelia* antigénnel szemben közülük 5-nek volt WB-tal kimutatható reakciója, de egyik beteg sem minősült pozitívnak. Hasonló eredményt találtak subacut bakteriális endocarditisben szenvedő betegek esetében: a betegek 43%-a (!) volt ELISA-val pozitív, míg WB-tal mindössze egy esetben találtak korábban átvészelt fertőzésre utaló immunológiai képet (Kaell et al., 1993). Az ELISA és IF vizsgálatok alkalmatlannak bizonyultak szeropidemiológiai vizsgálatokra, míg a WB jól jelezte a különbséget az endémiás és a nem fertőzött régióban élők savómintáiban (Huycke et al., 1992). Az én észlelésem egyezik Cooke (Cooke et al., 1994) és Zöller (Zöller et al., 1991) eredményével: a kontroll egyének csaknem felének van néhány *Borrelia*-hoz kötődő antitestje, annak ellenére, hogy *Borrelia*-infekció esetükben teljességgel valószínűtlen. A legtöbb "ál pozitív" reakciót a 60 kD-os és a 41 kD-os csilló antigénnel szemben találták. Én határozott csilló ellenes antitestet a kontrollok 14%-ában, a 60 kD-os antitestet 5%-ban találtam. Nyilvánvaló, hogy ha a szeropozitivitás határát alacsony szinten húzzuk meg, akkor a populáció jelentős része szeropozitívnak minősül. Klinikai diagnózis alátámasztására alkalmatlan az olyan eljárás, amely az egészséges véradók 31%-át pozitívnak találja. Az ilyen szerológiát használók meglepő következtetéseket publikálhatnak (Plorer et al., 1993). Különösen elgondolkodtató, hogy van olyan Lyme szerológiai kit, amely a tisztított csillóantigént használja a diagnózis alátámasztására. A kezdeti nagy lelkesedés után mostanra világossá vált, hogy ez az egyik legkevésbé specifikus antigén (Wilske et al., 1993). Ellentétben amerikai szerzők véleményével (Ma et al., 1992; Simpson et al., 1991), a 39 kDa-os fehérje elleni antitestet sem találtam specifikusnak: a kontroll csoport 6%-ában mutatkozott ez ellen antitestválasz. Úgy tűnik, hogy a liquor WB vizsgálata 100%-ban specifikus (Coyle et al., 1993). A WB nagy előnye, hogy egy lépésben kimutatható az intrathecalis antitestszintézis, ami a legjobb diagnosztikus eszköz általában a neuroborreliosis és azon belül is a késői

formák diagnosztizálására (Lakos et al., 2005). A betegek negyedében tudtam csak kimutatni, de nagyon specifikusnak találtam a 93 kD-os fehérjével szembeni antitestválaszt: a kontroll csoport 1%-ában volt jelen és közöttük minden alkalommal gyenge reakciót adott. Szinte kizárólag az idült fertőzésekben jelenik meg, és rendkívül specifikus antitest a Lb-ban (Luft et al., 1992).

A mindennapi gyakorlatban rendszeresen elhangzó kérdés: alkalmas-e a szerológia a mikrobiológiai gyógyulás követésére, vagy sem. Az azonos betegektől sorozatban vett minták vizsgálata választ adhat erre a kérdésre. A WB nagy előnye, hogy követhetővé válik vele a mikrobiológiai gyógyulás, de látszik a kórokozó túlélése is. Míg az ELISA eredmények változatosak, vagy éppen javulást mutatnak, addig a WB vizsgálat során újabb és újabb antitestek megjelenése utalhat a kórokozó túlélésére (Karlsson et al., 1990). Az EM-osok körében a pozitivitás mértéke a kezelés megkezdése utáni 8-12. napon a legnagyobb, ilyenkor 80% körüli (Engström et al., 1995). Korábbi vizsgálatainkban mi is úgy találtuk, hogy a kezelés után átmenetileg növekszik az ellenanyagszint, ami fiziológias jelenségnek tekinthető (Lakos et al., 1994). Valószínű magyarázata az, hogy a kezelés hatására széteső Borreliák antigénjei szabadbá válnak, és a szervezet antitesttermelését talán így, de valószínűleg egyéb módon is serkentik. Ez az antitestszint-növekedés megtévesztheti a klinikusokat és a korán megismételt vizsgálatok eredményeképpen újabb antibiotikum-kezelést rendelnek el. A sorozatvizsgálatokkal kapcsolatban tehát hangsúlyozni kell, hogy a kezelés végén megismételt szerológiai vizsgálatról érdemi információ nem várható.

Némi magyarázatra szorul az uveitises betegek kontrollként való szerepeltetése. E csoportban olyan autoimmun, ismeretlen eredetű vagy akár keresztreakciót is adó fertőzésben szenvedő betegeket teszteltünk, akik más laboratóriumokból már kaptak pozitív Lyme szerológiai eredményt. Természetesen nem zárható ki az uveitis *Borrelia* eredete, hiszen ismeretes, hogy állatokban, elsősorban lovakban e kórokozó okozhat uveitist. WB vizsgálatunkkal is találtunk 3 beteget, akinek olyan masszív antitest-reakciója volt, mint amit az acrodermatitises betegek esetében szoktunk látni. Ezekben az esetekben nagy valószínűséggel valóban *Borrelia* infekcióról van szó, és talán elfogadható az uveitis *Borrelia* eredete. Tapasztalatunk szerint azonban a humán uveitisek hátterében csak igen-igen ritkán kell ezzel a lehetőséggel számolni.

A fentiekben részletezett tanulmány lezárása óta már 16 év telt el. Azóta a rutin diagnosztikában is használom az eljárást, és eddig a kalkuláció a klinikai képpel összevetve kifogástalanul működött, emiatt az ELISA vagy egyéb immun szerológiai szűrővizsgálatoknak haszna nem volt, ezért ezeket elhagytam.

I/2.5. Összefoglalás

A WB vizsgálatok elterjedésének gátat szab a körülményes standardizáció. Bizonyos, hogy eltérő körülmények között, eltérő antigén használatával a tanulmányt meg kellene ismételni. Nem mondható tehát, hogy az általam leírt határérték minden hasonló diagnosztikumban elfogadható, mégis saját blottok esetében már további változásra nem kell számítani. Mindez tehát azt jelenti, hogy ebben a rendszerben egy valószínűleg példa nélkül álló szenzitivitási-specifitási kontroll (hat, klinikailag meghatározott diagnosztikus csoportba sorolható, összesen 663 minta tesztelése) alapján megadott határértékkel a vizsgálat a korábbi eljárásokhoz képest összehasonlíthatatlanul jobban használható információt ad a klinikus kezébe.

I/3. Előrelépés a Lyme szerológiában: comparative immunoblot assay (COMPASS)

I/3.1. Bevezetés

A Bb 1982-es felfedezése óta (Burgdorfer et al., 1982) lehetőségünk van a Lb irányában szerológiai vizsgálatok végzésére. Ennek az eljárásnak a segítségével számtalan beteget tudtunk kórismézni és meggyógyítani. Hamarosan kiderült azonban, hogy ezek a vizsgálatok nem elég specifikusak (Banyas, 1992; Cutler et al., 1994; Tuuminen et al., 2011). Általában a keresztreagáló antitesteket (pl. syphilis vagy rheumatoid arthritis esetén) teszik felelőssé a gyengébb specificitásért (Craft et al., 1984; Raoult et al., 1989; Rath et al., 1994), bár kérdéses, hogy vajon ez a hiba okozza-e a legtöbb fals pozitív reakciót. Rutin laboratóriumi célra nincs más eszközünk, mint a szerológia. Napjainkban az olcsó, automatizálható ELISA vizsgálatokat végzik világszerte a legnagyobb számban. Ez a kvantitatív eljárás többnyire többféle antigénnel szembeni választ mutat ki, így nem tudjuk megmondani, hogy a kimutatott válasz mely antigénnel szemben jött létre. A vizsgálat háttérzaja és a nem specifikus reakciók intenzitása jelentős lehet, emiatt általánosan elfogadott, hogy a pozitív vagy határértékű ELISA eredményeket WB-tal konfirmálni kell, ezt hívják kétlépcsős protokollnak (CDC, 1995). A WB a specifikus és a kevésbé specifikus antitesteket elkülönítve méri, emiatt megbízhatóbb, ugyanakkor sokkal költségesebb módszer. A WB hátránya, hogy bár kvalitatív, de legalábbis ahogy ma általában értékelik, csak félig kvantitatív. Az általánosan követett útmutatók nem is foglalkoznak a WB vizsgálatban keletkező bandek intenzitásával, csak a bandek számával (CDC, 1995; Dressler et al., 1993; Hauser et al., 1997), így tehát csak részlegesen értékelik az immunválasz intenzitását. Ezt a hibát ki lehet küszöbölni úgy, hogy képfeldolgozó számítógépes program segítségével mérjük meg, hogy egy adott band milyen intenzív egy standard kontrollhoz képest. Ilyen eljárást az elsők között fejlesztettünk ki (Lakos et al., 1998), később az eljárásnak az automata immunoblot reader (AIR) elnevezést adtam (Lakos et al., 2008). Idővel hasonló elveken alapuló egyéb eljárások is megjelentek (Binnicker et al., 2008). Ezek a módszerek számszerű eredményeket adnak, mégsem terjedtek el.

1. kérdés

Bár jelentős fejlődés történt a szerológiai eljárások terén a metodikában, illetve a szenzitivitás és a specificitás vonatkozásában is (Bacon et al., 2003; Porwancher et al., 2011; Steere et al., 2008), a tesztek között rendkívül nagy a minőségi különbség (Ang et al., 2011, Lakos, 1990; Marangoni et al., 2005; Nohlmans et al., 1994.). Elég nyilvánvaló, hogy a hamis pozitív eredmények nagy része a korábban átvészelt fertőzések következménye. Az eddigi legjobb specificitás, amit valaha közöltek egy endémiás populáció vizsgálatakor 99.1% volt (Goettner et al., 2005). A tesztek túlnyomó többségének ennél sokkal gyengébb a specificitása. Mi azt találtuk, hogy egy ragyogó minőségű, 99%-os specificitású teszt pozitív prediktív értéke (PPV) meglepően alacsony, <10% (lásd az előző fejezetet), amennyiben a vizsgálatot szűrővizsgálatként alkalmazzák (Lakos et al., 2010). Mivel endémiás régióban (tehát Európa csaknem egész területén) a Bb antitest-vizsgálatok legalább 1%-ban hamis pozitív eredménnyel zárulnak, és mivel ez többnyire a korábban átvészelt fertőzés következménye, nem valószínű, hogy újabb technikai fejlesztésekkel ezt a hibát ki lehetne küszöbölni. Mi akkor a megoldás?

2. kérdés

A hamis pozitivitás aránya még nagyobb a Lb-nak kitett csoportokban (erdészeti dolgozók, gombászok, méhészek, tájfutók, vadászok). Azt találtuk, hogy szűrővizsgálat során 1670 erdészeti dolgozó közül 622 (37%) volt szeropozitív, közülük 280 (45%) nemcsak tünetmentes volt, hanem az előzményükben sem fordult elő semmilyen Lb-ra gyanús tünet. Így a PPV ebben a populációban még alacsonyabb, mindössze 1.8%. Másképp fogalmazva, a pozitív lelet legalább 98%-ban nem utal aktuális Lb-ra, tehát téves (Lakos et al., 2011). Hogyan lehet kiküszöbölni ezt a súlyos hibát?

3. kérdés

Az EM eset-meghatározásakor a legtöbb útmutató a CDC (CDC, 2008) és az Európai Lyme borreliosis Munkacsoport - EUCALB (Stanek et al., 1996) ajánlásait követi. Arra azonban nincsenek útmutatók, mit tegyünk, ha az EM nem felel meg a diagnosztikus kritériumoknak, azonban a Bb fertőzés gyanúja mégis fennáll. Ezekben az esetekben a klinikusok biztos, ami biztos alapon, szinte törvényszerűen antibiotikumot rendelnek. Ennek a gyakorlatnak pedig

általában súlyos következményei vannak (Steere et al., 2004). Hogyan tudjuk mégis bebizonyítani, hogy nem áll fenn a fertőzés?

4. kérdés

Az útmutatók által megfogalmazott szabály, hogyha valakinek nincs klinikai tünete, csupán a Bb szerológiai pozitivitás miatt nem adunk antibiotikumot. Akkor sem, ha az elmondás alapján ugyan nagy valószínűséggel EM-a volt a páciensnek, de most nincs semmi panasza, sőt a szerológia is negatív. Biztosak lehetünk abban, hogy a tünetmentesség kórokozó-mentességet is jelent?

5. kérdés

A Lb gyakori és igen korai szövődménye a facialis paresis. Gyakran nincs megelőző EM, és mivel a kullancscsípés többnyire a fül mögött van, ez többnyire észrevétlen marad (Lakos, 1991a). Mivel az arcidegbénulás korai tünet, a szerológia még gyakorta negatív. Bonyolítja a helyzetet, hogy egyes tanulmányok kedvező eredményeire hagyatkozva (Numthavaj et al., 2011; Sullivan et al., 2007) a facialis paresist szinte minden esetben szteroiddal kezelik, még mielőtt a Bb fertőzés lehetősége egyáltalán felmerülne. A szteroidkezelés módosíthatja az immunválaszt, és segítheti a kórokozók szóródását. A Bb gyakorta bekerül a központi idegrendszerbe, mégsem okoz látványos klinikai tüneteket (Ackermann et al., 1984; Pachner & Steere, 1984). A Lb-hoz társuló facialis paresis gyakran meggyógyul antibiotikum adása nélkül is. Ez növeli annak a kockázatát, hogy a betegség eredete rejtve marad. Mi a teendő, ha a szerológiai vizsgálat negatív lett röviddel az arcidegbénulás kezdete után?

6. kérdés

Számos tanulmány igazolja, hogy a Bb képes túlélni az antibiotikum-kezelést (Kannian et al., 2007; Maraspin et al., 2002; Steere et al., 2006; Wormser et al., 2003). Mivel ennek az igazolása / kizárása tenyésztést vagy PCR vizsgálatokat igényelne, ezek érzékenysége azonban a kezelést követően kétséges, hiszen nem biztos, hogy a mintavétel arról a helyről történik, ahol a kórokozó megbújik. Még fontosabb probléma, hogy ezek az eljárások költségesek, a tenyésztés még hetekig tarthat, a negatív lelet csak hónapok múlva mondható ki. Maradna tehát a szerológia, de vajon alkalmas-e a kórokozó túlélésének igazolására?

7. kérdés

A neuroborreliosis alátámasztására általánosan elfogadott, hogy az intrathecalis Bb antitest-szintézis kimutatása az egyetlen módszer. Az alapvető probléma, hogy a vér-agy gát károsodása során a vérben található immunglobulinok átszűrődhetnek a liquorba. Ezekről az ellenanyagokról kell elkülöníteni a központi idegrendszerben termelődöttet. Az intrathecalis Bb antitest-meghatározására több eljárást dolgoztak ki. Ezek többsége legalább 4 mérést jelent – pl. szérum anti-Bb IgG/összes szérum IgG és liquor anti-Bb IgG/összes liquor IgG. Vannak, amelyek a specifikus Bb antitestek mellett pl. a tetanusz antitesteket használják referencia antitestként. Amennyiben az ellenanyagok a barrierzavar miatt kerültek a liquorba, akkor a tetanusz immunglobulin mennyisége a *Borrelia* antitesttel párhuzamosan viselkedik, egyforma arányban jelenik meg a liquorban. Az ajánlások különböző matematikai képleteket, önkényesen meghatározott szorzókat használnak, amiket empirikus adatokkal támasztottak alá. (Halperin et al., 1991; Kaiser, 2000; Wilske et al., 1986). A több mérés több hibalehetőséget is jelent. A mérési hiba különösen azokban az esetekben jelentős, ahol a valós mennyiségek szélsőségesen alacsonyak vagy szélsőségesen magasak. Márpedig épp a nem Lyme betegek esetében szélsőségesen alacsony értékek mérhetőek. Milyen szerológiai lehetőségünk van arra, hogy kevesebb méréssel, megbízhatóbb eredményünk szülessen?

8. kérdés

Igen sok tanulmány szerint a betegek mintegy 10%-a panaszos marad a Lb sikeresnek tűnő kezelése után is. Ha kialakul ez a jobbra szubjektív tünetekből álló tünetegyüttes, (fáradékonyság, memóriazavar, tanulási képtelenség, izom- és ízületi fájdalmak) az antibiotikum-kezelés már nem sokat segít (Klempner et al., 2001, Marques, 2008; Wormser et al., 2006). Mégis elképzelhető, hogy a tünetegyüttest adott esetben a túlélő kórokozók okozzák. Ez a feltételezés még nem zárható ki annak alapján, hogy az antibiotikum nem használ. Találhatunk-e további támpontot ennek a tisztázására?

9. kérdés

Számtalan tanulmány készült az antibiotikumok hatékonyságának megítélésére Lb-ban. Mégis igen szélsőséges terápiás útmutatók születtek. Egyesek szerint 10 napos doxycyclin-kezelés is elegendő (Wormser et al., 2003) mások 30 napos terápiát javasolnak (Stanek et al., 2003). Van közlemény 11 hónapos kezelésről is (Donta, 1997). Ezzel szemben az azithromycin adását Lb-ban 5 napig javasolják (Arnez et al., 2002, Hunfeld et al., 2005). Tovább bonyolítja a

helyzetet, hogy a korai formákban rövidebb ideig javasolják az antibiotikumokat, mint a késői formákban. Vajon, mi magyarázza az eltéréseket? A későbbi formákban növekedne a Bb minimális gátló koncentrációja, van-e erre tudományos bizonyíték? Túl ezen, születtek meglepő állásfoglalások. Az egyik legszembeötlőbb, hogy újabban sokan tanácsolják, hogy a neuroborreliosiszt a doxycyclin relatíve kis adagjaival kezeljük. Ezek az adagok nem érik el egyes *Borrelia* izolátumok gátló koncentrációját a gerincfolyadékban (Baradaran-Dilmaghani et al., 1996; Karlsson et al., 1996; Kleibeuker et al., 2009). Külön fejezet a terhesek Bb elleni kezelése. Az IDSA (Infectious Disease Society of America) módszertani levele szerint a terheseknek ugyanannyi amoxicillint kell adni, mint más betegeknek - 3x500 mg/die - (Wormser et al., 2006). Pedig a terhességben felgyorsul a gyógyszer metabolizmusa, a testtömeg gyarapodása is jelentős, de ennél is nagyobb mértékben növekednek meg a folyadékterek, emiatt az ajánlott dózissal nem lehet tartósan magas vérszintet biztosítani (Andrew et al., 2007). Az én vizsgálataim szerint a kezeletlenül maradt EM-os kismamák terhességi szövődményeinek gyakorisága alig marad el azokétól, akiket orális antibiotikumokkal kezeltek, szemben a ceftriaxonnal kezeltékétől. Ez utóbbiakban szövődmények gyakorlatilag nem fordultak elő (Lakos és Solymosi, 2010). Alapvető probléma, hogy a Lb spontán klinikai gyógyhajlama jelentős, emiatt csak nagyobb számú beteg vizsgálatával lehetne statisztikailag meggyőző eredményhez jutni. A klinikai gyógyulás ugyanis nem okvetlenül jelent mikrobiológiai gyógyulást is. Fordítva, attól, hogy a beteg fennálló tünetekre panaszkodik, még távolról sem biztos, hogy e tünetek a Lb-sal függenek össze. A Lb-ban adható antibiotikumokkal végzett kettős vak tanulmányok megtervezése is problémás. A doxycyclin fényérzékenyítő hatása miatt a legtöbb betegről, már ahogy a rendelőbe belép, az első pillanatban kiderül, hogy ezt a gyógyszert szedte. Az orr kipirulása ugyanis roppant jellegzetes a doxycyclin nyári (vagyis a Lyme szezonban történő) adásakor. Amennyiben a kísérletben ceftriaxon adása szerepel, a kettős vak jelleg azért sérül, mert a gyógyszernek olyan jellegzetes illata van, ami a beteg és az orvosa által is könnyen felismerhető. Ezért jó lenne egy laboratóriumi teszt, ami valóban vakon lenne értékelhető, és igazolná, hogy sikerült-e elérni a mikrobiológiai gyógyulást.

A fenti problémák megoldására fejlesztettem ki az összehasonlító WB vizsgálatot (comparative immunoblot assay - COMPASS).

I/3.3.1. **Western (immuno) blot**

Az eljárást a pályamunka korábbi fejezetében ismertettem.

I/3.3.2. **COMPASS**

Az eljárás két vizsgálati minta párhuzamos WB vizsgálatát jelenti. Többnyire két eltérő időben vett szérummintáról van szó. Az első mintát mélyhűtőben tároljuk és a későbbi időpontban vett mintával párhuzamosan, egymás melletti pozícióban állítjuk be. Így még a csekély eltérések is biztonságosan értékelhetők, a technikai eredetű hibák kiküszöbölhetők. Az eljárást egyes részleteiben korábban már leírtam (Lakos et al., 1997; 2005; 2008). Nem a pozitívítást/negatívítást, hanem a két (vagy több) minta közötti változást értékeljük. A COMPASS-nak vannak speciális alkalmazási területei, amikor azonos időben vett két mintát hasonlítunk össze, mint pl. amikor az intrathecalis antitesttermelést vizsgáljuk. Itt a szérum és az azonos napon vett liquormintát vetjük össze. A másik ilyen helyzet, amikor az intrauterin Bb fertőzés kizárására az újszülött és az anya lehetőleg azonos napon vett szérummintáját hasonlítjuk össze. A savópárokat vagy savó- és liquorpárokat mindig egymás mellett állítjuk be.

I/3.3.3. **Betegek**

Volt néhány beteg, aki kezeletlenül maradt, ezek felbecsülhetetlen értékű adatokkal szolgáltak a COMPASS kiértékeléséhez. Ezen betegek adatai alapján lehet megítélni, hogy milyen antitestek, mekkora intenzitással jelennek meg, és hogyan változnak az idő függvényében. Ezek a betegek többféle okból maradtak kezeletlenül: néhányan visszautasították az antibiotikumkezelést, mert alternatív (természetgyógyászati) eszközökkel, pl. homeopátiával kívánták magukat gyógyítani. Másokban az EM az első megjelenéskor még nem volt típusos, vagy átmérője nem érte el az 5 cm-t, de később a klinikai megjelenés alapján a diagnózis egyértelművé vált. Olyan páciensek is szerepelnek ebben az anyagban, akik többszörös kullancscsípés után, még tünetmentesen kerültek vizsgálatra, de később típusos EM alakult ki a csípés helyén. Mindezen esetekben mindkét megjelenéskor vettünk vért, és a két vérvétel között a páciensek nem kaptak antibiotikumot.

I/3.3.4. **Etika**

A tanulmányt a Helsinki Deklaráció elveinek megfelelően végeztem, és azt az Egészségügyi Tudományos Tanács Etikai Bizottsága engedélyezte (2409-0/2011-EKU - 66PI/11).

I/3.4. **Példák**

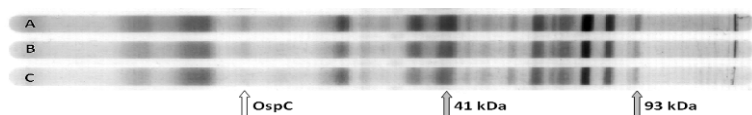
Ebben a fejezetben esetbemutatásokkal illusztrálom a COMPASS különböző helyzetekben történő alkalmazását, illetve az antitestválasz alakulását az idő függvényében.

I/3.4.1. **COMPASS a szerológiai javulás, vagyis a mikrobiológiai gyógyulás igazolására****1. Esetismertetés**

A, 1996.06.29. Egy 80 éves nő, típusos ACA jeleivel jelentkezett. Az első savómintát 18 hónappal az után vettük, hogy túl volt egy másik intézményben történt első antibiotikum-kezelésen. I.v. penicillint kapott 8 napig, majd 1x100 mg doxycyclint szájon át 7 napig. A gyulladásos terület mérete csökkent, de a fájdalom megmaradt az érintett bőrterület alatt. Tekintettel a panaszaira és az extrém pozitív szerológiai reakcióra, doxycyclint, majd azithromycint rendeltem. Egy évre rá ízületi fájdalomra és érzékszavarra panaszkodott, emiatt újabb kezelését javasoltam.

B, 2000.02.24. Az eltelt 5 év alatt összesen 137 napig, 5 antibiotikum-kúrában részesült, ezek között 2 alkalommal kapott ceftriaxont i.v.

C, 2002. 05. 21. Mostanra a COMPASS egyértelmű szerológiai javulást mutatott, annak ellenére, hogy még ez az utolsó minta is erősen pozitív. A bandek többsége halványodott, az OspC antitestje eltűnt (nyilak). Utólag már valószínűsíthető, hogy az antibiotikum-kezelések nagy része felesleges volt (I/33. ábra).



I/33. ábra. ACA szerológiai követése (IgG)

2. Esetismertetés

A, 2010.08.23. EM miatt amoxicillint kapott.

B, 2011.06.18. Csupán egyetlen bandben (14 kDa – pettyezett nyíl) van csökkenés, de ez elég ahhoz, hogy kimondjuk a mikrobiológiai gyógyulást, noha a lelet még pozitív (I/34. ábra).

dc_164_11

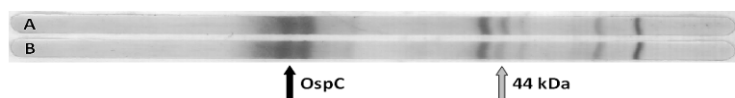


I/34. ábra. Klinikai és szerológiai gyógyulás (IgG)

3. Esetismertetés

A, 2010.08.16. A térdhajlatból kiinduló 20 cm átmérőjű EM. Súlyos lábfájdalom, általános panaszok, főleg fáradékonyság kíséerte. Doxycyclint rendeltem 40 napon át 2x100 mg/die adagban. Egy hét alatt tünetmentessé vált, bár néha még visszatért a lábakban a bizsergés.

B, 2011.06.18. Legalább 3 hónapja teljesen panaszmentes. Bár a lelete még most is pozitív, a 44 kDa-os fehérje elleni antitestben javulás látható (pettyezett nyíl), rosszabbodás egyetlen paraméterben sincs, a mikrobiológiai gyógyulás igazolt (I/35. ábra).



I/35. ábra. Másik példa a klinikai és szerológiai gyógyulásra (IgG)

4. Esetismertetés

2009. májustól októberig volt EM-a. Akkor keresett fel, amikor 8 hetes terhessége megszakadt. Az ekkor még élénk, típusos EM-át 3x1000 mg amoxicillinnel kezeltük. Klinikailag gyógyult.

A, 2010.07.22. Az itt látható első savóját a gyógyulás igazolására 9 hónappal később vettük.

B, 2011.02.02. Ízületi fájdalmak miatt vettük ezt a mintát, szeroprogressziót nem láttunk, antibiotikumot nem kapott.

C, 2011.06.15. Újabb terhesség vállalása előtt kéri vizsgálatát. Az alább bemutatott COMPASS alapján gyógyultnak nyilvánítottam. Látványos javulás látható a 14 kDa-os fehérje elleni antitestben. További kontrollját nem javasoltam. Jó példa ez arra, hogy sokszor még hosszú idővel (itt 2 évvel) a gyógyulás után is látható szeroregresszió (I/36. ábra).



I/36. ábra. Újabb példa a klinikai és szerológiai gyógyulásra (IgG)

5. Esetismertetés

Fokozatosan kialakuló tetraplegia, chronicus lymphocytás meningitis kezdődött 1994 áprilisában. Extrém pozitív Lyme szerológiai lelete miatt ceftriaxonnal kezeltem 1995. februárban, 1x2 g-ot 15 napig kapott. Sokat javult, de szerológiai és klinikai relapszus miatt 1997. novemberben még 40 napig kapott 1x200 mg doxycyclint. Sokat javult, bot nélkül jár, önállóan közlekedik, segítségre nem szorul, de nem vált tünetmentessé. Emiatt ellenőriztem.

A, 1997.12.01.

B, 2005.03.21.

C, 2011.06.09. Jó példa arra, hogy 14 év után (ez alatt az idő alatt a páciens nem kapott egyéb okból sem antibiotikumot) még mindig extrém pozitív lelet észlelhető egy idült fertőzés után. COMPASS nélkül nem lehetne kimondani a gyógyulást, így viszont a szerológiai javulás egyértelmű: szinte minden band halványodott, újabb nem jelent meg, és egyik sem lett intenzívebb (I/37. ábra).



I/37. ábra Progresszív *Borrelia encephalomyelitis* gyógyulása (IgG)

I/3.4.2. COMPASS a Bb túlélésének igazolására

6. Esetismertetés

A, 2010.08.11. EM 25 nappal a mintavétel előtt kezdődött. Az IgM-ben erős antitestválaszt láttunk. 3x1g amoxicillint kapott.

B, 2010.12.08. Itt már látszott progresszió, de ekkor még újabb kezelését nem javasoltam.

C, 2011.06.15. A csíkozott nyíl mutatja, hogy a 3. vérmintában minimális, de további rosszabbodás látszott, emiatt újabb antibiotikumot (Zinnat 2x500 mg) rendeltem (I/38. ábra).



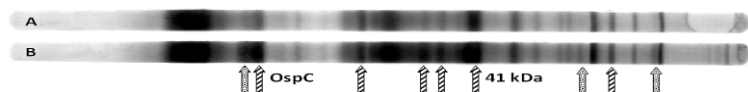
I/38. ábra. Szerológiai rosszabbodás az EM klinikailag sikeres kezelése után (IgG)

7. Esetismertetés

A 16 éves páciens egyoldali térdízületi duzzanata 2010 áprilisában kezdődött. Átmeneti tünetmentesség után másik térd-, később könyökízületi arthritis lépett fel.

A, 2011.04.05. 40 napig 2x100 mg doxycyclin-kezelésben részesült, de a térdízületi duzzanat perzisztált. Emiatt ceftriaxont rendeltem, 1x2 g i.v. 15 napig. Erre a térdízületi duzzanat elmúlt, de a gyógyszerkúra befejezése után egy héttel, 2011.06.17-én a másik térd is begyulladt.

B, 2011.06.23. Szinte valamennyi bandben látható progresszió, de néhány új band is megjelent – ezekre mutatnak a pettyezett nyilak. Ilyen szeroprogessziót a sikeres kezelések után sohasem láttam. A fenti savópár jó példa arra is, hogy nincs olyan pozitív minta, aminél ne lehetne még pozitívabb. Arra is jó, hogy demonstráljam, Lyme arthritis csak az ilyen extrém pozitív lelet alapján igazolható. Hasonlóan extrém pozitív lelet várható el ACA esetén is (I/39. ábra).



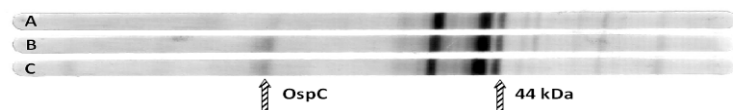
I/39. ábra. Szeroprogesszió a Lyme arthritis sikertelen kezelése után (IgG)

8. Esetismertetés 3

A, 2010.08.09. Négy napja fennálló EM miatt végeztem a szerológiát. 3x250 mg amoxicillint kapott (14 kp volt a testsúlya).

B, 2010.12.02. A kezelés után röviddel, gyakran látható szeroprogesszió. Bár ez ennyi idő után már nem szokott látszani, a nyilvánvaló szeroprogesszió (OspC) ellenére nem kapott újabb kezelést.

C, 2011.06.22. Az előző mintához képest is látható – bár minimális, de további – progresszió (44 kDa), emiatt újabb kezelését javasoltam (I/40. ábra).



I/40. ábra. Szeroprogesszió a klinikailag sikeres kezelés után (IgG)

9. Esetismertetés

A, 2010.09.30. Egy hónapja a füle mögül kullancsot távolítottak el, 3 napja ezen az oldalon facialis paresise alakult ki. Lb klinikailag igazolt, és IgM-ben is erős pozitivitást találtunk. Ceftriaxon-terápia megkezdése (1x2 g) i.v. után egy héttel már tünetmentes volt.

B, 2010.12.09. IgG-ben jelentős szeroprogesszió látható, a páciens tünetmentes. Emiatt nem kezeltem újra.

C, 2011.06.15. További progresszió látható, újabb kezelése indokolt (I/41. ábra).



I/41. ábra. Klinikailag sikeres kezelés után kialakuló szeroprogesszió (IgG)

10. Esetismertetés

A, 2010.08.30. Perifériás facialis paresise és erősen pozitív IgM lelete miatt két részletben kapott, összesen 17 napig azithromycint, már épp befejezte a gyógyszer, és már egy hete tünetmentes volt, amikor először láttam.

B, 2010.11.30. Szerológiai regresszió látható a nyíllal jelölt bandban.

C, 2011.05.31. Az átmeneti javulást követő, több bandben is megfigyelhető szerológiai rosszabbodást a Borrelia túlélésének jeleként értékeltem és újabb antibiotikum-kezelést javasoltam (I/42. ábra).



I/42. ábra. Facialis paresis klinikailag sikeres azithromycin-kezelése után kialakuló szeroprogesszió (IgG).

11. Esetismertetés

2011.06.07-én kezdődött az EM. Előző nap csípte a kullancs.

A, 2011.06.23. Ekkor 5 cm-es volt az EM. Homeopátiával kezelték, az általam javasolt antibiotikum-kezelést visszautasította.

B, 2011.07.21-ére az EM 60 cm átmérőjű lett, bokától a lágyékig ért. Csak IgM-ben láttunk, akkor is csak minimális mértékű, mégis egyértelmű szeroprogessziót (nyíllak - I/43. ábra).).



I/43. ábra. Homeopátiával kezelt erythema migrans (IgM)

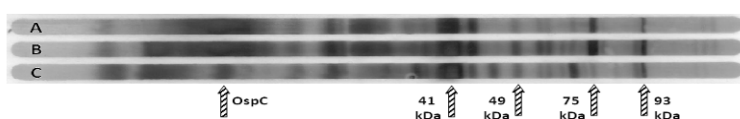
12. Esetismertetés 7

2010. szeptember közepén alakult ki EM-a. 2011. február végére a folt spontán megszűnt.

A, 2011.03.28. Bár erősen pozitív lelete született, addigra már klinikailag tünetmentessé vált. Így nem kezeltük.

B, 2011.08.04. A COMPASS igazolta a fertőzés aktivitását, annak ellenére, hogy klinikai tünete nem volt. Csaknem valamennyi band intenzitása fokozódott és néhány új band is megjelent.

C, A pozitív kontrollmintát is bemutatjuk, hogy jobban meg lehessen ítélni a bandek intenzitását (I/44. ábra)..



I/44. ábra. Csaknem egy éven át kezeletlenül hagyott EM (IgG)

I/3.4.3. COMPASS a Lyme borreliosis esetleges relapszusának tisztázására

13. Esetismertetés 1

A, 2008.07.06. EM miatt vettük a vért.

B, 2011.06.14. Ízületi fájdalmak miatt végzünk összehasonlító vizsgálatot. Szerológiai regresszió látható. A nyíl az OspC antitestre mutat, ami eltűnt a közel 3 év során, míg a többi antitest, csaknem változatlan. Kimondható, hogy az ízületi fájdalmak nem a Lb miatt alakultak ki (I/45. ábra).



I/45. ábra. Szeroregresszió van, nincs relapszus (IgG)

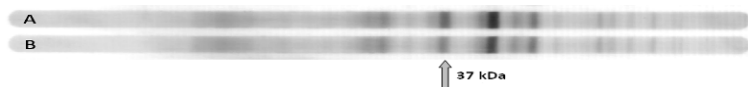
14. Esetismertetés

2009. november és 2010. szeptember között összesen 5 antibiotikum-kúrában részesült más intézményekben pozitív szerológiai eredmények és szubjektív panaszok (palpitatio, zsibbadások, fáradékonyság) miatt. Az elmondás alapján valószínűleg EM-a volt, mely kezeletlenül gyógyult még 1996-ban.

A, 2010.09.09. Annak ellenére, hogy a lelet „pozitív” a sok halvány band alapján gyógyult fertőzés emlékének véleményeztem, további kezelését nem javasoltam.

dc_164_11

B, 2011.05.12. Szubjektív panaszai felerősödtek. A COMPASS-ban nincs intenzitás-fokozódás, sőt némi csökkenés is sejthető (nyíl). Aktuális Lyme betegség kizárt (I/46. ábra).



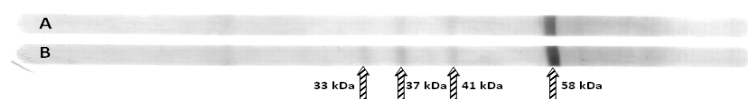
I/46. ábra. Aktuális Lyme betegség a pozitív szerológiai reakció ellenére kizárt (IgG).

I/3.4.4. COMPASS a terhesek kullancscsípés miatti szűrővizsgálatára

15. Esetismertetés

A, 2011.06.08. 39 hetes terhesség miatt végeztem szerológiát kullancscsípés után 17 nappal, de ez negatív lett.

B, 2011.06.27. Öt nappal később erythema kezdődött a csípés helyén, mely mostanra típusos EM-szá fejlődött. Minimális szeroprogresszió mutatkozott (nyilak - I/47. ábra).



I/47. ábra. Szeroprogresszió 19 nap alatt (IgM)

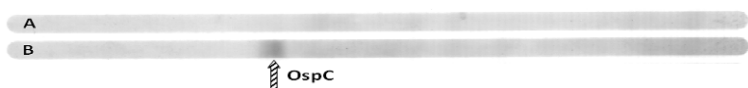
16. Esetismertetés

A, 2011.06.23. A 14 hetes terhességében lévő kismamát 12 nappal a kullancscsípés után vizsgáltam. Ez a mintája negatív lett.

B, 2011.07.27. A szeroprogresszió egyértelmű, ceftriaxon-kezelést indítottam, annak ellenére, hogy a fertőzésnek nem volt klinikai tünete (I/48-49. ábra).



I/48. ábra. Szeroprogresszió kullancscsípés után terhességben (IgG)



I/48. ábra. Minimális szeroprogresszió kullancscsípés után terhességben (IgM – az előző pácienssel azonos)

I/3.4.5. COMPASS szűrővizsgálatként – többszörös kullancscsípés után

17. Esetismertetés

A, 2011.06.01. Tíz kullancscsípés (2011.05.30.) után végeztem a vizsgálatot. Határértékű reakciót találtam.

B, 2011.06.15. Ekkorra 11 cm átmérőjű EM alakult ki (I/49. ábra).



I/49. ábra. Szeroprogesszió 14 nap után (IgM)

I/3.4.6. COMPASS atípusos EM miatt

18. Esetismertetés

A, 2011.06.15. Gyorsan növekvő, kifejezetten duzzadt, ismeretlen rovar csípése (2011.05.27.) helyén kialakuló 4 cm átmérőjű erythema miatt vizsgáltuk.

B, 2011.06.23. Mostanra típusossá vált az EM. Bár a 2. minta is még negatív, a szeroprogesszió (nyíl) egyértelmű (I/50. ábra).



I/50. ábra. Szeroprogesszió 8 nap alatt (IgM)

I/3.4.7. COMPASS arcidegbénulásban

19. Esetismertetés

A, 2011.01.17. Az arcidegbénulás 2010 novemberében kezdődött. Methylprednisolon mellett 4 nap alatt tünetmentes lett. A szerológiai is negatív lett.

B, 2011.03.23. Két hónap múlva jött vissza. Szeroprogesszió a 21 kDa-os bandben arra utal, hogy Bb fertőzése van, annak ellenére, hogy a 75 kDa-os bandben intenzitás-csökkenés látható. Ez az eset jó példa arra, hogy az egyik band csökkenése mellett egy másik erősödhet. Ez az egyik fontos oka annak, hogy az ELISA nem alkalmas összehasonlító vizsgálatok végzésére, mert az egyik antitest csökkenése kiegyenlítheti egy másik erősödését (I/51. ábra).



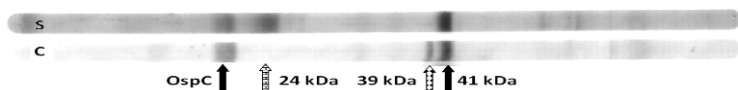
I/51. ábra. Szeroprogesszió egy már tünetmentes, arcidegbénuláson átesett betegben.

I/3.4.8. COMPASS intrathecalis Bb antitesttermelés kimutatására

20. Esetismertetés

Általánosan elfogadott, hogy az intrathecalis Bb antitesttermelés kimutatása a legmegbízhatóbb eszköz a neuroborreliosis alátámasztására. Egy korábbi tanulmányunk szerint az intrathecalis Bb antitesttermelés igazolható, amennyiben a WB mintázat jelentősen eltér a párhuzamosan vizsgált szérumban és liquorban. Bizonyítja az intrathecalis antitesttermelést, ha egyes bandek láthatók a liquorban, de hiányoznak a szérumból, és fordítva, ha jelen vannak a szérumban, de nincsenek a liquorban, miközben egyes bandek a liquorban legalább olyan intenzívek, mint a szérumban. Az előbbi feltételeken túl, amennyiben a különbség „aránytalan”, vagyis egy elméleti hígítással vagy koncentrálassal nem lehet a két vizsgálati anyag mintázatát azonosra formálni – ez az aszimmetria szabály – az intrathecalis antitest-termelés, így a neuroborreliosis igazolt (Lakos et al., 2005).

Ebben a példában a liquorban (C) látható a 39 kDa-os band, ami hiányzik a szérumból (S), fordított helyzet látható a 24 kDa-os band esetén, miközben a 41 kDa-os band csaknem egyforma a két mintában. E két fontos különbség egyike is elegendő lenne az intrathecalis szintézis igazolására. Külön nem jelöltem, de a nagyobb molekulásúlyú régiókban is láthatók az előzőekhez hasonló aszimmetriák (I/52. ábra).



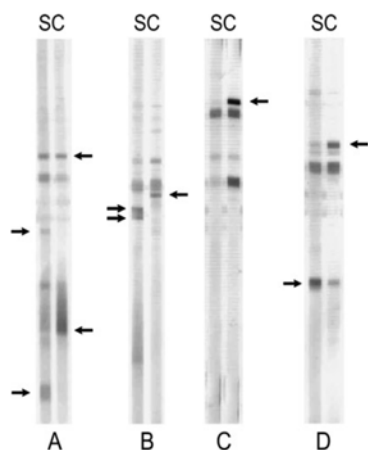
I/52. ábra. Neuroborreliosis (lymphocytás meningoradiculitis, Bannwarth-szindróma - IgM)

Látványos különbség mutatkozik IgG-ben is a liquor és a szérumbandmintázatában a 41 és a 93 kDa-os bandekben, de fontos az is, hogy míg itt a liquor bandjei az erőteljesebbek, a 47 kDa-os bandben alig van különbség, sőt a liquor band valamivel még halványabb is. Ebben az esetben az intrathecalis Bb antitesttermelés mind az IgM, mind az IgG vonatkozásában igazolódott, bár egyikük is elegendő a diagnózis kimondásához (I/53. ábra).



I/53. ábra. Az előbbivel azonos beteg (IgG)

Ehelyütt érdemes összefoglalni, hogy milyen lehetőségek fordulnak elő a gyakorlatban, ahol a COMPASS segítségével bizonyítani lehet az intrathecalis antitestszintézist (I/54. ábra).



I/54. ábra. Az intrathecalis szintézist bizonyító bandmintázati lehetőségek a szérum-liquor párokban (S=szérum, C=liquor). Minden betű (A–D) egy beteg vizsgálati mintapárjait jelöli. Valamennyi IgG reakciót mutat. (A) A bal oldali nyílak azokra a bandekre mutatnak, amelyek hiányoznak a liquorból, míg a jobb oldali nyílak azokra mutatnak, ahol a liquor bandjei a szérummal azonos vagy az abban láthatónál erőteljesebb intenzitásúak. (B) A bal oldali nyílak olyan szérum bandekre mutatnak, melyek nincsenek jelen a liquorban, míg a jobb oldali nyíl egy olyan bandre mutat, ami nincs jelen a szérumban. Ezt a fajta konstelációt találtuk a leggyakoribbnak egy korábbi vizsgálatunkban (Lakos et al., 2005). (C) Már az is bizonyítja az intrathecalis Bb antitest-szintézist, ha csak egyetlen band mutatkozik a liquorban, ami nincs jelen a szérumban. (D) A szérum és a liquor bandmintázata csaknem azonos, de a nyílak olyan bandekre mutatnak, amelyek vagy a szérumban vagy a liquorban intenzívebbek. Ez a változat fordul elő a legritkábban.

21. Esetismertetés

2010. 12.19. Ez az erdészeti dolgozó epilepsziás lett, pozitív Bb antitestválaszt találtak IgG-ben és a liquorban is egy másik intézetben. A liquorban mi csak nagyon halvány bandeket találtunk, amelyek a szérum bandmintázatát tükrözték (I/55. ábra). Nincs tehát intrathecalis antitesttermelés, így neuroborreliosis kizárt. Összehasonlításképpen a pozitív kontrollmintát is mellékelem, így jobban megítélhető, hogy az erdésznek, bár sok bandje kimutatható, ezek halványak, kopottak. Ez jellemző a már régen gyógyult, de korábban hosszabb ideig fennállott vagy ismételten elszenvedett fertőzésekre. Ezt a képet gyakorta látjuk a tünetmentes, de magas rizikójú csoportba tartozó egyéneken.



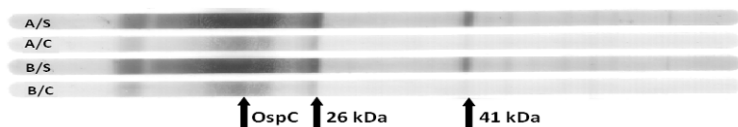
I/55. ábra. Erdészeti dolgozó szérum-liquor párja (IgG). Neuroborreliosis kizárt.

22. Esetismertetés

A, 2010.11.28. Az itt látható minta vétele előtt egy évvel kezdődött hypoglossus paresis miatt vizsgálták ezt az erdészeti dolgozót. Más intézetben végzett ELISA a liquorban IgG Bb antitesteket talált (C). Mi is hasonló eredményre jutottunk, de a bandek igen halványak, és ponto-

san tükrözik a szérumban (S) látható mintázatot. Tehát nincs intrathecalis Bb antitesttermelés, a neuroborreliosis lehetőségét kizártam. Nem kapott antibiotikumot.

B, 2011.07.22. A megismételt vizsgálat változatlansága igazolja (I/56. ábra), hogy a korábbi döntésem helyes volt. A pozitív ELISA reakció a vér-agy gát károsodásának a következménye. A szérumban és a liquorban 8 hónap alatt sem változó immunológiai kép igazolja, hogy korábban lezajlott, de már régen gyógyult fertőzésből származó maradvány-ellenanyagot látunk.



I/56. ábra. Erdészeti dolgozó szérum- és liquorpárja, (IgG). Mindkettő pozitív, még sincs neuroborreliosis.

I/3.4.9. COMPASS a Bb fertőzésre fokozott kockázatú emberekben

23. Esetismertetés

A, 1992.06.25. Először erdészeti szűrővizsgálat során végeztünk szerológiát. Tünetmentes volt. A gyengén pozitív immunválaszt lezajlott fertőzés emlékeként értékeltem, antibiotikum adását nem javasoltam.

B, 1999.04.07. Ebben az évben ízületi fájdalmai lettek, a COMPASS alapján kizártam, hogy fennálló Borrelia-fertőzése volna, de más laboratóriumokban rendre „pozitív” leletei születtek, emiatt ismételten kapott (legalább 10 alkalommal) doxycyclint és ceftriaxont, ezekre mindig javult átmenetileg, majd visszaesett.

C, 2002.05.21. Eddigre már nagyon súlyos csípőfájdalmai lettek. Az ekkor végzett COMPASS már csökkenő immunválaszt mutatott, tehát a fennálló Lyme betegség lehetőségét egyértelműen kizártam (I/57 ábra), de még mindig újabb antibiotikum-kezeléseket javasoltak a kollégák. 2003 tavaszán derült csak ki, hogy osteosarcomája van, ami már inoperábilis volt, és szeptemberre az erdész halálát okozta. Amennyiben a beteg és a kollégák elfogadták volna a véleményemet, a kimenetel bizonyára kedvezőbb lehetett volna.

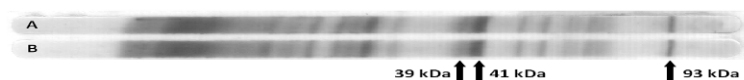


I/57. ábra. Erdészeti dolgozó 10 éves szerológiai követése (IgG). Korábban lezajlott fertőzés emléke. A pozitív Bb szerológiai leletek miatt túl későn felismert osteosarcoma a beteg halálához vezetett.

24. Esetismertetés

A, 2010.07.07. Erdészeti dolgozó. Más intézetben végzett szűrővizsgálat során találták pozitívnak. Panaszmentes, az első vérmintában látott immunológiai képet (sok, de halvány, kopott band) lezajlott fertőzés jelének véleményeztem, antibiotikum-kezelését nem javasoltam.

B, 2011.05.16. A változatlan képet adó minta alapján ezt a véleményt megerősítettem, noha a lelet „pozitív”, aktuális Lyme betegség kizárt (I/58). ábra.



I/58. ábra. A pozitív leletek ellenére nincs aktuális *Borrelia* fertőzés

I/3.4.10. COMPASS reinfekcióban

25. Esetismertetés

A, 2008.07.16. Ezt a mintát 10 kullancscsípés után vettük, az eredmény ekkor még negatív lett.

B, 2011.06.29. Évekkel később vettük ezt a mintát 9 nappal az után, hogy 40 (!) típusos EM keletkezett egy újabb kullancscsípést követően. Ez az eset nemcsak a reinfekciót példázza, hanem utal arra is, hogy a multiplex EM mindig látványos, többnyire IgM reakcióval jár, és ez a reakció már igen korán megmutatkozik (I/59. ábra).

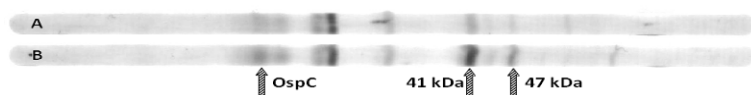


I/59. ábra. Látványos szeroprogresszió IgM-ben multiplex EM-ban

26. Esetismertetés

A, 2010.10.20. Az elmondás szerint 2008 augusztusában volt EM-a, és ezt követően alakult ki Parkinson-szindrómája. A páciensben felmerült, hogy a tünetei és az átvészelt Bb-fertőzés között okozati kapcsolat van. Ezt kizártuk az ekkor vett vérminta (halvány, kopott bandek) alapján.

B, 2011.06.23. Egy, 10 nappal a kullancscsípés után, aznap felismert 6 cm-es EM miatt vettük ezt a mintát. A szeroprogresszió nyilvánvaló (I/60. ábra).

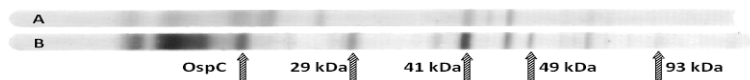


I/60. ábra. Szeroprogresszió reinfekcióban (IgG)

27. Esetismertetés

A, 2007.07.18. Sportvadász, 2005 szeptemberében volt EM-a. Gyógyult, de ízületi fájdalmai kezdődtek. A bandmintázat (kopott, halvány bandek) a korábban lezajlott, gyógyult fertőzésre jellemző. Aktuális Bb fertőzés lehetőségét kizártam.

B, 2011.06.15. Hatalmas, 100 cm átmérőjű EM miatt jelentkezett. A reinfekcióra jellemző szeroprogrediációs immunológiai kép látható. Megváltozik a bandmintázat. A korábbi ellenanyagok egy része eltűnik, és új, sokkal intenzívebbek jelennek meg (nyilak - I/61. ábra).

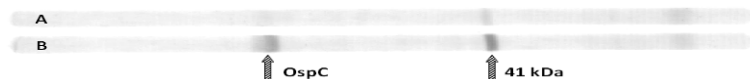


I/61. ábra. Reinfekció egy sportvadászban (IgG)

28. Esetismertetés 4

A, 2010.08.31. Egy korábban zajlott EM kontrolljára vettük ezt a vérmintát.

B, 2011.04.04. Három hete, 15 cm-esre növekvő viszkető erythemája volt, de már egy hete nem látható a folt. Az IgM-ben látható progresszió igazolta, hogy EM-ről van szó, tünetmentessége ellenére a kezelését javasoltam (I/62). ábra.



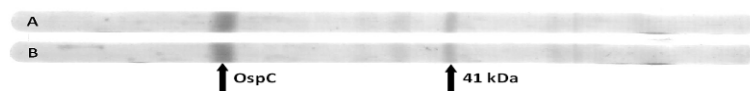
I/62. ábra. Reinfekció jelei (IgM)

I/3.4.11. COMPASS ál pozitív reakciók tisztázására

29. Esetismertetés

A, 2011.05.23. Más intézményben végzett vizsgálat IgM Borrelia WB pozitivitást talált, de a tünetei (ekzema) nem utaltak Lyme betegségre. Ezért annak ellenére, hogy az általunk végzett vizsgálat eredménye is pozitív lett, nem adtam antibiotikumot, hanem savópárvizsgálatra hívtam vissza.

B, 2011.06.28. A COMPASS nem mutatott változást sem IgG-ben, sem IgM-ben. Ez utóbbi ennyi idő alatt friss fertőzésben mindig mutat változást. Ez bizonyítja, hogy a pozitív reakció ellenére nincs aktuális Borrelia-fertőzés (I/63. ábra).



I/63. ábra. Pozitív, de változatlan IgM reakció, hamis pozitívítás miatt. Aktuális Lb kizárt.

I/3.4.12. COMPASS a magzati fertőzés tisztázására terhességi Lb esetén

30. Esetismertetés

A, 2010.06.23. A várandós anya típusos EM miatt jelentkezett, ekkor volt 10 hetes gravida. Ceftriaxonnal kezeltem.

2011.01.24. A szülés napján vett anyai vérminta. Látható, hogy az anyai vérmintában milyen csekély változás mutatható ki a 7 hónap alatt, de azért látszik a szeroregresszió.

C, 2011.01.24. Az újszülött köldökvérmintája. Az újszülött bandmintázata tökéletesen azonos az anyával, IgM reakciója nincs, így kimondható, hogy csak anyai ellenanyagai vannak, nem fertőződött (I/64. ábra).



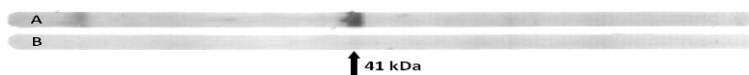
I/64. ábra. COMPASS az anyai és az újszülöttől vett vérmintákon (IgG)

31. Esetismertetés

Kismama a terhesség 32. hetében jelentkezett EM miatt. Ceftriaxont kapott 11 napig (allergiás lett, azért csak eddig).

A, 2011.06.29. Az anya a szülés idején még IgM pozitív, IgG negatív.

B, 2011.06.29. Ellenanyaga az újszülöttnak nincs sem IgG-ben, sem IgM-ben, utalva arra, hogy nem fertőződött. Megjegyzendő, hogy az IgM nem jut át a placentán, így az erőteljes anyai IgM-pozitivitás sem okoz az újszülöttben IgM-reakciót. Amennyiben az újszülött IgM-pozitív lenne, akkor az magzati fertőzést igazolna, de ez nem az az eset (I/64. ábra).



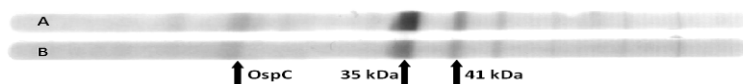
I/65. ábra Az anyai EM gyógyulása után az anyának még erőteljes IgM bandje van, de az újszülöttnak sincsen, igazolva, hogy ő nem fertőződött.

32. Esetismertetés 3

Kismama, a terhessége 24. hetében észlelt EM miatt jelentkezett.

A, 2009.11.18. Ez a 3 hónappal az EM kezelése és gyógyulása után vett vér.

B, 2010.12.15. Újszülött köldökzsinórvére. Bár ő is pozitív, minden bandben tükrözi az anyai mintázatot. Az újszülött tehát nem fertőződött (I/66. ábra).



I/66. ábra. Anyai és újszülött minta COMPASS vizsgálata (IgG)

I/3.5. Megbeszélés

Példákkal illusztráltam egy, bármelyik, WB-tal dolgozó laboratórium számára használható eljárást, ami jelentősen javítja a Lb szerodiagnosztikáját. Az eljárás elvben nagyon egyszerű, két minta párhuzamos vizsgálatát, és ezek összehasonlítását jelenti. A módszernek ezért az összehasonlító (COMparative) immunoblot vizsgálatból (ASSay), képzett mozaikszóval a COMPASS nevet adtam. Azt gondolom, hogy ez a rutin gyakorlatban könnyen alkalmazható eszköz megoldást jelent számos problémára, ami a Lyme diagnosztikában eddig felmerült. Az intervallummal vett két savóminta összevetése alapján kimondható a fertőzés mikrobiológiai gyógyulása, ami nagy megnyugvást jelent a betegeknek, és számos későbbi, felesleges vizsgálatról menti meg nemcsak a páciens, hanem az egészségügyi ellátó rendszert is. Ki tudjuk szűrni azokat, akik mikrobiológiai értelemben nem gyógyultak meg, és újabb kezelésre szorulnak. Meg tudjuk ítélni, hogy a pozitív lelet egy régen lezajlott fertőzés emléke, vagy épp egy fennálló infekcióra utal, ami kezelésre szorul. Ez a kérdés különösen gyakori a kullancscsípésnek gyakorta kitett populációban, mint amilyen az erdészek, vadászok, tájfutók, gombászok köre. Paradox módon pont ezekben az esetekben, ahol a legnagyobb szükség lenne rájuk, a hagyományos eljárásokkal végzett vizsgálatok használhatatlanok. Ugyanis, minél idősebb egy erdész, annál több panasa lesz. Ezzel párhuzamosan, de ettől függetlenül, mivel idősebb korára több kullancscsípés éri, egyre biztosabb, hogy szeropozitívvá válik. Az életkorral előrehaladva a vizsgálat pozitív prediktív értéke ezért a 0-hoz közelít. A legsúlyosabb tévedések pont ezekben a magas kockázatú esetekben fordulnak elő, ahogy ez a bemutatott esetekből is látható.

Számtalan tanulmány jelent már meg, ami a Lb szerodiagnosztikájával, ezen belül több a sikeres terápiát követő szeroregresszióval foglalkozott. Nincs azonban tudomásom a kezelt vagy kezeletlenül maradt Lyme betegek szeroprogresszióját bemutató közleményről. Egyetlen hasonló publikációt találtam, ahol a COMPASS-hoz hasonló felállásban *Toxoplasma gondii* WB vizsgálatokat végeztek immunológiailag károsodott betegeken (Ashburn et al., 1998). Kezeletlenül maradt, spontán gyógyult betegeket vizsgáltak egy másik munkában is, de ott is

csak szeroregressziót detektáltak évekkal a klinikai gyógyulás után, és azt is csak ELISA-val (Szer et al., 1991).

Az ismert kockázatok miatt a Lb diagnózisának megállapítását késlekedés nélkül antibiotikum-kezelésnek kell követnie. Ez a kezelés azonban az ellenanyag-szaporulat kialakulását abortálja. Így aztán ritkán figyelhetünk meg szeroprogressziót. A szeroprogresszió jellemzőinek megfigyelése segíthet a specifikus antitest-válaszok megítélésében is. Az USA-val ellentétben, Európában nincs egyetértés abban, hogy mely antitestválaszok tekinthetők a leginkább specifikusnak (Robertson et al., 2000).

Amennyiben egy kezeletlenül maradt beteg szerológiai progresszióját vizsgáljuk, az újonnan megjelenő antitestek vélhetően specifikusak. Az esetismertetésem némelyikében látszik, hogy egyes, akár a specifikusnak tartott antitestek intenzitása is csökkenhet, miközben másoké fokozódik. Azt gondolom, hogy ez lényeges és új felismerés. A progresszió kimutatása független attól, hogy a vizsgált minta pozitív vagy negatív. Hangsúlyozni kell, hogy a negatív lelet nem zárja ki a Lb-t a fertőzést követő első 2 hónapban, mint ahogy a pozitív eredmény sem jelenti, hogy aktuálisan fennálló fertőzésről lenne szó, hiszen ez utalhat egy korábban – gyakran tünetmentesen – átvészelt fertőzésre. Következésképpen egyetlen minta vizsgálata az esetek nagy részében nem elegendő a definitív diagnózis megállapításához. A savópár vizsgálata során észlelt progresszió nagy biztonsággal támogatja a fertőzés aktuális fennállását, míg a progresszió hiánya a fennálló fertőzés ellen szól.

Az lenne az ideális, ha a klinikailag egyértelmű esetekben szabályos időközökben vizsgálhatnánk a kezeletlenül maradt betegeket. Így nyerhetnénk pontos adatokat, hogy milyen intervallumokkal kell venni a mintákat, hogy a COMPASS prediktív értékei optimálisak legyenek. Láthatnánk így, hogy milyen intenzitáskülönbségek jelzik megbízhatóan a progressziót. Mivel azonban egy ilyen vizsgálat etikai okokból elképzelhetetlen, az egyetlen lehetőség a véletlenül kezeletlenül maradt betegek adatainak gyűjtése. A mostani tanulmány gyenge pontja, hogy csak példák bemutatására szorítkozik, mert az eddig nyert adatok nem látszanak elegendőnek, hogy statisztikai módszerekkel is alátámasszuk a COMPASS használhatóságát. Az a legfőbb probléma, hogy a gyakorlatban nincs gold standard (viszonyítási alap), mert sem a tenyésztés, sem a géntechnológiai eszközök nem alkalmasak a fertőzés fennállásának alátámasztására, mert néhány speciális esetet leszámítva ezen vizsgálatok szenzitivitása nagyon rossz, sőt a PCR esetén – sok közlemény bizonyítja, hogy – a specificitása is lesújtó lehet.

Jelen feldolgozásban több kezeletlenül maradt beteget mutattam be, ahol megfigyelhettük az ellenanyagok szaporulatát, ami a bandek számának és/vagy intenzitásának a növekedését je-

lentette. Egyértelmű, hogy a szerológiai diagnózis sokkal pontosabb, ha két mintát hasonlítunk össze, mintha az eredményeket az amúgy is önkényesen meghúzott határértékhez viszonyítjuk. Feltételezhető, hogy a szerológiai progresszió aktív, jelenleg is fennálló fertőzést bizonyít. Ez alól csak ritkán lehet kivétel, pl., amikor közvetlenül a sikeres kezelés után végzünk vizsgálatot. Ilyenkor a széteső kórokozók indukálnak átmenetileg erősödő immunválaszt (Lakos et al., 1994). Amennyiben az antitestválasz a pozitív tartományban van, de hosszabb idő után sem emelkedik, kimondható, hogy nincs fennálló fertőzés, az eredmény valószínűleg egy korábban lezajlott fertőzés emléke. A COMPASS növeli a szerológiai vizsgálat specificitását, mivel el tudja különíteni a lezajlott, gyógyult fertőzést a most zajlótól. A kétféle lehetőség összekeverése okozza, hogy a PPV rendkívül alacsony értékű a Lb-ban (Lakos et al., 2010). A COMPASS használatával megoldódik az a probléma is, ami a különböző szerológiai eszközök határértékeinek eltérő beállításából adódik.

A COMPASS segítséget nyújthat a klinikusoknak és a mikrobiológusoknak az olyan esetek eldöntésében, ahol a klinikai kép gyanús, de nem egyértelműen utal Lb-ra. Általánosan elfogadott, hogy az EM kórisméjét a klinikai kép alapján kell megállapítani: legalább 5 cm-es, fokozatosan növekvő folt alapján. Morphea, tinea, Schamberg purpura, granuloma annulare, erythema nodosum, allergiás reakció magára a kullancsra és vegyszereire egyes esetekben teljesítheti ezt az eset-meghatározást (ld. az 1. fejezetet). Nem minden klinikus rendelkezik elegendő tapasztalattal ahhoz, hogy ezeket a képeket biztonsággal elkülönítse az EM-től, sőt a tapasztalt klinikus sem tud minden esetben biztonsággal dönteni. A tenyésztés költséges, lassú, a negatív lelet nem zárja ki a fertőzést. Túl ezen, csak felkészült laboratórium végezheti (Magyarországon a Kullancsbetegségek Ambulanciáján kívül sehol sem végeznek Bb tenyésztést), invázív beavatkozást (bőrbiopsziát) igényel. Csaknem ugyanez érvényes a géntechnológiai vizsgálatokra. Így nincs más lehetőség, a szerológia marad az egyetlen eszköz, ami támpontot nyújthat a bizonytalan esetekben. A friss fertőzésekben a szerológia még törvényszerűen negatív. Néhány hetes várakozással vett 2. vérmintával végzett COMPASS még azelőtt bizonyíthatja a szeroprogressziót, mielőtt az antitestválasz elérné a „pozitív” tartományt.

Minden útmutató hangsúlyozza, hogy a Lb a jellegzetes klinikai kép alapján diagnosztizálható, a szerológia önmagában nem alkalmas a diagnózis megállapítására (CDC, 1997, Stanek et al., 2011). Túl ezen, az útmutatók szerint a leggyakoribb klinikai tünet, az EM miatt nem indokolt szerológiai vizsgálatot végezni. A Lyme betegek legalább fele ebbe a csoportba tartozik. Az EM-on kívül csak nagyon kevés olyan beteg van, akinél a Bb antitest-meghatározás

pozitív eredményének a várható pozitivitása (pretest probability) van olyan magas, ami az útmutatók ajánlásait megfogadva indokolná a vizsgálat elvégzését. A lymphocytás meningoradiculitis (LMR – Bannwarth-szindróma) magas liquorfehérjével, pleocytosissal és – különösen az idült folyamatoknál – alacsony liquorcukorszinttel (Lakos, 1992), vagy arcidegbénulás, ami három héten belül kétoldalivá válik, vagy fül mögötti kullancscsípés előzte meg, nagyon gyanús Bb fertőzésre (Lakos, 1991). Hasonlóan nagy a valószínűsége, hogy a hullámzó, csekély fájdalommal, de jelentős duzzanattal járó térdízületi duzzanatot is Bb fertőzés okozza (Lakos, 1991; Gerster et al., 1981; Shapiro et al., 2000). Ezek az esetek, akiknél a klinikai kép alapján várható, hogy pozitív lesz a Lyme szerológiai eredmény, eltörpülnek azok száma mellett, akik esetében a Lb gyanúja felmerül. Oligoarthritis számos betegség okozhat és az arcidegbénulás etiológiája is szerteágazó. A legtöbb LMR esetben a tarkókööttség minimális (Lakos, 1991; Ryberg, 1984; Sindic et al., 1987); emiatt a liquorvizsgálat rendszerint elmarad. Túl ezen, a legtöbb LMR beteg kap antibiotikumot mielőtt a Lb lehetősége egyáltalán felmerülne, így az antitestválasz is késik. Idült *Borrelia meningitidis* az utóbbi évtizedben alig látunk. A szakmai útmutatókkal mit sem törődve, a legtöbb Lyme szerológiai vizsgálatot olyan betegeknél végzik, akiknél a pozitív lelet várható valószínűsége roppant alacsony (Coumou et al., 2011; Lakos et al., 2010).

Az alapvető probléma tehát, hogy ahol a pozitív lelet várható valószínűsége nagy (pl. EM), ott a klinikai kép alapján megállapított diagnózis szenzitivitása sokkal jobb, mint a szerológia, emiatt a szerológiai vizsgálat indokolatlan. Fordítva, ahol a pozitív lelet várható valószínűsége kicsi (általános panaszok, fáradékonyság, fejfájás, mozgásszervi panaszok, polyneuropathia) ott a szerológia azért nem javasolt, mert a PPV rendkívül alacsony (Lakos et al., 2010, Lakos & Igari, 2011). Ha követnénk a szabályokat, alig van olyan eset, amikor a vizsgálat indokolt lenne. Akkor miért végeznek olyan sok Lyme szerológiai vizsgálatot? Egy Egyesült Államokbeli, az egész országra kiterjedő prevalencia tanulmány során azt találták, hogy a felnőtt lakosság felének van valamilyen mozgásszervi panasza (Lawrence et al., 2008). Ez azt jelenti, hogy életünk során, a Bb antitestvizsgálat legalább egyszer mindannyiunk esetében indokolt lehet! Túl ezen, beteg és orvosa egyaránt szeretné, ha a gyógyíthatatlan vagy ismeretlen eredetű betegség (pl. sclerosis multiplex, rheumatoid arthritis) diagnózisát egy ismert etiológiájú, jól gyógyíthatóra (Lb) cserélhetné. Emiatt a klinikusokra hatalmas nyomás nehezedik, hogy a súlyos vagy tisztázatlan eredetű betegségek, panaszok miatt végezzenek Lyme szerológiát. Ez a nyomás okozza a Bb szerológiai tesztek hihetetlen nagyszámban történő felhasználását. Egyedül a Mayo Klinikán évente több mint 75000 tesztet végeznek (Binnicker et al., 2008)! Minél több vizsgálatot végeznek, annál több hamis pozitív eredmény

születik. Amennyiben a klinikai jelek nem típusosok Lb-ra, nem szabadna a pozitív Lyme leletet a betegség fennállásának bizonyítékaként értékelni, és nem szabadna emiatt antibiotikumokat rendelni. Ehelyett egy második vérvétellel az összehasonlító vizsgálat során már nem a pozitivitás / negativitás, hanem a tendencia, tehát a progresszió / regresszió a vizsgálat tárgya. Ennek értékelése már egyértelmű támpontot fog adni, hogy indokolt-e a kezelés vagy sem. A COMPASS alkalmazása ezekben az esetekben, tehát amikor a klinikai kép nem egyértelmű, a hamis pozitív diagnózisok száma jelentősen csökkenne, akár csak az indokolatlan antibiotikum-fogyasztás.

Csak a WB alkalmas az összehasonlító vizsgálatok céljára, mert az esetleg csak 1-2 antitestben mutakozó progressziót elfedheti más antitestek csökkenése. Az ELISA ugyanis az összes immunválaszt méri, emiatt csak nagyon jelentős változás értékelhető ezzel a módszerrel. A párhuzamosan végzett vizsgálat szintén fontos, mert az elkerülhetetlen laboratóriumon belüli ingadozás felülmúlhatja azt a változást, amit a páciensben meg kellene figyelnünk.

A 17 éve elkezdett, és az azóta végzett kb. 100000 Bb WB (köztük 10000 COMPASS) vizsgálattal nyert tapasztalataim „mellékterméke” az a néhány megfigyelés, miszerint a Lyme arthritis és az ACA csak extrém pozitív IgG lelettel támasztható alá. A multiplex EM is törvényszerűen intenzív szerológiai reakcióval jár, többnyire IgM-ben. Ezeknél is fontosabb, hogy a régen lezajlott és gyógyult fertőzésre a sok, de „kopott” band jellemző. Ez a kép, noha a szerológiai lelet pozitív, egyértelműen jelzi, hogy nincs teendő. Tudomásom szerint ez is új felismerés, az előbbieken mindegyikre mutattam példákat. A multiplex EM és az ACA ritka betegség ahhoz, hogy egy prospektív, Bb izolálással alátámasztott tanulmányban igazolhatnám az állításom helyességét. Még nehezebb a helyzet Lyme arthritis esetén, ahol még a tenyésztés is reménytelen. Ugyanígy az idült fertőzésekben sincs mód a diagnózisok tenyésztéssel történő alátámasztására. Tehát a „kopott” bandekre vonatkozó állításomat sem tudom minden kétséget kizáróan bebizonyítani. Bár 17 éve végzünk COMPASS-t, maradt még tisztázni való bőven. A vizsgálati minták intervallumainak optimális megválasztását csak empirikus úton lehet megbecsülni. Annak megválasztására, hogy mely bandek progressziója fontos és melyeké nem, 3 éve fogtunk közös munkába a Mayo Klinika (Rochester) mikrobiológusai-val, ahol az AIR segítségével számszerű értékeket, így statisztikai feldolgozásra alkalmas adatokat nyertünk. A statisztika azonban nehezebb feladatnak bizonyult, mint gondoltam, de lassan elkészülünk azzal is.

I/3.6. Összefoglalás és ajánlások

A COMPASS megoldást jelenthet mindarra a problémára, amit a Lb területén dolgozó szakértők 30 éve nem tudnak megoldani:

a/ Segítheti a klinikust azokban az EM-ra gyanús esetekben, amikor a klinikai kép bizonytalan. Az első megjelenéskor vért veszünk, és amennyiben a folt nem fejlődik típusossá, antibiotikum-kezelés helyett 1 hónap múlva végezzük el a COMPASS-t. A szerológiai progresszió hiánya, vagy kimutatása definitív döntést hoz.

b/ Alkalmas a mikrobiológiai gyógyulás bizonyítására.

c/ Amennyiben az első minta pozitív, de a klinikum nem felel meg Lb-nak, a COMPASS egyértelmű döntést hoz, valóban aktuális Bb fertőzésről van-e szó.

d/ Alkalmas az intrathecalis *Borrelia* antitesttermelés kimutatására. Ebben az esetben a COMPASS-hoz azonos napon vett szérum és liquor párhuzamos vizsgálatára van szükség (Lakos et al., 2005).

e/ A Bb fertőzésnek fokozottan kitett csoportok (erdészeti dolgozók, vadászok, tájfutók, méhészek, gombagyűjtők) esetében igen gyakori a pozitív lelet, miközben a Lb-ra utaló klinikai tünetek viszonylag ritkák (Lakos, 1996a; Lakos et al., 2011). Ilyenkor ez az egyetlen eszközünk a régen átvészelt, gyógyult és a jelenleg is fennálló fertőzés elkülönítésére.

f/ Alkalmas a perzisztáló, vagy ismételt fertőzések kizárására / igazolására.

g/ Valószínűleg alkalmas lenne az egyes antibiotikum-kezelési menetrendek összevetésére egy olyan kórkép esetén is (pl. EM), ahol a spontán gyógyulás gyakori.

h/ Terhességi Lb esetén a materno-foetalis Bb átvitel kimutatására is alkalmas lehet.

i/ Nagy valószínűséggel egyéb olyan fertőzések tisztázására is használható lenne, ahol a fennálló (aktív) vagy korábban átvészelt (inaktív) fertőzések között nehéz szerológiailag különbséget tenni (pl. *Toxoplasma gondii*, *Chlamydophila pneumoniae* stb. – Lakos et al., 2012).

I/4. Automata immunoblot reader (AIR)

I/4.1. Bevezetés

Az ELISA a WB-tal ellentétben könnyen betanítható, automatizálható, standardizálható, objektív, számszerű eredményt ad ki, viszont nem képes elkülöníteni a specifikus immunválaszt az aspecifikustól. Az volt a célom, hogy egy olyan eljárást fejlesszek ki, amely képes a két eljárás előnyeit egyesíteni. Munkatársaim segítségével ezért fejlesztettem ki az AIR-t.

I/4.2. Anyag és módszer

A WB fejezetben leírt blottokat használtam a feladat kiinduló pontjaként (44. oldal, I/27. ábra). Olyan blottokat válogattam össze, ahol a gyakorlatban előforduló valamennyi technikai hiba előfordult. Például, ha buborék kerül a blottolás során a rétegek közé, akkor a bandek a buborékhoz közeli széle sötétebb, másutt világosabb lesz. Az ELFO során is torzulhatnak a bandek, a széli részeken a futás törvényszerűen lassabb (az ELFO „mosolyog”), és a futtatás néha hosszabbra, máskor rövidebbre sikerül. A bandek előhívása is változó, de attól még a halványabb és a sötétebb blottok is értékelhetőek, szemünk könnyedén elvégzi a korrekciót, de a számítógépet ezekre meg kell tanítani.

A blottokat egy átlátszó fóliával papírlapra ragasztottam, így egyrészt megvédtem a porosodástól, másrészt erőteljesebbé tettem, hogy alkalmassá tegyem a szkenneléshez. Kifejlesztettem egy digitalizáló berendezést, ami egy szenzor révén automatikusan húzza be a papírlapot, megtalálja a vizsgálatra szánt mintát, és külön beavatkozások nélkül automatikusan végzi el a digitalizálását (I/67. ábra). A korábban alkalmazott torma-peroxidáz helyett alkalikus foszfatázzal conjugált anti-human immunglobulin használatára tértem át, mert ennek a szubsztrátja a BCIP/NBT, ami jóval stabilabb színreakciót adott, mint a korábban használt diamino-benzidin-tetrahidroklorid (DAB), ennek megfelelően a mérések ismétlése, az eredmények reprodukálhatóságának a vizsgálata megoldhatóvá vált. A digitalizálást követő feldolgozást több, szabadon hozzáférhető számítógépes program egymásra építésével oldottuk meg. Ezt a feladatot Radványi András, később Deák L. Csaba végezte. Ezeket a programokat, megoldásokat itt nem részletezem.

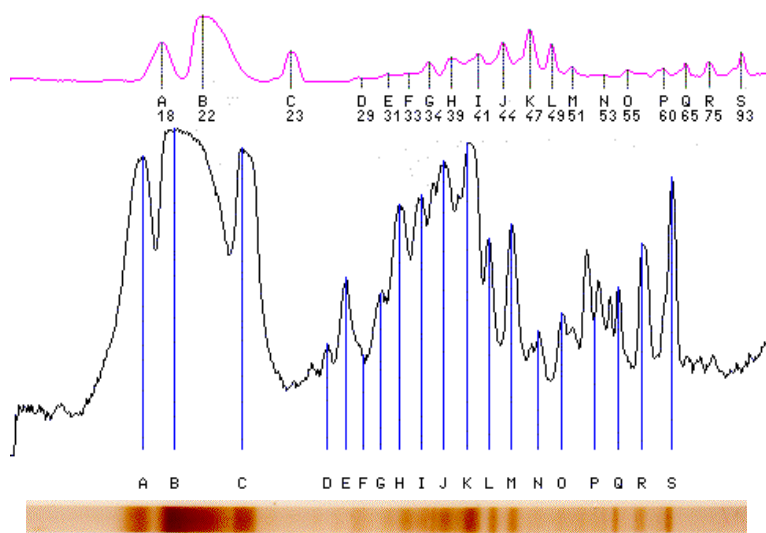


I/67. ábra. A szkennert úgy alakítottuk ki, hogy egyszerre csak egyetlen, 26 mintát hordozó blot képét dolgozza fel.

I/4.3. Az AIR működése

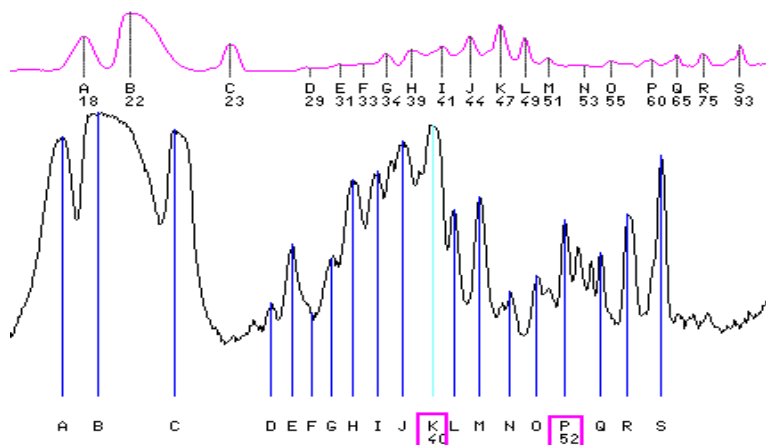
A berendezés leírásához részletes dokumentáció és használati utasítás tartozik. Ehelyütt csak az AIR működési alapelvét, a legfontosabb megoldásokat összegzem. Az I/68. ábra felső részén az etalon (standard kontroll), látható, ami egy korábban digitalizált kontrollminta képéből derivált denzitási görbe. Az antitestválaszok “A” - “S” alatt a számok az egyes Borrelia antigének molekulásúlyát jelentik kDa-ban. A 13. pozícióban beállított referencia (aktuális, tehát a most digitalizált blottlemez kontrollja) némileg eltérő képéhez a gép automatikusan illeszti a megfelelő molekulásúlyokat.

dc_164_11



I/68. ábra. A kép felső részén a standard kontroll (etalon) látható, ami a pozitív kontrollminta egy korábbi szkennelés eredményeképpen született digitalizált képe. Ezt használjuk valamennyi későbbi blotlemez elemzéséhez, ehhez viszonyítjuk az aktuális pozitív kontrollt (referenciát), ami ugyanannak a savómintának egy újabb vizsgálata. Ez törvényszerűen eltér valamennyire az etalontól. Itt látható, hogy a futási hosszúságban van különbség, a referenciában az A és az S bandek között nagyobb a távolság, mint az etalonban. A gép automatikusan megtalálja az etalon alapján a némileg eltérő referencia megfelelő molekulásúlyú bandjeit. Az ábra felső részén a betűjelek alatt látható számok mutatják az adott bandek molekulásúlyát kDa-ban. A legalsó sorban az aktuális referencia eredeti képe látható.

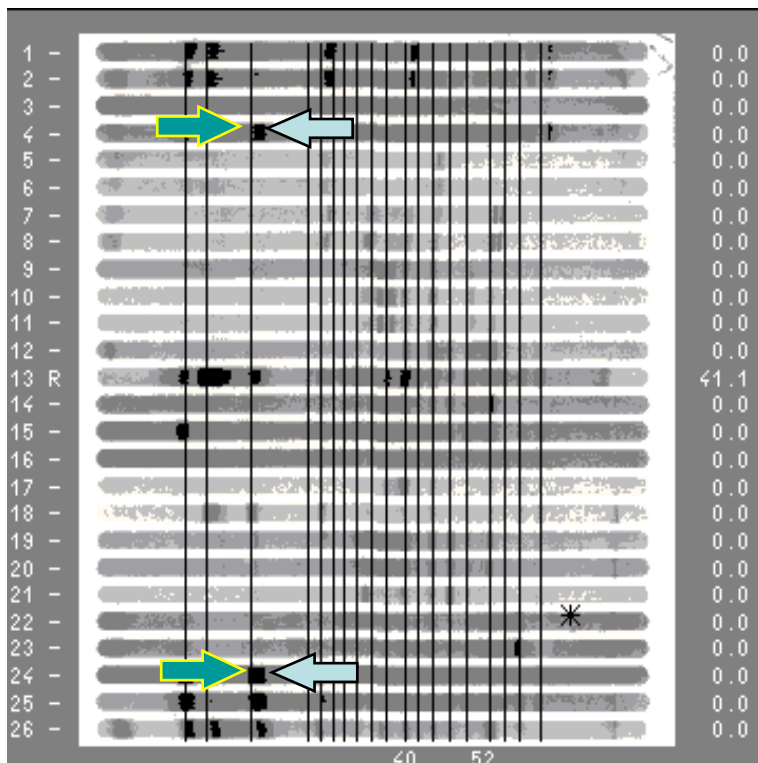
Amennyiben az etalon digitalizált képéből derivált denzitási görbe alapján a referencián meghatározott molekulásúlyokban tévedést tapasztalunk, mód van kézi korrekcióra is. Pontosíthatjuk az egyes denzitás-maximumok helyét és beállíthatjuk a molekulásúlyokat is, amit egyébként a gép folyamatos integrálszámításokkal automatikusan is megad (I/69. ábra). A program automatikusan levonja a háttérzajt. Így különböző erősségű festődés esetén is azonos eredményeket kapunk.



I/69. ábra. Hibásan értékelt referencia. A K és a P pozícióban talált band molekulásúlya eltér az etalonétól, kézi korrekcióra van szükség.

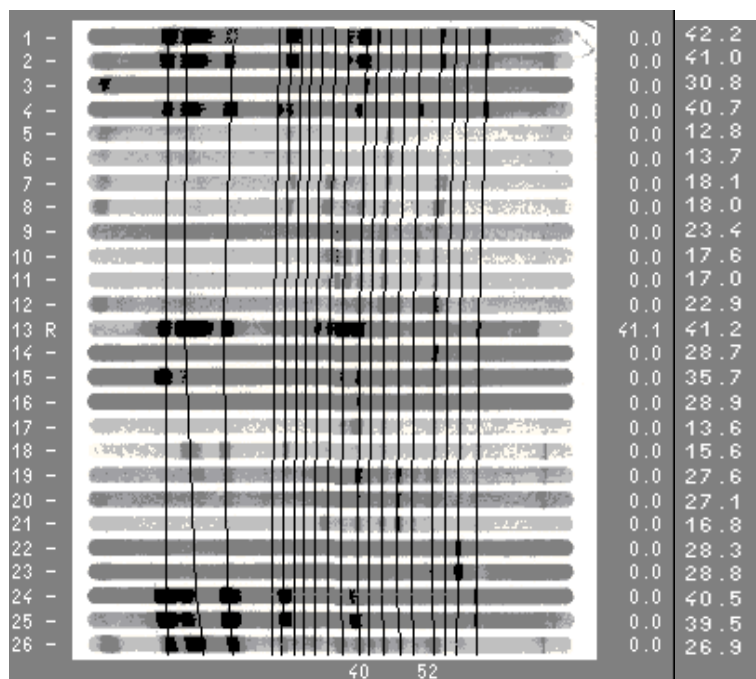
dc_164_11

Első lépésben a gép a referencia ("R"=13-as pozíció) alapján megítélt molekulasúlyokkal (band) párhuzamos vonalak mentén keresi a vizsgálati mintákban (1-12 illetve 14-26) a megfelelő bandeket. Az ELFO során azonban a bandek kisebb-nagyobb mértékben elcsúszhatnak. A gép automatikusan helyreigazítja az eltéréseket. A felhasználó több különböző nézetben is korrigálhatja a gép által felajánlott „szintvonalakat”.



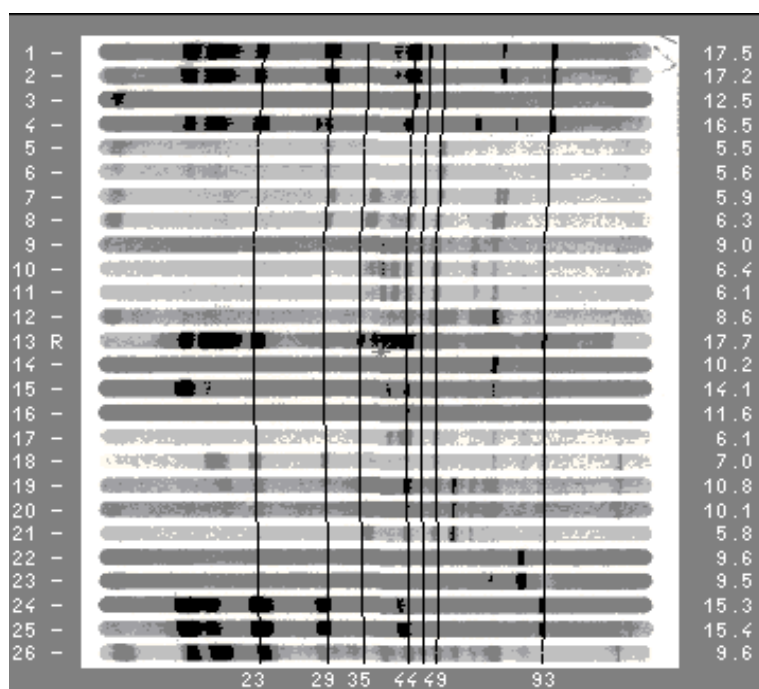
I/70. ábra. A nyilakkal jelölt területeken a program először nem találja meg a bandeket. Ezután a gép automatikusan korrigál, ennek megfelelően (a beállítástól függően) az összes többi szintvonal is elmozdul, arányosan követve az ELFO torzulásait. Adott esetben az egérrel is végezhetünk korrekciót, akár pontonként, akár szintvonalanként.

A megtalált bandek denzitását megmérve és összegezve a kép jobb oldalán számszerű értékeket kapunk (I/71. ábra). Ez az érték hasonlít az ELISA-val kapott értékekhez, hiszen a specifikus és az aspecifikus reakciókat együtt mérjük. Már itt is megmutatkozik azonban a háttérzaj kikapcsolásának az előnye.



I/71. ábra. Az előző kép a korrekció után. Most már a szintvonalak a megfelelő bandeken húzódnak át, ezeken a pontokon végezzük el a mérést, aminek a számszerű értékei a kép jobb oldalán láthatók.

Az I/2. fejezetben leírtam, hogyan választottam ki a legspecifikusabb antitesteket (I/31. ábra, 49. oldal). A továbbiakban csak ezek denzitását vizsgálom, emiatt a rendszer specifitása tovább növekszik (I/72. ábra).



I/72. ábra. Csak a specifikus bandeken áthaladó szintvonalak metszéspontjaiban mérünk. Ezek összege látható a kép jobb oldalán.

I/4.4. Megbeszélés

Az AIR lényege, hogy képalkotó számítógépes programmal megkeressük a WB vizsgálatok során keletkező bandeket, meghatározzuk, hogy melyik band, milyen molekulasúlynak felel meg, és megmérjük a bandek intenzitását. Ezt az eszközt akkor találtam ki, amikor hasonlóról a Lyme diagnosztikában – úgy tudom, hogy – addig még nem jelent meg közlemény. Az AIR segíthet az eljárás standardizálásában, hiszen kikapcsolja a vizsgáló szubjektivitását, ami a WB leolvasásánál egyébként elkerülhetetlen. Módot ad, hogy leleteinkben számszerű értékeket adjunk meg, ami az egyes eredmények összehasonlítását lehetővé teszi. Így a Lyme diagnosztikában kevésbé járatos kollégák számára is értelmezhetővé teszi az eredményeket. Mind a mai napig az ajánlásokban csak a bandek számával kalkulálnak, és figyelmen kívül hagyják azok intenzitását. Ez azt jelenti, hogy a vizsgálat egyik fontos eredményét negligálják. Ez a súlyos hiba vezetett a kétlépcsős protokoll kifejlesztéséhez. A kétlépcsős protokollban egy ELISA-val végeznek szűrővizsgálatot, és csak azokat a mintákat vizsgálják tovább WB-tal, amelyek legalább határértékű eredményt adtak. Bár a kétlépcsős protokoll általánosan elfogadott, maga az eljárás csak akkor segítene a vizsgálatok minőségének a javításában, és általában a vizsgálatok standardizálásában, amennyiben pontosan megadnák, hogy milyen szenzitivitási / specificitási paramétereket kell teljesítenie az ELISA-nak, illetve a WB-nak. Ilyen ajánlásokról azonban nem tudok. A kétlépcsős protokollt azért találták ki, hogy ne fordulhasson elő, hogy a járatlan leolvasó az egészen halvány bandeket is „pozitívként” értékeli. Tehát az ELISA feladata az lenne, hogy legalább a legnegatívabb mintákat kiszűrje, azokat ne lehessen pozitívként értékelni a WB-tal. Könnyű belátni, hogy attól még a szuper szenzitív (hiszen az is cél, hogy egyetlen fertőzött se hulljon ki a rostán) ELISA-val kiszűrt minták jelentős része hamis pozitív, így a szubjektív hiba, tehát hogy halvány bandeket is pozitívnak értékel a leolvasó, bár némileg kedvezőbb arányban, de még fennáll. Az előszűrés csökkenti ugyan a hamis pozitív arányát a szűrővizsgálat specificitásának a függvényében, de ahogy korábban láttuk, néhány százalékos hamis pozitívítás már csaknem használhatatlanná teszi a Lb-ban a szerodiagnosztikát (lásd 31-33. oldal, I/24. ábra). A feladat tehát az lenne, hogy a negatív minták kiszűrését a WB vizsgálaton belül, egy lépésben oldjuk meg, tegyük objektívvá a leolvasást. Ezért fejlesztettük ki az AIR-t.

Az AIR – előre programozhatóan – csak egy bizonyos intenzitású bandet értékel, képes elkülönítve számolni a kevésbé és a nagyon specifikus bandek intenzitásával, sőt akár minden bandhez külön súlyszámokat is rendelhet. A korábban leírtaknak megfelelően (lásd 50-51. oldal), mivel az egyes kórformák némileg eltérő immunológiai képet adnak, még akár szakér-

tői rendszerként is funkcionálhat, hiszen 87% találati biztonsággal konkrét diagnózist is javasolhat. (A 13% “hiba” abból adódik, hogy a fertőzés első heteiben még nem mutatható ki immunválasz.) Tudomásom szerint a munkatársaim segítségével a világon először fejlesztettünk ki automatikus immunoblot elemző rendszert, mely nemcsak a Lb, hanem más, összetett fehérjestruktúrával rendelkező mikrobák okozta infekciók vizsgálatában, tehát különösen a bakteriális szerodiagnosztikában lehet használható. Segítségével lehetővé válik a teljes WB vizsgálat automatizálása. Egy ELISA readerhez képest a szükséges beruházás költsége elhanyagolható, a vizsgálat specificitása jelentősen növelhető.

I/4.5. Összefoglalás

Az AIR egyesíti az ELISA és a WB előnyeit. A WB-tal szemben az ELISA automatikus, standardizálható és objektív, a WB viszont csak a specifikus antigénnel szembeni antitestválaszokat veszi figyelembe. A Lb diagnosztizálásában a nagyszámú aspecifikus, keresztreakciót adó antigén miatt a specifikus antitestválasz kimutatására a WB előnyösebb, mint az ELISA. A WB leolvasása azonban szubjektív, és ez lehetetlenné teszi az eljárás standardizálását. Az ELISA mennyiséget mér, míg az érvényben lévő ajánlások szerint a WB csak a bandek számát vizsgálja, de a bandek intenzitását nem.

Az AIR-rel a WB során keletkezett képet digitalizáljuk, meghatározzuk a standard kontroll (etalon) fehérjéit. Minden 26 vizsgálat három IgG pozitív kontrollt tartalmaz, ebből az egyik a referencia. A számítógépes program morfológiai alapon felismeri a referencián az etalonnak megfelelő molekulaszúlyú *Borrelia*-fehérjéket, elkülöníti a specifikus antitesteket, majd automatikusan megkeresi a tesztsavók megfelelő antitestjeit, megméri azok az etalonhoz viszonyított intenzitását, levonja a háttérzajt, és számszerű eredményt ad. Ennek megfelelően objektív, standardizálható. Az AIR további nagy előnye, hogy általa az előző fejezetben ismertetett COMPASS standardizálható, az eredményei statisztikailag feldolgozhatók. Ez a feldolgozás jelenleg is folyik.

I/5. A terhességi Lyme borreliosis

I/5.1. Bevezető

A Lb kórokozójának felfedezése után többen feltételezték, hogy mivel a Bb közeli rokonságban van a Treponémákkal, vélhetően a Lb-ban is előfordulhatnak súlyos magzati károsodások, akárcsak a syphilisben. Többek között halvaszülést és újszülöttkori halálhoz vezető szív- fejlődési rendellenességeket írtak le (MacDonald, 1986; Maraspin et al., 1999; Markowitz et al., 1986; Schlesinger et al., 1985). Néhány kivétellel (Mikkelsen et al., 1987; Schutzer et al., 1991), a kórokozó felfedezését követően megjelenő első közlemények mind súlyos rendellenességekről számoltak be. Később azonban az egész populációt vizsgáló, nagy keresztmetszeti és prevalencia tanulmányok alig találtak néhány anyai vagy újszülöttkori Lb esetet, így ugyan statisztikailag irrelevánsak, mégis azt sugallták, hogy a Lb nem okoz magzati károsodást (Gerber et al., 1994; Nadal et al., 1989; Strobino et al., 1993 és 1999; Williams et al., 1995).

Az epidemiológiai megközelítések buktatója, hogy általában a terhességi Lb, de különösen a kezeletlenül maradt, de később mégis diagnosztizált kismamák prevalenciája nagyon alacsony (Elliott et al., 2001). Így annak az alapvető kérdésnek a megválaszolása, hogy a Lb-nak van-e magzatkárosító hatása eddig érdemben nem sikerült. Az eddig közölt legnagyobb tanulmányban szereplő csaknem valamennyi beteg ceftriaxont kapott (Maraspin et al., 1999), így ennek alapján sem lehet megítélni az egyéb antibiotikumok esetlegesen eltérő hatását, és azt sem, hogy van-e a kezeletlen Lb-nak kedvezőtlen hatása a terhesség kimenetelére. Először 1995-ben egy poszteren (Lakos, 1995) mutattam be 34 terhességi Lb elemzésével, hogy a kezeletlenül maradt kismamák magzatai a kezeltkéhez képes nagyobb valószínűséggel károsodnak. Az elemszám kicsi volt, és emiatt a statisztikai összefüggések gyengék voltak. Ezt követően 95 anyai Lb vizsgálata alapján már meggyőző adatokat szolgáltattam a korábbi megfigyeléseimről, melyeket a nagyobb anyagon végzett elemzések megerősítettek (Lakos és Solymosi 2010). Az elmúlt 25 év alatt közel 9000 EM-os beteget diagnosztizáltam, és 2010 tavaszára a Kullancsbetegségek Ambulanciáján vizsgált terhességi Lb esetek száma elérte a 126-ot, és ezzel tudomásom szerint ez az adatbázis jelenleg a legnagyobb, amiről eddig statisztikai elemzés jelent meg (Lakos és Solymosi, 2010).

A Lyme Ambulanciát 1986-ban nyitottam meg, 1994-től magánpraxis keretében folytattam a munkát, akkor már a Kullancsbetegségek Ambulanciája elnevezéssel. A rendelkezésre álló

adatok alapján valószínűleg ez a világon az egyik legnagyobb, egységes adatbázissal rendelkező ilyen intézmény. Ennek köszönhető, hogy mostanra olyan nagyszámú, és a kezelést tekintve heterogén terhességi Lb eset gyűlt össze, ami alkalmasnak látszik arra, hogy a Bb fertőzés terhességi kockázatait és az antibiotikum-kezelés hatékonyságát felmérjem.

I/5.2. Betegek és módszerek

I/5.2.1. Betegek

Két páciens nem jelent meg az ellenőrző vizsgálaton, így az eredetileg regisztrált 126 terhes nőből 124 volt alkalmas a feldolgozásra. Valamennyi páciens személyesen vizsgáltam. Az alábbi beválasztási kritériumokat állítottam fel:

1. Az EM jelenléte. Elfogadtam a CDC (CDC, 1991) és az EUCALB (Stanek, 1996) meghatározását.
2. Olyan betegek is szerepelnek a feldolgozásban, akik már a szülés után jöttek, de fertőzésük a terhesség előtt vagy az alatt kezdődött (N=23). Sokuknál már nem álltak fenn a gyulladásra utaló jelek (N=15). Ezen esetekben a beválasztás feltétele más intézetben készült, hitelesnek látszó orvosi dokumentáció vagy a behozott fényképfelvétel volt.
3. Voltak betegek, akiknél klinikailag egyértelműen fennállt az ACA, és az még egyértelmű gyulladásos jeleket mutatott, pedig az első tünetek a terhességet megelőzően jelentkeztek (N=3).
4. Beválasztottam olyan betegeket is, akiknél arcidegbénulás lépett fel a terhességük alatt, és azt EM előzte meg, vagy intrathecalis *Borrelia* antitest-szintézis kimutatásával (Lakos et al., 2005) tudtam igazolni a Lb fennállását (N=4).

Amennyiben a páciensnek kétszer is volt klinikailag igazolt Lb-a, és mindkettő egybeesett a terhességgel, csak az első terhesség adatait vettem figyelembe. Amennyiben a betegem a Lb késői tüneteit mutatta (ACA), valamint a klinikai tünetek és az előzményi adatok alapján a fertőzés fennállása igazolható volt, és ezalatt több terhessége is volt, csak az első terhességet vettem figyelembe. Ikerterhesség esetén is csak egyszeri terhességgel számoltam. Szerencsére a fenti esetekben, tehát ahol egyetlen páciensnek több érintett magzata volt, valamennyi terhesség szövődménymentesen zajlott, így ez nem okozott a feldolgozásban metodikai problémát.

Az újszülöttek nagy részét magam vizsgáltam, de ha erre nem volt lehetőség, elfogadtam a kórházi zárójelentést vagy a házi gyermekorvos leírását.

Vizsgáltam, hogy a fertőzés fennállásának tartama befolyásolja-e a terhesség kimenetelét. A fertőzés kezdetét az első klinikai tünettől, a végpontját pedig vagy a terhesség végétől, vagy – amennyiben ez előbb következett be –, az antibiotikum-kezelés kezdetétől számítottam.

I/5.2.2. Kezelés

Néhány kismama kezeletlenül maradt (N=12). Az első, a Lb terhességi szövődményeivel foglalkozó közlemények alapján (pl. Stiernestedt, 1990) a terhesek parenterális kezelését tartottam célszerűnek. Kezdetben i.v. penicillint (2x10 MU), később, az utóbbi 19 évben i.v. ceftriaxont (1x2 g) alkalmaztam. Mindkét antibiotikumot 15 napig adtam. Per os antibiotikumot 25 terhes kapott. Amennyiben az EM még jól látható volt, mire az antibiotikum-kezelést befejezte, akkor másik készítményt rendeltem. Mivel néhány beteg több antibiotikumot is kapott, amennyiben ezek között parenterális kezelés is szerepelt, akkor a statisztikai feldolgozás során a parenterális csoportba került.

I/5.2.3. Szerológia

Minden anyát és csaknem valamennyi újszülöttet szerológiailag megvizsgáltam. A módszer részletes leírását korábban (I/2. fejezet) ismertettem.

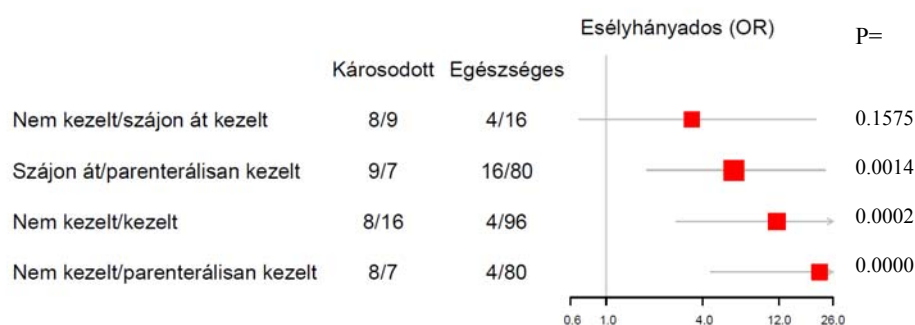
I/5.2.4. Statisztika

R statisztikai programot alkalmaztunk (R Development Core Team, 2007). Az egyes csoportok összehasonlításakor Fisher egzakt tesztet használtunk. A terhesség kimenetelét a kezelési csoportok viszonyát logisztikus regresszióval elemeztük. Kétoldalas p értékeket számoltunk. A számításokat Solymosi Norbert végezte.

I/5.3. Eredmények

A legtöbb asszony a Lb típusos tünetével (EM) jelentkezett. ACA-a volt 3-nak, 4-nek arcideg-bénulása, közülük 3-nak az előzményben EM-a volt, egyben pedig intrathecalis *Borrelia* anti-test-termelés alapján igazoltuk a Lb fennállását.

Parenterális kezelésben részesült 87 (70%), szájon át kapott antibiotikumot 25 (20%) kismama. Kezeletlenül maradt 12 (10%) nő. Az antibiotikummal kezeltékhez képest a kezeletlenül maradt terhesekben a terhességi szövődmények sokkal gyakrabban fordultak elő. A parenterális kezeléshez viszonyítva az orális kezelés is nagyobb kockázattal járt. A szövődmények vonatkozásában a legnagyobb különbség a kezeletlenül maradt és a parenterálisan kezelt között mutatkozott (I/67. ábra).



I/73. ábra. A terhességi szövődmények kockázata az egyes kezelési csoportok között Lb-ban. A vörös négyzetek horizontális pozíciója mutatja az esélyhányadost, területe arányos a becslés pontosságával. A vízszintes szürke vonalak mutatják a 95%-os Cornfield-féle fiducia intervallumokat. A függőleges vonalat az OR=1 értéknél húztuk meg (ez jelzi a véletlenszerű eloszlást). Amennyiben a fiducia intervallum magában foglalja ezt az értéket, (a vízszintes vonal áthalad rajta), akkor a csoportok közötti eltérés nem szignifikáns az általánosan használt ($p < 0.05$) szinten. Figyeljük meg, hogy a szájon át kezelt esetében a szövődmények valószínűsége alig volt kisebb, mint a kezeletlenül maradtak körében.

A kezeletlenül hagyott betegeknek jóval nagyobb esélye van magzati károsodásra, mint a kezeltnek. Az orálisan kezeltnek kevésbé nagy az esélye a magzati károsodásra, mint a kezeletleneknek, de ez a különbség statisztikailag nem szignifikáns. Úgyis fogalmazhatnánk, hogy a per os kezelt alig járnak jobban, mint a kezeletlenül maradtak. A kezeletlen kismamák többsége nem gondolta, hogy a bőrén látható elváltozásnak van egészségügyi kockázata, emiatt nem ment orvoshoz. Más esetekben a családorvosé és a nőgyógyászé a felelősség, hogy nem ismerték fel a betegséget. A 12 kezeletlenül maradt kismamából mindössze négynek a terhessége végződött szövődmény nélkül. Közülük 3-nak ACA-a volt, a fertőzésük évekkal a fogantatás előtt kezdődött és hosszú éveken át, így a terhességük teljes időszaka

alatt is kezeletlenül maradt. A bőrelváltozásuk a szülés után is még egyértelmű gyulladáso jeleket mutatott, jelezve, hogy a fertőzés még a vizsgálat idején is fennállott.

A 124 terhességből 24 (19%) volt szövődményes, összesen 31 komplikációt regisztráltam (egy újszülöttnél többféle rendellenessége is lehetett). A terhesség elvesztése (N=9), és az intrauterin atrophia vagy a koraszülés (N=7) voltak a leggyakoribb komplikációk. Az egyéb szövődmények heterogének voltak. A cavernosus haemangioma gyakorisága nagyobb volt a mi anyagunkban annál, mint ami az átlagos hazai elfordulás alapján várható lett volna (KSH - 1996-2006, 2007; Veleszületett Rendellenességek Országos Nyilvántartása, 2010). Dysplasia coxae ugyancsak gyakoribb volt az újszülöttek között a magyarországi átlagnál. A többi komplikáció vagy nem különbözött az átlagtól vagy nem állt rendelkezésemre megfelelő országos adat, vagy a kis esetszám miatt statisztikai elemzésre nem volt lehetőségem (I/2. táblázat).

Szövődményes terhesség	Esetszám és gyakoriság (%)	A fertőzés kezdete - terhességi hét (átlag)	Átlagos magyarországi incidencia - %
Spontán abortusz	8 6.4	1-5 (2)	14.8*
Halvaszülés	1 0.8	5	0.51*
Koraszülött	3 2.4	17-28 (21)	8.2-9.8**
Intrauterin atrophia	4 3.2	13-37 (26)	NA
Haemangioma	3 2.4	13-27 (21)	0.11**
Exchange transfúziót igénylő neonatalis icterus	2 1.6	13-38 (25)	NA
Dysplasia coxae	2 1.6	A fogamzás előtt; 18	0.21**
Pylorus stenosis	2 1.6	A fogamzás előtt; 14	0.02**
Papulovesicularis kiütés a születés után	1 0.8	38	NA
Agyvérzés	1 0.8	4	NA
Izom hypotonia	1 0.8	4	NA
Hypospadiasis	1 0.8	27	0.21**
Csontfejlődési rendellenesség	1 0.8	13	NA
Ectopiás vese	1 0.8	24	0.09-0.12***

NA= nincs adat

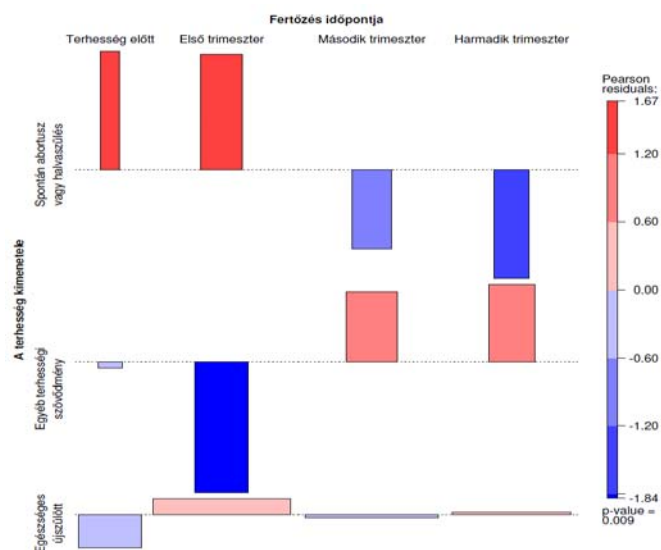
I/2. táblázat. A terhességi komplikációk száma és azok hazai átlagpopulációban észlelt incidenciája. Feltüntetettük a fertőzés a terhesség kezdetéhez viszonyított időpontját is. Néhány gyermek többszörös anomáliával született. * Az adatok 1996-2006 közötti időből származnak (KSH, 2007). ** Az adatok 1986-2006 közötti időből származnak (VRONY, 2010).

A terhesség 56. napján halvaszüléssel végződött eset diagnózisát még a terhesség első hónapjában megállapítottam, de a beteg, félve a kezelés mellékhatásaitól, visszautasította azt. Négy nappal a halvaszülés után jelentkezett ismét, akkor a 30 cm átmérőjű EM-sza még jól látható volt. Két újszülött kori sárgaságot láttunk. Az egyik csecsemő édesanyja 4x125 mg erythromycint szedett 30 napon át, de a kezelés ellenére a folt még további 30 napig látszott. Ez az asszony csak a szülés után jelentkezett az Ambulancián. Egy másik újszülöttn

papulovesicularis kiütést láttak a szüléskor és az azt követő 1 hónapban. Ez a nő a szülés után 2 héttel jelentkezett. A kezeletlenül hagyott anyának még ekkor is jól látható EM-sza volt. Egy másik asszony 8 napig kapott 4x125 mg erythromycint, de azt követően még 36 napig látható volt az EM-sza. Az újszülött agyvérzéssel született, a szellemi és fizikai fejlődése elmaradt a kortársaktól. A többi károsodásra itt nem térek ki, korábban részletesen ismertettem (Lakos és Solymosi, 2009). A leggyakoribb komplikáció a terhesség elvesztése volt. Ennek akkor volt a legnagyobb kockázata, ha a fertőzés a fogantatást közvetlenül megelőzően vagy röviddel azt követően következett be (I/3. táblázat és I/67. ábra).

Terhesség kimenetele	A fertőzés ideje a terhesség				
	előtt	1. trimeszterében	2. trimeszterében	3. trimeszterében	Összesen
A magzat elvesztése	2	6	1	0	9
Beteg újszülött	1	1	7	6	15
Egészséges újszülött	6	36	32	26	100
Összesen	9	43	40	32	124

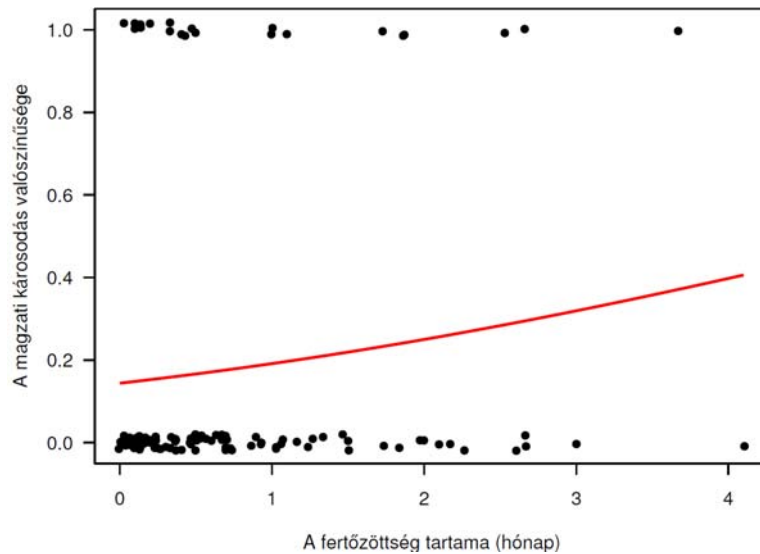
I/3. táblázat. A terhesség kimenetele és a fertőzés időpontja. A fertőzés időpontját az első klinikai tünet megjelenésétől számítottam.



I/74. ábra. A terhesség kimenetele és a fertőzés időpontja közötti összefüggés. A fertőzés időpontját az 1. klinikai tünet megjelenésétől számítottam. Az asszociációs ábrán a megfigyelt gyakoriságoknak a véletlenszerű eloszlástól való eltérését mutatják az oszlopok. Az oszlopok magassága (Pearson reziduális) az eltérés mértékével, szélessége pedig a várható gyakorisággal arányos. Az alapvonalról (szaggatott vízszintes vonal) való függőleges eltérés iránya jelzi, hogy a megfigyelt gyakoriság a véletlenszerű eloszlás esetén várható gyakoriságnál nagyobb (felfelé) vagy kisebb (lefelé). (Solymosi Norbert ábrája.)

A terhességi szövődmények a fertőzés idejével (a tünetek kezdetétől, vagy a terhesség kezdetétől, amennyiben a tünetek a terhesség kezdetét megelőzték az antibiotikum-kezelés kezdetéig vagy a szülésig, attól függően melyik következett be előbb) arányosan növekedtek. Ameny-

nyiben a fertőzés tartama elérte a 4 hónapot a terhességi szövődmények gyakorisága 33%-ra nőtt (I/68. ábra).



I/75. ábra. A terhességi szövődmények valószínűsége a magzat *Borrelia* expozíciós időtartamának a függvényében. A 0 érték körül szétszóró pontokkal jelöltük az eseménymentes, az 1 körülílekkel a szövődményes eseteket. (Solymosi Norbert ábrája.)

Nem volt lehetőségünk az elvetélt vagy halvaszületett magzatok *Borrelia*-fertőzöttségét vizsgálni. (A tanulmány lezárása után egy abortumot vizsgáltunk, az PCR-rel negatívnak bizonyult – a vizsgálatot Földvári Gábor végezte.)

I/5.4. Megbeszélés

Eredményeink alapján egyértelműnek látszik, hogy a kezeletlenül maradt terhességi Lb károsíthatja a magzatot, a terhesség megszakadásához vagy koraszüléshez, intrauterin atrophiahoz vezethet. Ez a világon az első olyan tanulmány, ami a retrospektív és obszervációs jellege ellenére eléggé megbízhatóan támasztja alá ezt az állítást. Ezt megelőzően számos ellentmondásos közlemény jelent meg, de a kisebb esetszámok, vagy a páciensek egységes kezelése nem tett lehetővé érdemi következtetéseket. A jelen feldolgozás hátránya, hogy a kezeletlenül maradt terhesek egy része a terhesség után jelentkezett, ez kétségtelenül hibát okozhat az eredmények értékelésében. Mégis azt találtuk, hogy a szövődmények arányát érdemben nem befolyásolta, hogy a betegek a terhesség alatt vagy csak azt követően jelentkeztek (Lakos és Solymosi, 2009). Bár lényegesen gyakrabban fordult elő magzati károsodás, illetve egyéb terhességi szövődmény a kezeletlen, mint a kezelt pácienseim körében, néhány kivételtől eltekintve még így is ritkább volt, mint az országos átlag. Vélhetően ez abból adódik, hogy a magánrendelő nemcsak vagyoni helyzet alapján szelektálja a betegeket, de valószínűleg az ide látogató betegek inkább törődnek saját egészségükkel, mint az országos átlag. Az biztosra vehető, hogy – ellentétben a veleszületett syphilisben észlelhető jellegzetes Hutchinson-triással – nincs típusos morfológiai jelekkel, fejlődési rendellenességgel járó, connatalis Lb. Az én anyagomhoz hasonlóan, spontán abortusz, halvaszülés, koraszülés egyéb közleményekben is gyakran szerepel. A terhesség elvesztése sokkal gyakrabban fordult elő a kezeletlenül maradt esetekben. A kisszámú adat ellenére elég valószínű, hogy amennyiben a fertőzés jóval megelőzi a terhességet, még akkor sem okoz magzati károsodást, ha a fertőzés a terhesség egész időtartama alatt fennáll. Ezt a jelenséget vélhetően az okozza, hogy a régóta tartó fertőzésekben rendkívül erőteljes immunválasz alakul ki, ami annak ellenére, hogy a kórokozót nem képes eliminálni, de képes lehet megvédeni a magzatot a fertőzéstől. Néhány általam regisztrált szövődmény - hyperbilirubinaemia (Shirts et al., 1983), újszülöttkori agyvérzés (Weber et al., 1988), generalizált kiütés (Markowitz et al., 1986), húgyúti fejlődési rendellenesség (Maraspin et al., 1999; Strobiono et al., 1993) pylorus stenosis (Strobiono et al., 1993) és halvaszülés (MacDonald et al., 1987) - más közleményekben is előfordult.

Az utolsó 18 évben a parenterális ceftriaxont részesítettem előnyben az orális készítményekkel szemben. E téren nincs egységes álláspont, az újabb útmutatók többsége orális amoxicillint javasol, méghozzá a nem terhesekkel azonos adagban (Stanek et al., 2011). Tudomásom szerint nincs olyan vizsgálat, ami ezt a vélekedést alátámasztaná. Vannak viszont adatok, amelyek terhességben az amoxicillin gyengébb hatékonyságára utalnak. Például a terhesség

alatt az amoxicillin plazma csúcskoncentrációja alacsonyabb, az eliminációja gyorsabb, mint az azonos mennyiséggel kezelt nem terheseké vagy frissen szült nőké (Andrew et al., 2007). Ezzel szemben a ceftriaxon farmakokinetikája nem változik lényegesen a terhesség során (Bourget et al., 1993), sőt, ez az antibiotikum *in vitro* sokkal hatékonyabb a Bb-vel szemben, mint a többi béta-laktám (Dever et al., 1992; Baradaran-Dilmaghani et al., 1996). Az általában javasolt amoxicillin a terhesség első trimeszterében adva ugyanakkor növeli az ajak- és szájpadhasadékok kialakulásának a kockázatát is (Puhó et al., 2009). Az eredményeink alátámasztják, hogy a ceftriaxon sokkal hatásosabb, mint az orális kezelések általában. Ennek a feldolgozásnak talán ez a legfontosabb következtetése. A következtetésünk erejét gyengíti, hogy az anyagunkban szereplő orális antibiotikumok között többféle készítmény és dózírozás szerepelt, köztük olyanok is, amelyek nem tekinthetők hatásosnak (pl. a 8 napos erythromycin). Az orális antibiotikum-kezelésekről gyűjtött kisszámú és heterogén adat nem teszi lehetővé, hogy e téren további statisztikai feldolgozást végezzünk. Tagadhatatlan, hogy a ceftriaxon-kezelés drága, maga a gyógyszer kb. 10-szer annyiba kerül, mint az amoxicillin, és ehhez még hozzájön az injekció beadásának a költsége is. A ceftriaxon ezen felül izomba adva igen fájdalmas, emiatt jobb vénásan alkalmazni. A vénás beadás azonban gyakran okoz thrombophlebitist. A ceftriaxon viszonylag gyakran okoz allergiás reakciót, szerencsére az első adásnál ez nem szokott súlyos lenni, és inkább a kezelés végén jelentkezik enyhe bőrviszketés, kiütések formájában.

Állatkísérletes adatok materno-foetalis Bb transzmissziót igazoltak (Gustafson et al., 1993), mások ellentétes következtetésre jutottak (Silver et al., 1995). Mivel nem volt lehetőségünk az abortumok vizsgálatára, változatlanul tisztázásra vár, hogy direkt magzati Bb invázió, vagy a placenta fertőzése, esetleg immunológiai komplikáció okozza-e a terhességi szövődményeket.

Annak ellenére, hogy a jelen adatbázis az eddig publikáltakhoz képest a legnagyobb, az obszervációs és retrospektív feldolgozás miatt a nagyon erős szignifikanciaszintek ellenére nem hihetjük, hogy az eredményeink tévedhetetlenek. Jó lenne részt venni egy európai prospektív, multicentrikus, legalább a kezelést illetően esetkontrollos tanulmányban, ahol az itt leírt eredmények megerősítést nyerhetnének. Sajnos, a terheseken az etikai bizottságok kevésbé hajlamosak engedélyezni klinikai vizsgálatokat, ezért nem túl nagy az esély egy ilyen tanulmány elvégzésére. Amíg egy ilyen vizsgálat nem bizonyítja, hogy az én következtetéseim tévesek, addig ezeket az információkat kellene alkalmazni a terhességi Lb ellátásakor.

I/5.5. Összefoglalás

Az eddig publikált anyagokhoz képest a legnagyobb esetszámú terhességi Lb elemzésével elsőként bizonyítottam be, hogy a kezeletlenül maradt *Borrelia*-fertőzés károsíthatja a magzatot. Amennyiben a fertőzés a terhességet közvetlenül megelőzően vagy röviddel a fogantatás után következik be, a magzat elvesztéséhez vezethet a fertőzés. A terhesség későbbi időszakában koraszülés, vagy a magzat intrauterin fejlődésének elmaradása a leggyakoribb szövődmény, amennyiben az anya kezeletlenül marad. Ellentétben a korábbi közleményekkel, ebben az anyagban nem fordultak elő súlyos fejlődési rendellenességek. Nincs a Hutchinson-triászhoz hasonló congenitalis Lb. Az is egyértelműnek látszik, hogy a terhesek parenterális antibiotikum-kezelése hatékonyabb, mint az orális. A jelen tanulmány legfontosabb következtetése, hogy a parenterális antibiotikummal kezelt terhességi Lb nem jelent kockázatot a magzatra.

II. A kullancsencephalitis

II/1. A kullancsencephalitis epidemiológiája Magyarországon

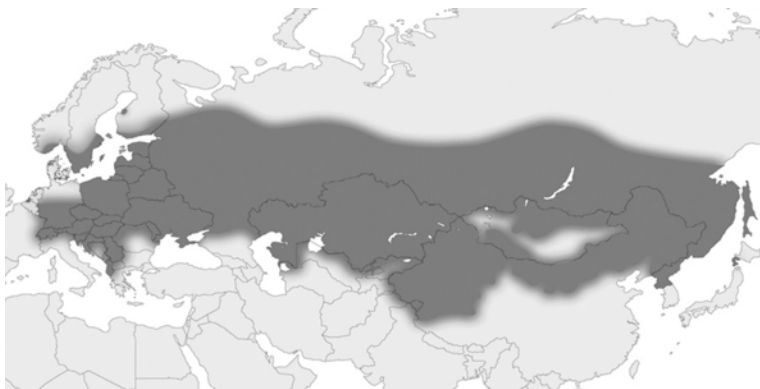
A Szovjetunió távol-keleti területein már a 30-as években megfigyeltek egy nagy halálozással járó központi idegrendszeri betegséget. Grigorjevics és Tkacsev mutatták ki elsőként (in: Molnár, 1983), hogy az agyvelőgyulladásban meghalt beteg agyából készített szuszpenzióval egerek megfertőzhetők. A vírust Európában másodikként Magyarországon izolálták (Fornósi et al., 1954).

II/1.1. A kórokozó

A kullancsencephalitis (KE) vírusa pozitív szálú RNS-t tartalmazó vírus. A Flavivírusok családjába tartozik olyan szerológiaiilag keresztreakciót adó kórokozókkal együtt, mint a sárgaláz, a japán B encephalitis, a dengue-láz és a nyugat-nílusi láz vírusa. Három altípusa van, az európai (nyugati), a szibériai és a távol-keleti (II/1. ábra). A KE a legfontosabb és legelterjedtebb, kullancsok által terjesztett vírusfertőzés Európában. Franciaország keleti területeitől a Távol-Keletig (II/2. ábra) előforduló háromféle KE közül súlyosságát tekintve az európai változat középen helyezkedik el.



II/1. ábra. A kullancsencephalitis-vírus szubtípusainak elterjedése (Kollaritsch et al., 2011)



II/2. ábra. A kullancsencephalitis öv (Petri, 2010)

II/1.2. Terjedése

A fertőzést az ember többnyire kullancscsípés révén kapja el. A kullancsok számos, emberre patogén vírust terjesztenek, ezek vagy encephalitist vagy vérzéses lázakat okoznak. A mi régióinkban a legfontosabb a KE. Európában az *Ixodes ricinus*, Ázsiában az *I. persulcatus* a vektor. Kisebb számban, de időről időre előfordulnak élelmiszerekkel közvetített járványok. A fertőzött kecske, tehén és juh pasztörizálás nélkül fogyasztott teje, vagy az abból készült termékek közvetíthetik az infekciót (Kerbo et al., 2005; Balogh et al., 2010). Bár időről időre felbukkan a feltételezés, légúti fertőzés csak laboratóriumi baleset következtében fordul elő (Avsic-Zupanc et al., 1995). A kullancs egyrészt rezervoár, másrészt maga a vektor. A fertőzött kullancs egész élete során fertőzött marad, sőt a vírust átörökíti utódaira is. Minden vérszívással fertőződhet, tehát a pete – lárv – nimfa – adult sorrendben növekszik a fertőzöttség aránya. Korábbi vizsgálatok szerint csak minden 1000. hazai kullancs fertőzött (Molnár, 1983). A közeli Csehországban nemrégiben a kifejlett kullancsok 10%-át találták fertőzöttnak (Danielova et al., 2002.), ez extrém prevalenciát jelent. A házi kedvencek közül a kutyák állítólag megbetegedhetnek (Leschnik et al., 2002 és Weissenböck et al., 1998) az emberéhez hasonló agyvelőgyulladást kapnak a fertőzéstől.

II/1.3. Patológia

Az idegrendszer invázióját megelőzően intenzív vírusreplikáció figyelhető meg az izom- és fibroblastsejtekben. A vírus ezt követően bejut a központi idegrendszerbe. A folyamatot agyödéma kialakulása kíséri. A vírusreplikáció irreverzibilis károsodást okoz az agytörzs, a nyúltvelő szürkeállományában és a nyaki gerinc elülső szarvi motoros sejtjeiben. Az encephala-

litises tünetek részben a vírusinvázió, részben az immunpatológiai történések következtében jönnek létre.

II/1.4. Klinikai tünetek

Csak minden harmadik fertőzés jár kifejezett tünetekkel. A betegek mintegy 30%-a nem veszi észre a kullancscsípést (Kaiser, 2002; Lakos, 2007; Schneider et al., 2000). A KE 3-21 napos lappangási idő után kezdődik, az esetek 70%-ában kétfázisú lázas betegség. Az első fázis csak láz- és izomfájdalmakkal jár, pár nap alatt szűnik. Az irodalomban ezt a szakaszt „influenza-szerű” tünetekkel szokták jellemezni. Ez félrevezető, a kifejezés használatát nem javaslom, mert soha sincsenek légúti tünetek. Párnapos tünetmentesség után magas láz, fejfájás, szédülés és hányás kíséretében alakulhatnak ki az idegrendszeri tünetek. Serosus meningitis, meningoencephalitis és encephalomyelitis fejlődhet ki. A betegség öntörvényű, az orvosi beavatkozás, intenzív osztályos ápolás, gépi lélegeztetés megmentheti ugyan az életveszélyes állapotú betegeket, de az agykárosodás mértékét gyógyszeresen nem tudjuk befolyásolni. Nincsenek antivirális szereink, és a vírus már el is pusztult, mire a diagnózist egyáltalán ki lehet mondani. A betegség 2 hét alatt lezajlik, 1%-ban halálhoz vezet, maradványtünetekkel, vagy kb. 50%-ban szövődmény nélkül gyógyul. A nyugati szubtypussal idült fertőzés emberben nem fordul elő. A bénulással járó esetek fele súlyos maradványtünetekkel gyógyul. A halál többnyire spinobulbaris paralysis vagy légzésbénulással járó tetraparesis következményeként az idegrendszeri tünetek 2-30. napján áll be (Jellinger, 1981). Gyermekekben gyakori a jóindulatú lefolyás. Azonban még az enyhébb esetekben is tartós fejfájás, memóriazavar, a kognitív funkciók beszűkülése, tartós EEG-eltérések maradhatnak vissza (Juhász et al., 1993; Schmolck et al., 2005). A kórházból „gyógyultan távozott” betegek harmada-fele kénytelen elhagyni korábbi munkahelyét, pozícióját, akár fizikai, akár szellemi teljesítőképességének csökkenése miatt (Haglund et al., 1996; Lämmler et al., 2000).

II/1.5. Diagnózis

A diagnózis az anamnesis és a központi idegrendszeri gyulladásra utaló gyanújelek alapján vethető fel. A gerincfolyadékban 100 körüli lymphocytás pleocytosis és fehérjeemelkedés található. Megtévesztő lehet, ha egyidejűleg *Borrelia*-fertőzés is történt. Tekintve, hogy a kifejlett (adult) kullancsok akár 50, egyes területeken és időszakokban akár 100%-a is hordozhat Lyme spirochaetát, a kettős fertőzéssel minden esetben számolni kell. Mivel azonban a KE lappangási ideje rendszerint sokkal rövidebb, mint a neuroborreliosisé, akkor kell Lb-ra gondolni, ha a kezdeti tünetek javulása után visszaesés, perifériás facialis paresis vagy arthritis lép fel. Az 1979-ben megrendezett KE-szel foglalkozó tanácskozáson több „atípusos” lefolyású, többnyire chronicus meningitisszel és facialis paresissel járó esetet ismertettek (Kunz, 1981). Sejthető, hogy ezekben az esetekben a *Borrelia*-fertőzés következménye volt a szokatlan klinikai kép. Tekintve, hogy a *Borrelia* antitestek lényegesen lassabban jelennek meg (Lakos, 1991a), a kettős fertőzés rejtve maradhat. Nincsenek a KE-re jellemző egyéb laboratóriumi eltérések. Többen észleltek leuko- és thrombopeniát, valamint enyhe hepatitist (Lotric-Furlan et al., 1995). E három – szokatlan – eltérés azonban elsősorban ehrlichiosisra jellemző. A kettős fertőzés esélye legalább 10% ezzel a mikrobával is (cit in: Lakos, 1996). A vírus kitenyésztése a rutin diagnosztikában megoldhatatlan, emiatt a fertőzést a vérben és a gerincfolyadékban megjelenő ellenanyagok kimutatásával lehet igazolni. A vizsgálatokat központosítva, főleg immunfluoreszcens technikával, szükség esetén kiegészítő módszerekkel (Niedrig et al., 2007) az Országos Epidemiológiai Központban (OEK - korábban OKI) végzik.

II/1.6. Epidemiológia

A rizikó csoportokba nem tartozó fertőzöttek száma négyszer haladja meg a foglalkozásuk miatt veszélyeztetett munkakörben elszenvedett megbetegedések számát. A fertőzések túlnyomó többsége a szabadidős tevékenységek következményeként lép fel (Schneider et al., 2000). Rendkívül izgalmas, hogy Magyarország és Ausztria kivételével, ahol szinte a teljes lakosságot beoltották, az összes többi európai országban erőteljesen növekszik a betegség előfordulása. Ausztriában évi 600-ról 100 alá csökkent az esetszám, míg pl. Észtorszában az ezredfordulóra az incidencia az 1950-1975 közötti időszak 100-szorosára emelkedett, Lengyelországban a növekedés 10-szeres, Csehországban 5-szörös. Az utóbbi 10 év alatt Németországban megduplázódott az incidencia, Svájcban a növekedés ugyanebben az időszakban

közel háromszoros volt (Süss, 2008). A felismert esetek gyarapodása egyes országokban a surveillance javulásának is köszönhető, de egyértelmű, hogy valós növekedésről van szó. Európában (Oroszországot nem számítva) évente 3000 kórházi felvétel történik igazolt KE miatt (Süss, 2008). Általános tapasztalat, hogy a KE relatív incidenciája az idősebb korosztály felé tolódott el. Következésképpen a betegség lefolyása súlyosabbá vált (Jelenik, 2010). Az eltolódás a fiatalabb korosztály nagyobb arányú átoltottságával és az idősebbek fokozódó szabadidős aktivitásával magyarázható. A férfiak gyakrabban betegszenek meg, mint a nők (Schneider et al., 2000). Ez nemcsak a foglalkozási kockázat miatt van így, (az erdészek, a vadászok, a földmérők többsége férfi), de szerepet játszhatnak a nemek által meghatározott magatartásminták is. Hazai adatok szerint kisgyermekkorban a fiú-lány arány 1-nél kisebb. A TIBOLA és a Lb során szerzett tapasztalataim alapján ennek az lehet az oka, hogy a gyermekeket a kullancsok nagyobb arányban csípi a fej-nyak régióban. A hosszú haj így a kislányok kockázatát növeli (Lakos, 2002b). A betegség szezonális, szezonaritása megegyezik a Lb-ével.

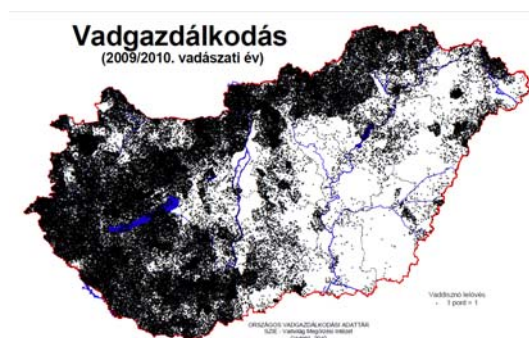
II/1.7. Az incidencia változása Magyarországon és Európában

A nagyvadak számával egyenes arányban változik a kullancspopuláció nagysága. Lényegében ez az egyetlen megbízható forrásunk, aminek alapján valószínűsíthető, hogy ma többször anynyi kullancs van, mint 50 éve volt. Ez alatt az időszak alatt Magyarországon a nagyvadállomány átlagosan a hatszorosára növekedett, ezen belül is legkifejezettebb a vaddisznóállomány növekedése, 8 ezerről 106 ezerre (Csányi, 2011.). A betegség elsősorban a nyugat-magyarországi területeken (főleg Zala megyében) fordul elő, de az Alföld kivételével mindenhol jelentenek eseteket (II/3. ábra).

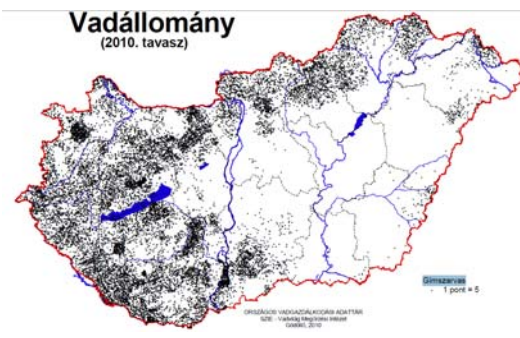


II/3. ábra. A kullancsok mérete arányos a regisztrált esetek számával (1991-1995, $n=1348$ – Lakos et al., 1996-1997).

Stockholm környéki adatok szerint a decemberi csapadékmennyiség és a nercek, illetve a ró-kák száma korrelál leginkább a KE fertőzések számával (Haemig et al., 2011), sőt úgy tűnik, hogy ezen paraméterek előrejelzik a következő év incidenciája változását. Elképzelhetőnek tartom, hogy a ró-kák veszettség elleni vakcinázása okozza az Európában általánosnak mondható esetszám-emelkedést. Én úgy találtam, hogy a nagyvadállomány (ezen belül is a vaddisznó és a gímszarvas) területi elrendeződése egyezik meg leginkább a KE területi megoszlásával (Lakos, 2005c) (II/4-5. ábra).



II/5. ábra. A gímszarvas magyarországi elterjedése a kilővések alapján (Csánvi, 2011)



II/5. ábra. A vaddisznó magyarországi elterjedése a kilővések alapján (Csánvi, 2011)

Még nemzetközi fórumokon is megjelent az az álláspont, hogy a hazai KE incidenciája 1997-ben észlelt csökkenése a bejelentések elmulasztásának a következménye (WHO, 2004; Süss, 2007; Randolph, 2010). Mivel 1997. óta nem a központi, hanem a kórházak költségvetéséből

kell finanszírozni a szerológiai vizsgálatokat, ez az elképzelés reálisnak tűnhetne. A vizsgálat költsége azonban jelentéktelen, és évente az egész országban mindössze ezres nagyságrendben lenne indokolt, így alig hihető, hogy ez érdemben megterhelné a kórházak büdzsáját.

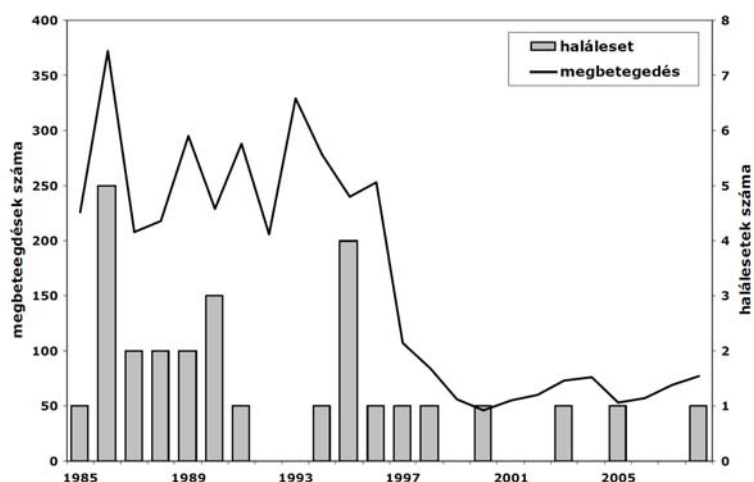
Még az incidencia csökkenése előtti időszakban felmerült, hogy a valódi és a jelentett esetek száma között eltérés van. Megvizsgáltuk ezért, hogy milyen összefüggések mutatkoznak az OKI vírusosztályára küldött vizsgálati minták (1991. január 1 és 1995. december 31. közötti időszakban, összesen 2775 minta, ebből 1348 igazolt KE), és azok pozitivitása között. A vizsgálatra küldött minták száma és a találati arány között összefüggés van ($p < 0,05$). Eszerint, ahol több esetet észlelnek, ott nagyobb biztonsággal állapítják meg a diagnózist, és ez a tétel fordítva is igaz (Lakos és Ferenczi et al., 1997). Ugyanakkor vannak területek, ahol kevés vizsgálatot végeztek, mégis a találati arány feltűnően magas. Feltételezhető, hogy ezeken a területeken csak a klinikailag egyértelmű esetekben vizsgáltatják a kóreredetet, tehát vélhetően nagyobb számú beteg nem kerül felismerésre. A fentiek illusztrálására állítottam össze egy ábrát, amelyen a megyék sorrendjét a találati arány és az abszolút esetszám szorzata határozza meg (ábra). A sorrendet az alábbi képlet alapján állítottam fel: n^2/Σ , ahol n =a szerológiai igazolt esetek száma, Σ =az összes vizsgálatra beküldött betegek száma. Az ábrából kiderül, hogy Nógrád, Heves, Tolna és Pest megyéből a magas találati arány mellett viszonylag kevés beteget jelentenek (II/6. ábra).



II/6 ábra. A találati arány alapján sorba rendezett megyéenkénti incidencia. A sorrend arra utal, hogy vannak területek, ahonnan csak a klinikailag egyértelmű eseteket vizsgáltatják.

Látható hogy az esetszám hirtelen csökkent Magyarországon (II/7. ábra). Amennyiben a diagnózis elmaradása okozta volna a csökkenést, akkor a relatív halálozásnak emelkednie kellett volna azért, mert a súlyos, különösen a halálhoz vezető esetekben a diagnózist nagyobb való-

színűséggel tisztázzák a kollégák, és elképzelhetetlen, hogy ilyenkor pénzügyi korlátokat mérlegelnének.

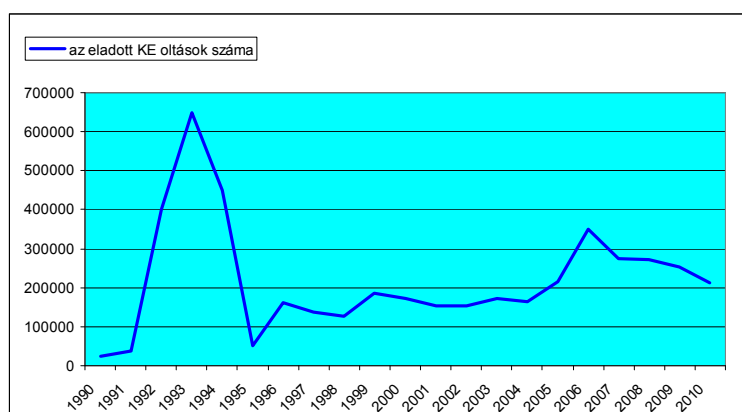


II/7. ábra. Kullancsencephalitis gyakorisága Magyarországon 1985-től 2008-ig. (Zöldi et al., 2009)

Nemzetközi fórumon is megjelent az az elképzelés, hogy hazánkban azért sem végeztetnek vizsgálatot a KE tisztázására, mert egy másik, az ugyancsak a flavivírusokhoz tartozó, és encephalitist okozó, de szúnyog által terjesztett West Nile vírusfertőzéstől a szerológia alapján nem lehet elkülöníteni, és terápiás következménye amúgy sincs a pontos diagnózisnak (Randolph, 2010). Ezt a teóriát is cáfolják az epidemiológiai adatok: a halálozás a felismert fertőzésekkel arányosan csökkent, tehát el kell fogadnunk, hogy az esetszám-csökkenés hiteles. Mégis, mi okozhatja a csökkenést?

Ma gyakorta merül fel, hogy egy zoonosis incidenciájának alakulásában a klímaváltozásnak van döntő szerepe. Tagadhatatlan, hogy a KE egyre magasabb hegyekben és egyre északabbra is megjelenik (Danielová et al., 2008). Korábban a KE csak a tengerszinttől számított 800 m magasságig fordult elő. Az utóbbi időben ez a határ fokozatosan emelkedik, és 2008-ban már észleltek egy kecskesajttal terjedő járványt egy 1500 m magasan fekvő tanyán (Holzmann et al., 2009). Csaknem egész Európára igaz, hogy új endémiás gócok jelentek meg, és a meglévők kiterjedése is növekszik. Különösen jelentős a területi kiterjedés növekedése Dél-Német- és Csehországban. A klímaváltozással azonban kevésbé magyarázható, hogy a fertőzés északi, keleti, nyugati, sőt déli irányban is terjed. Térinformatikai vizsgálatok alapján Randolph hibátlanul megjósolta a betegség további térbeli terjedését (Randolph, 2000.) Ausztriában jól megfigyelhető, hogy a KE a folyók mentén, a völgyekben terjed nyugat felé (Herwig Kollaritsch, személyes közlés.)

Mi magyarázhatja a kedvező hazai adatokat? Sajnos, nem tudjuk, hogy a hazai populáció hány százaléka részesült teljes vagy részleges KE elleni alapimmunizálásban. Egy régi újságcikk (Gáti, 1993) alapján merült fel, hogy kezdetben sokkal több oltóanyag került forgalomba, mint a későbbi években, amikortól már több forrásból is megbízható adatok állnak rendelkezésre a két KE elleni oltóanyag forgalmáról. Ezek szerint a törzskönyvezést követő évek látványos adatai után visszaesett a forgalom, és azután lassan emelkedő mértékben, évente 150-300 ezer adag oltóanyag fogy. Mostanra (2010-re) legalább 5 millió adag védőoltást adtak el Magyarországon (II/8. ábra).



II/8. ábra. Az 1990-2010-ig eladott kullancsencephalitis vakcina adatok száma éves bontásban. Az adatok több forrásból származnak, ahol az adatok között eltérés volt, a nagyobb számot vettem figyelembe.

Magyarország helyzete különleges: Monspart Sarolta, rendkívül népszerű tájfutó világbajnokunk 1978-ban bekövetkezett betegsége, mely maradandó bénulást okozva kettétörte a sportkarrierjét, rendkívüli publicitást kapott. Így, amikor 1991-ben az első KE elleni védőoltást törzskönyvezték, a várakozás kivételes volt. A törzskönyvezés utáni 3 évben 1,5 millió adag oltóanyag fogyott el (dr. Gesztes Lajos, az Immuno Magyarország Kft akkori igazgatójának személyes közlése). A törzskönyvezés előtti években is kaptak oltást erdészeti dolgozók és a Néphadsereg, majd a Honvédség tagjai. Összegezve közel kétmillió adagot értékesítettek 1997-ig, amikor is a látványos esetszám-csökkenés bekövetkezett. Érdekesesek a honvédségi adatok. A honvédségen belül elképzelhetetlen, hogy anyagi megfontolások szabnának gátat egy súlyos központi idegrendszeri gyulladás kivizsgálásának. A Magyar Honvédség 1997-ben a korábbi évekhez képest 2-3-szorosára növelte a beadott oltóanyag mennyiségét. Az országhoz képest 2 éves csúszással csökkent látványosan a megbetegedések száma: 1999-től gyakorlatilag megszűnt a KE a katonák között (Lakos és Rókusz, 2011). Bár a honvédség létszáma a rendszerváltás után folyamatosan csökkent, (A honvédség létszáma, 1990-2007-ig), a létszámcsökkenés nem magyarázza a kedvező járványügyi adatokat. A honvédek között

évente legalább egy KE esetet kellene észlelni, amennyiben a korábbi incidenciával számolnánk. Ehhez képest, az elmúlt 12 évben mindössze két megbetegedést regisztráltak. Az elérhető adatok szerint, a honvédek közel fele teljes körűen immunizált. (Az adatok egy részét Faludi Gábortól kaptam, köszönöm.)

Többféle elképzelés látott napvilágot, mi okozhatja Európában a látványos incidenciacsökkenést. A legutóbbi felvetés, miszerint az emberi aktivitás lenne a legfontosabb szempont (Randolph, 2010), szerintem is fontos tényező. Én is látom, hogy a kullancs által terjesztett betegségek, - mindenekelőtt a Lb - hétvégi betegség. Amikor egy nyújtott hétvégén, 3 napos ünnepen jó idő van, 2 hetes lappangási időt követően megugrik a Kullancsbetegségek Ambulanciájának a forgalma. Az időjárás fontosabb tényező, mint az aktív kullancsok száma. Emiatt a növényekről begyűjthető kullancsok mennyisége és a KE incidencia között nincs összefüggés. Hiába van sok kullancs, ha az időjárás nem csábít a szabadba, nincs esély a fertőzésre. Azok a hétvégék a legveszélyesebbek, amikor az idő szép, de a megelőző időszakban sok csapadék hullott (Šumilo et al., 2008). A hőmérséklet mellett ugyanis a magas páratartalom a kullancsok aktivitását növelő legfontosabb tényező.

Felmerült, hogy az incidenciacsökkenés ugrásszerű emelkedését a rendszerváltást követően, pl. Orosz- és Lengyelországban valamint a Balti országokban vagy akár Csehországban is az okozza, hogy a mezőgazdasági területek mind nagyobb része marad parlagon, emiatt kevesebb növényvédő (rovarirtó szert) használnak, és ez kedvez a kullancsok felszaporodásának. A rendszerváltás következtében nagyobb tömegek váltak munkanélkülivé, és számukra az erdei gyűjtögetés, főleg az erdei gombák szedése, az illegális fakitermelés, mint kiegészítő jövedelemforrás egyre gyakoribb tevékenység. A szegényebb, kevésbé iskolázott emberek sokkal ritkábban élnek a védőoltással (Sumilo et al., 2008). Mindez azonban nyilván nem magyarázza Norvégiában és Svédországban az incidenciacsökkenést. Az érintett országokban az azonos vektor által közvetített Lb nem mutatott ilyen robbanásszerű növekedést, tehát ez a teória is gyenge lábakon áll.

Az újabban megismert, a törzskönyvezés utáni évekből származó adatok birtokában még valószínűbb, hogy a védőoltás alkalmazása fontos, ha nem a legfontosabb tényező a kedvezően alakuló hazai járványügyi helyzetben. Magyarországon 1977-től 1991-ig csupán kis számban, a veszélyeztetett dolgozók juthattak az oltáshoz, azóta térítés ellenében mindenki számára hozzáférhető. Az 1997-ig beadott, közel 2 millió adag oltóanyaggal 600 000 – 900 000 ember immunizálódhatott. Ezt általában kevésnek tartják ahhoz, hogy a járványügyi adatokat befolyásolja. Amennyiben azonban valóban az érintett populáció folyamodott az oltásért, ez ele-

gendő lehet az esetszám drasztikus csökkenéséhez. Osztrák adatok azt mutatják, hogy a részleges vagy a javasolttól eltérő menetrend szerint oltottak védettsége is 95,5%-os (Heinz et al., 2007). Becsléseim szerint mostanra a magyar lakosság kb.15%-a átoltottnak tekinthető, és egyértelmű, hogy az átoltottság a veszélyeztetettek körében különösen nagy arányú. A média által folyamatosan ébren tartott figyelem is szerepet játszik az incidencia alakulásában. Ez ösztönözhet az egyéni védekezési módok (öltözködés, repellensek, rendszeres kullancsvizit) alkalmazására (Šumilo et al, 2008; Vos et al., 1994).

Aggasztó, hogy az utóbbi években, a Balti országokban is izolálták a KE vírusának távolkeleti típusát (Golovljova et al., 2004 és Lundkvist et al., 2001), ami az Európában honos vírus 1-2%-os halálozásához képest 40%-os halálozással járó fertőzést okoz! Ma még nem tudunk semmit arról, hogy ez a sokkal virulensebb vírus elérheti-e Magyarországot is. Nem kérdés, hogy a védőoltások alkalmazása jelenti a legbiztonságosabb védekezési módot.

II/2. Klinikai epidemiológiai tanulmány a László Kórházban

II/2.1. Betegek és módszerek

Retrospektíve kigyűjtöttük a László Kórház IV-es Belgyógyászati, Zoonózis osztályán 1976. január 1. és 1996. december 31. között felvett, szerológiailag igazolt KE eseteket (n=193). Valamennyi esetben az Országos Közegészségügyi Intézet (OKI) Vírusosztálya által kiadott vírus-szerológiai diagnózis volt a beválasztás alapvető kritériuma. Valamennyi esetben rendelkezésre állt a felvételt követő 3 napon belül végzett pontos neurológiai konziliáriusi leírás. Az volt az érzésünk, hogy az utóbbi időben megszélidült a KE, emiatt a vizsgált időszakot két részre osztottuk: 1976-1986, illetve 1987-1996 (Lakos et al., 1996-1997; Lakos et al., 1997).

II/2.2. Eredmények

	1976-1986	1987-1996	statisztika
Esetszám	100	93	---
Átlagéletkor	45,2 (16-75)	34,2 (15-71)	NS
Férfi/nő	71/29 (71/29)	70/23 (75,2/24,8)	NS
Tünetek, panaszok (%)			
Fejfájás	75 (75)	71 (76,3)	NS
Szédülés	59 (59)	19 (19,8)	P<0,001
Hányinger	37 (37)	16 (17,2)	P<0,05
Hányás	63 (63)	21 (22,5)	P<0,001
Kettős látás	15 (15)	4 (4,3)	P<0,05
Alvászavar	15 (15)	3 (3,2)	P<0,05
Hasmenés	9 (9)	4 (4,3)	NS
Zavart sensorium	43 (43)	4 (4,3)	P<<0,001
Eszméletlenség	3 (3)	0	NS
Tarkókööttség	38 (38)	18 (19,3)	P<0,05
Extrapiramidalis tremor	21 (21)	2 (2,1)	P<0,001
Cerebellaris ataxia	21 (21)	1 (1,0)	P<<0,001
Nystagmus	13 (13)	10 (10,7)	NS
Bénulások (%)			
Végtag (felső/alsó)	13 (10/3)	1 (1/0)	P<0,01
Húgyhólyag	6 (6)	0	P<0,05
Motoros aphasia	2 (2)	0	NS
Frontalis leépülés	6 (6)	1 (1,0)	NS
Bénulások összesen	27 (27)	2 (2,1)	P<<0,001

II/1. táblázat. Demográfiai és a klinikai tünetek 193, a László Kórház IV-es, „Zoonosis” osztályán a vizsgált két időszakban: 1976-1986. és 1987-1996. között. A statisztikai vizsgálatok Fisher egzakt teszten alapulnak.

Látható, hogy mind a szubjektív panaszok, mind az objektív tünetek szignifikánsan súlyosabbak voltak az 1987. előtti időszakban (II/1. táblázat). Az első periódusban 2 beteget veszítettünk el, míg a későbbiekben valamennyi betegünk életben maradt. Az 1987. előtti időszakban 1 súlyos, maradandó felső végtagi paralysis fordult elő. A második időszakban 2 esetben fordult elő FSME Immun oltás ellenére kialakult KE, mindkettő enyhe lefolyású, ún. abortív forma volt.

II/2.3. Megbeszélés

A két időszak közötti különbséget magyarázhatja, hogy a vidéki kórházak, sőt a László Kórház is az évek során egyre jobb intenzív ellátással rendelkezett, így a legsúlyosabb betegeket talán már nem a mi osztályunkra hozták, és ez javíthatta a statisztikát. Ugyanakkor a két tízéves periódusban a kezelt betegek száma azonos volt, és az első időszak súlyos tüneteinek a gyakorisága 13-szorosa volt az utóbbi időszakénak. A tanulmányt azt megelőző évben zártuk le, amikor hirtelen leesett a magyarországi incidencia. Ennek fényében elképzelhető, hogy egy, ma még ismeretlen tényező okozta a kedvező járványügyi helyzetet: a betegség megszűnt, mielőtt megritkult volna.

II/3. Klinikai vizsgálat a KE megelőzésére kifejlesztett Encepurral

II/3.1. Bevezetés

Az Encepurt a KE megelőzésre fejlesztették ki. Az oltóanyagot Magyarországon 1995-ben törzskönyvezték. A gyártó Chiron-Behring megbízásából klinikai vizsgálatot végeztem. Kíváncsi voltam, milyen gyakorisággal találkozunk oltási reakciókkal és mellékhatásokkal. Meg akartam győződni a gyors immunizálási séma hatékonyságáról is. A tanulmányt korábban részletesen ismertettem (Lakos et al., 2005), itt csak a legfontosabbakat összegzem.

II/3.2. Betegek és módszerek

Összesen 107 önkéntes került a tanulmányba, 50 férfi és 57 nő. Átlagos életkoruk 45,4 év (tartomány: 20-82, SD:15,5) volt. Az Encepurt az ún. gyors immunizálási séma szerint adagoltuk a 0., a 7. és a 21. napon. A statisztikai számítások megkönnyítésére Oltási Reakció Pontszámot (ORP) alkalmaztam. Enyhe tünetekre 1, közepesre 2, súlyos panaszra 3 pontot adtam. Az ORP elméleti napi maximuma 20 volt. A KE-vírusantitestek meghatározását Euroimmun TBE ELISA kittel végeztem. Vírusneutralizáció tesztet (NT) 24, általam válogatott mintán a Chiron-Behring marburgi laboratóriumában végezték. A vizsgáló nem tudta, hogy mely savók származtak a kontrolloktól (n=8), és melyek az önkéntesektől (8 személytől 16 minta).

II/3.3. Eredmények

II/3.3.1. Oltási reakciók

A leggyakoribb oltási reakció az oltás helyén kialakuló, többnyire enyhe fájdalom volt. Sok önkéntesnek volt hőemelkedése, de legtöbbjük semmilyen általános tünetet sem jelzett. Lázreakciót összesen 8 alkalommal észleltünk. A legmagasabb ORP-t az 1., a legalacsonyabbat a 2. oltás után mértük. Három páciensnek az 1., négynek a 2., kettőnek pedig a 3. oltás után 10-nél magasabb ORP-t regisztráltunk. Az egyik ilyen önkéntesnek, akinek az ORP-je 13 lett az 1. vakcina után, enteritise is volt az egyik családtagjával együtt. Egy további önkéntes (ORP=12) az oltás helyén kialakuló fájdalomról és myalgiairól számolt be, és e panaszok 5 napig tartottak. Két másik önkéntesnek sok panaszt okozott a 2. oltás (ORP=27 ill. ORP=35),

ezért ők nem kapták meg a 3. oltást. A 3. oltás után magasabb ORP-t mutató önkéntesek egyike klinikailag típusos influenzát kapott az oltás 3. napján.

A kor és az ORP között nem volt összefüggés. A 2. vagy a 3. oltás után kialakuló lázreakciónak nem volt nagyobb a valószínűsége, ha az önkéntesnek hőemelkedése vagy láza volt az 1. oltás után. Ezzel szemben, ha az önkéntes az 1. oltás helyén fájdalmat jelzett, akkor szignifikánsan megnőtt az esélye, hogy hasonló panasza lesz a 2. vagy a 3. oltás után is ($p=0,04$ és $p=0,005$). A hőmérséklet-emelkedés tekintetében a férfiak és nők között nem volt különbség, de szignifikáns differenciát találtunk a szubjektív panaszok gyakoriságában. A nőknek több panaszuk volt, mint a férfiaknak (az 1., a 2., és a 3. oltást követően $p=0,009$, $p=0,002$, $p=0,01$).

II/3.3.2. **Mellékhatások**

Egyetlen önkéntesnek sem volt allergiás tünete az oltási időszak alatt. Egy másik önkéntes belázasodott a 3. oltás előtti napon. A 3. oltás másnapján $38,8^{\circ}\text{C}$ láza lett. Egyre kifejezettebb arthralgiája és myalgiaja alakult ki, mely polyarthritisebe torkollott. Vörösvérsejt-süllyedése 64 mm/ó , fehérvérsejt-száma $16,8\text{ G/l}$ volt. Kórházi felvétele után We: 122 mm/ó , Fvs: $17,4\text{ G/l}$, GGT: 137 E/l , CRP: $8,43\text{ mg/dl}$ volt. Vizelet üledék 4-5 fvs, 6-8 vvt. Vizelet fehérje ELFO negatív. ANA az oltás előtti, majd a további oltások után negatív, egyedül a felvétel napján 1:40, később ismét negatív. Rheuma faktor, keringő immuncomplex vizsgálat felvétel napján pozitívnak bizonyult (RF: $33,5\text{ IU/ml}$). Reumatológus időskori rheumatoid arthritis lehetőségét vetette fel, polymyalgia rheumaticát, illetve arthritis humeroscapularist is elképzelhetőnek véleményezett. Panaszai tíznapos szteroid-kezelésre lényegesen enyhültek.

II/3.3.3. **Az immunogenitás vizsgálata**

A 3. oltás napjára, tehát a 21. napra szerokonverzió következett be minden esetben. Az antitestválasz az ezt követő napokban még tovább emelkedett. Nem találtunk összefüggést a kor és az immunreaktivitás között. A szerokonverziós arány (a 42. napon mért érték osztva a 0. napon mért értékkel) és a szubjektív tünetek ($df=3$, $F\text{-statistic}=2,90$, $p=0,03$), valamint a lázreakció ($df=3$, $F\text{-statistic}=4,60$, $p=0,004$) között szignifikáns korrelációt találtunk. Az a két páciens, akinek magas ORP-je volt, és emiatt nem oltottuk be őket harmadszor, ugyanolyan magas antitestszintet produkált, mint a teljes oltási sorozatot kapó önkéntesek (11, illetve 13 relatív egység). Annál a páciensnél találtuk a legnagyobb (nyolcvanszoros) antitestszint-emelkedést, akinél hetekkel később polyarthritise alakult ki. Annak a 8 önkéntesnek a savóit,

akiknél a legalacsonyabb antitesteket mértük, megvizsgáltattuk vírus neutralizációval is. Valamennyi vizsgált savó NT titeke a 21. napon 100 felett volt, ami erőteljes protektív immunitást jelöl. (Határérték: 2, amennyiben a $NT \geq 10$, az immunitás robosztusnak számít.)

II/3.4. Megbeszélés

A hasonló tanulmányokban általában nem szerepeltetik az időskorúakat, a diabéteszeseket, az alkoholistákat. Mi szándékosan beválasztottunk ilyen önkénteseket is, mert nem az egészséges, hanem az átlagos populáció reprezentálása volt a célunk. Annak ellenére, hogy a beválasztott önkéntesek fele (!) esett át az oltás előtti időszakban valamilyen allergiás epizódon, a vizsgálat során egyetlen allergiás reakciót sem észleltünk. Az oltottak felének semmiféle panasza sem volt. Az átlagos „reakciópont” végig 1 alatt maradt, mutatva, hogy az oltás okozta kellemetlenségek minimálisak voltak. Két páciensnek nem adtuk be a 3. oltást, mert a 2. adag után heves karfájdalom és duzzanat, közérzetromlás alakult ki. Szerencsére az ő esetükben már a két oltás is egyértelmű szerokonverziót eredményezett.

Állatkísérletekben és humán tanulmányokban is számos autoimmun paraméter megjelenését detektálták különböző vakcinák beadása után, sőt autoimmun betegség is előfordult (Montagnani, 2011). Úgy tűnik azonban, a védőoltások jóval ritkábban okoznak autoimmun betegségeket, mint a vadvírussal történő fertőzések (Toubi, 2010).

Az Encepur gyorsított séma szerinti adagolásával már a 21. napra hatékony védettséget eredményezett. Egy korábbi tanulmányban ekkorra 91%-os szerokonverziós arányt észleltek, de vírus neutralizációval mérve a védettség már 100%-os volt. Csak 8 önkéntes mintáinak a NT vizsgálatára volt lehetőségünk. Azokat választottuk ki, akiknek a 42. napi antitestszintje a legalacsonyabb volt. Már a 21. napi savóik is magas titerben tartalmaztak neutralizáló antitesteket, így a vakcina hatékonysága ebben a populációban nagy valószínűséggel 100%-os. Tekintve, hogy a tanulmányban két cukorbeteg, két súlyos alkoholista, nyolc 70 év feletti önkéntes is részt vett, az eredmény kiválónak mondható. Varianciaanalízissel szignifikáns korrelációt találtunk a lázreakció, a szubjektív panaszok, valamint a KE-vírusantitestek emelkedése között. Tehát a hevesebb oltási reakció általában együtt járt az erőteljesebb immunizációval, hasonló közlést az irodalomban nem találtam.

II/3.5. Összefoglalás

Magyarországon először állítottam össze részletes epidemiológiai tanulmányt a KE-ről. Megállapítottam, hogy a betegség térbeli elhelyezkedése egyes nagyvadak élőhelyével és a Lb előfordulási területeivel azonos. Kellő számú adatot gyűjtöttem össze annak a nemzetközi fórumokon is elfogadott tételnek a cáfolatára, miszerint hamisak lennének a kedvező járványügyi adataink, csupán a diagnózis és a bejelentési kötelezettség elmulasztásából adódnának. A KE-es betegek adatainak elemzésével megállapítottam, hogy a betegség megszelídült, mielőtt megritkult volna. Az Encepur védőoltás klinikai vizsgálata során azt találtam, hogy a hevesebb oltási reakció erőteljesebb immunválasszal jár.

III. TIBOLA: egy új, kullancs által terjesztett betegség

III/1. A TIBOLA felfedezése

III/1.1. Bevezető

Röviddel a Lyme-kór hazai leírása (Lakos et al., 1985) után megnyitottam - akkor még a László Kórházban - a Lyme Ambulanciát, ahol hamarosan példátlanul sok kullancscsípett beteg jelentkezett. Pár évre rá, 1988-ban dokumentáltam az első olyan beteget, akiben a csípés helyén váladékozó, pörkös elváltozás alakult ki, körülötte nyirokcsomó-duzzanatokkal. Felül-fertőzésre gondoltam, - "Nem mosakszik a kullancs" – mondtam ezután a hasonló tünetekkel jelentkező betegeknek. Az évek során azonban egyre világosabbá vált, hogy klinikai entitásról van szó, hiszen a tünetek olyan mértékben hasonlítottak, hogy azt már lehetetlen volt nem észrevenni. Ezért 1996 tavaszától prospektíve gyűjtöttem az adatokat. A tünetek első nyilvános ismertetésére 1997 márciusában a László Kórház Tudományos Ülésén nyílt lehetőség (Lakos, 1997). Ezen alkalomra adtam az új betegségnek a TIBOLA (Tick-BOrne LymphAdenopathy) nevet. Akkortájt körbekérdeztem a hazai infektológusokat és a kullancs által terjesztett fertőzésekkel foglalkozó külföldi klinikusokat, láttak-e már ilyen betegeket. Nemmel válaszoltak. Épp az European Society for Emerging Infection alapító ülésén voltam 1997 júliusában, amikor az egyik alapító tag, Jan Clement (Belgium) az orrom alá dugott egy, a Lancet legfrissebb számában megjelent rövid esetismertetést (Raoult et al., 1997). – András, ez a te betegséged lesz! És valóban, bár a közölt rossz minőségű fényképen rajtam kívül azt hiszem, senki nem tudta, mit kell látni, felismertem a jellegzetes, a hajas fejbőrön mutatkozó eschart, amit addigra 27 betegben láttam. Bár a francia munkacsoport csak egyetlen beteget ismertetett, viszont, - ami nekem nem sikerült - a kullancsból és a csípés helyén kialakuló váladékozó escharból is kimutatták a kórokozót, a *Rickettsia slovaca*t. Ez a közlemény inspirálta, hogy bemutassam a világon az első epidemiológiai tanulmányt és a betegség részletes klinikai leírását (Lakos, 1997). A kézirat címében már szerepeltettem a TIBOLA elnevezést, de ezt a szerkesztőség nem fogadta el, így a cikk címe maradt a „Tick-borne lymphadenopathy”. A későbbiekben már következetesen a TIBOLA elnevezést használtam (Lakos, 1997bc, Lakos és Kalocsai, 1997; Lakos, 1998a-d; Lakos 1999a-b; Lakos és Raoult, 1999; Lakos 2001; Lakos 2002; Lakos, 2004; Lakos 2005a-b; Lakos, 2006; Lakos et al., 2009). Az elnevezést mások is átvették, és több európai országból is közöltek eseteket, és ha nem is mindig jelölték meg a forrást, az általam javasolt mozaikszóval írták le az új betegséget (Allegue et al., 2009; Bartolomé et al., 2005; Berbis, 2008; Boldis et al., 2009; Boldis et

al., 2010; Clopes et al., 2009; Dobler et al., 2009; Doffoel-Hantz et al., 2009; Gaston et al., 2011; Granström, 1997; Guerrero et al., 2006; Ibarra és Portillo et al., 2005; Ibarra és Blanco et al., 2005; Ibarra et al., 2006; Márquez et al., 2006; Milhano et al., 2010; Ortuño et al., 2006; Ortuño et al., 2007; Oteo et al., 2003; Parola et al., 2009; Pluta et al., 2010; Porta et al., 2008; Rieg et al., 2011; Rókusz, 2002; Santibanez et al., 2006; Selmi et al., 2009). Később egy spanyol munkacsoport közölt néhány beteget, és a TIBOLA mellett egy másik elnevezést, a DEBONEL-t (Dermacentor-borne necrosis and erythema with lymphadenopathy) vezetett be (Oteo et al., 2000). Azóta néhány szerző ezt az elnevezést is használja ugyanarra a betegsége. Úgy találtam, hogy a betegség legjellemzőbb klinikai tünetei a szinte minden alkalommal a hajas fejbőrön vagy a szakállban megbújó nagytestű (a kezdetben azt hittem, hogy megszívott nőtény) kullancs csípése után kialakuló, gyakran erőteljesen váladékozó eschar, valamint a környéki nyirokcsomók látványos duzzanata. Az első beszámolóban a Kullancsbetegségek Ambulanciáján 1996. május 9. és 1997. július 27. között megfigyelt 27 beteg adatait elemeztem (Lakos 1997b-c) Közülük két beteg - jól dokumentált - fertőzése 1-6 évvel korábban történt. A többi beteg akut tünetekkel jelentkezett. Valamennyi beteg savómintájából végeztem Lyme szerológiát WB technikával és elvégeztem a Bien-Sonntag (proteus OX19 agglutináció) reakciót. A statisztikai feldolgozás során keresztábrákat és variancia analízist készítettem a CDC által kifejlesztett Epi Info programcsomaggal.

III/1.2. Eredmények az első 27 beteg alapján

III/1.2.1. Epidemiológia

Csaknem minden beteget (27 esetből 25-öt) a hajas fejbőrön, többnyire a tarkótájon érte a kullancscsípés. A betegek többsége „feltűnően nagy” kullancsot távolított el. A fertőzést az ország körülírt területén, a Duna észak-dél irányú szakaszának partja mentén, mintegy 120 km széles és 200 km hosszú sávban akvirálták. Az ambulanciánkon a tanulmány ideje alatt megjelenő betegek ismert területen szerzett kullancscsípéseinek földrajzi helye a TIBOLÁ-t okozó csípések területétől szignifikánsan eltért ($p < 0,001$). Már akkor feltűnt, hogy a kullancscsípés szezonális is különbözik a Lb betegek azonos időszakban észlelt adataitól: a TIBOLÁ-t okozó csípés a hűvösebb tavaszi és az őszi hónapokban volt gyakoribb. A különbség statisztikailag a kisszámú páciens ellenére is erősen szignifikáns volt ($p < 0,001$).

A TIBOLÁ-sok átlagos életkora 17,6 év volt (SD: 16,7). A betegek nagyobbik fele (55%-a) 10 évesnél fiatalabb volt, míg ugyanebben az időszakban az Ambulancián megjelentek (1109

beteg) átlagéletkora 31,4 év volt, a 10 évesnél fiatalabbak aránya pedig csupán 13,4%. A különbség igen erősen szignifikáns ($p < 0,001$) volt. Az akkori elemzések szerint az első tünetek a csípés után 1-30 nap (átlagosan 8 nap, SD: 6,5) után jelentkeztek. Az első tünet rendszerint nyirokcsomó-duzzanat volt a csípés körüli régióban, a tarkón, vagy a nyakon, itt szinte mindig a m. sternocleidomastoideus mögött. A tapintható nyirokcsomók száma 1-20 között változott. Rendszerint 1-3 nagy, - akár diónyi - és több mogorónyi, borsónyi nyirokcsomó-duzzanat alakult ki. Gyakori volt a főleg fejfördítéskor észlelt nyakfájdalom. A nyirokcsomó-duzzanattal egy időben, vagy sok esetben napokkal később jellegzetes erupció alakult ki a csípés helyén, melyet 16 betegben regisztráltam. A lymphadenitis és az erupció között eltelt leghosszabb lappangási idő 42 nap volt. A csípés helyén kialakult eschar kezdetben apró vesiculákkal borított 0,5-3 cm átmérőjű, néha jelentős duzzanattal kísért gyulladás volt, ami napok múlva váladékozni kezdett. Hetekkel később a váladékozás megszűnt és az elváltozást pörk fedte be. Az erupciót 6 betegben 4-6 cm átmérőjű, gyűrű alakú erythema vette körül. Négy betegben a már gyógyulni látszó, pörkös erupció ismét belobbant és újra megjelent a savós váladék. Az egyik esetben a pörk leválását követően a bársonyos felszín alatt érgomolyag volt látható. A pörk gyógyulása után a hajas fejbőrön alopecia alakult ki. Amennyiben a csípés a test egyéb részén történt, a pörk leválása után vitiligo maradt vissza. Csupán 4 beteg említett magas lázat és háromnak volt hőemelkedése. Az esetek többségében csak az első napokban mutatkozott rossz közérzet, fejfájás, borzongás, veritékezés, izom- és ízületi fájdalom, valamint fáradékonyság. Ezen általános tünetek azonban 4 betegben 3-12 hónapig is eltartottak. Szokatlan és elhúzódó orrfolyást 5 beteg említett.

III/1.2.2. Laboratóriumi leletek

Valamennyi beteg savómintájából elvégeztem a *Borrelia* antitest-meghatározást és a Bien-Sonntag reakciót, bízva abban, hogy a *R. prowazeki* diagnosztikában használatos eljárás esetleg keresztreakciót adva, igazolja a betegség Rickettsia eredetét. De a Bien-Sonntag reakció a kontroll savókhoz képest nem adott meggyőző eredményt. *Borrelia* szeropozitivitást 6 esetben találtam. Egyiküket 1 évvel korábban típusos EM miatt kezeltem, antitestszintje nem emelkedett. Egyéb szerológiai vizsgálatokat egy-egy alkalommal végeztek más intézetekben: EBV, CMV, tularaemia ezekben nem igazolódott. A legtöbb esetben nem találtunk rutin laboratóriumi eltéréseket. Gyorsult (20 mm/ó feletti) süllýedése 3 betegnek volt, két betegnek volt mérsékelt leukocytosis, egynek leukopeniája. Négy ízben történt bakteriológiai tenyésztés a váladékozó escharból. Két esetben *Staphylococcus aureus* tenyésztett ki, a másik két esetben a

lelet negatív volt. Gombát sem tenyésztéssel, sem mikroszkópos vizsgálattal nem sikerült kimutatni abban az egy esetben, amikor ez irányú vizsgálatot végeztek.

III/1.2.3. **Antibiotikumok hatása**

A betegek többsége (18-an) béta-laktám antibiotikumot (többnyire Augmentint) kapott, 5 esetben azithromycinnel próbálkoztam, és 3 felnőtt beteget kezeltem doxycyclinnel. Négyen nem kaptak antibiotikumot, négy beteg 2, egy beteg 3 féle gyógyszert is kapott. A kezelés időtartama 5 és 41 nap között változott.

A doxycyclinnel kezelt betegek esetében a folyamat átlagosan 17 napig tartott, míg az egyéb antibiotikumokkal kezelték gyógytartama 41 nap volt. A kezeletlen esetekben a tünetmentességig átlagosan 82 nap telt el. Bár a különbség szembeszökő, statisztikailag nem volt szignifikáns. A leghosszabb kórlefolyást egy kezeletlen betegen észleltem: itt a nyirokcsomóduzzanat és a lokális reakció 180 napig tartott.

III/2. Második tanulmány - 86 beteg alapján

III/2.1. Betegek és módszerek

Pár évvel később, 2000-ben már 86 beteg adatait dolgozhattam fel (Lakos, 2002). A beválasztási kritérium a korábbi tapasztalataim alapján a fejbiccentő izom mögötti nyirokcsomóduzzanat és a kullancscsípés helyén kialakuló, pörkösödő elváltozás (fekete eschar, tache noire) volt. Minden beteg savójából végeztem Bb és 73 esetben *Rickettsia slovaca* WB-ot. A Kullancsbetegségek Ambulanciáján kullancscsípés után a vizsgálati időszakban megjelent 55 kor és nem szerint illesztett Lb páciens savómintáján is elvégeztem a *R. slovaca* WB-ot. Tizenhárom beteg mintáján történt *Rickettsia slovaca* PCR (a vizsgálatokat Didier Raoult, Marseille végezte). A 25 TIBOLÁ-s beteg 60 savómintáját vizsgáltuk indirekt immunfluoreszcenciával *R. conorii*, *R. siberica*, *R. helvetica*, *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *Francisella tularensis* és HGE agens (új nevén *Anaplasma phagocytophilum*) antigénnel. Statisztikai feldolgozáshoz az azonos időszakban megjelent 1269 EM-os beteget alkalmaztam kontrollként. Életkoruk 0-88 év volt (átlag 35.3; SD: 20.5) és a férfi/nő arány 581/688 volt. Az elemzéseket magam végeztem EPINFO version 6.04 számítógépes programmal. Kereszt-táblákat, Fisher egzakt tesztet és varianciaelemzést (ANOVA) végeztem.

III/2.2. Eredmények

III/2.2.1. Klinikai tünetek és epidemiológia

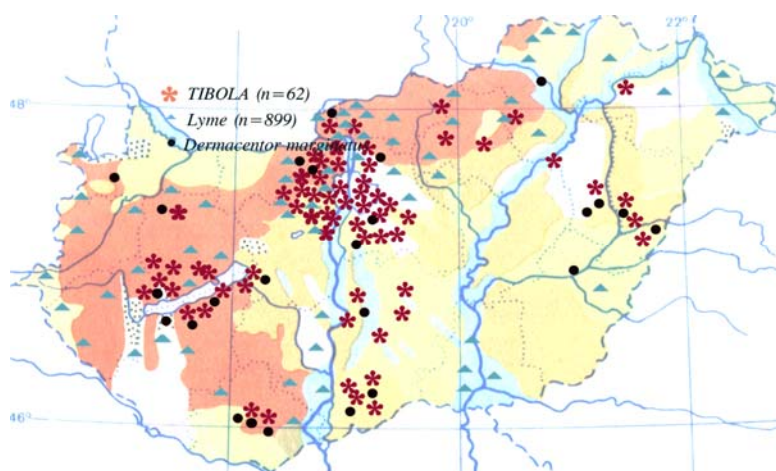
A betegek többsége, 76/86 (88%) számolt be egy rendkívül nagy kullancs csípéséről, a bemutatott többféle hazai kullancsfaj közül felismerték a *Dermacentor spp.*-t. Két ízben a megőrzött kullancs *D. marginatus*-nak bizonyult. Csaknem minden esetben (96%) a kullancsot a hajas fejbőrön találták. A csípéstől az első tünetig 0-55 nap (átlag 9 nap) telt el. A jellegzetes helyi fekélyes, váladékozó reakció 70 (82%) esetben látszott, a többieknél kisebb duzzanat és pörk mutatkozott, de nem fejlődött ki a tipikus eschar. A csípés helyén ezekben az esetekben is a szokásosnál sokkal intenzívebb gyulladásos jeleket láttam. A betegek kisebbik részében (18 páciens, 21%) az eschart erythemás udvar övezte, ami azonban finom rajzolatú, jól elkülöníthető volt a Lb-ban észlelt EM-tól.

A másik fő tünet a jól tapintható, gyakran messziről is látható, néha diónyi, kezdetben fájdalmas nyirokcsomó-duzzanat volt. A duzzanatok általában a tarkótájon és a nyakon, de mindig

a fejbiccentő izom mögött jelentek meg. Kisebb lázat, borzongást, fáradékonyságot, fejfájást, izom- és ízületi fájdalmakat és étvágytalanságot panaszoltak a betegek. Kezelés nélkül a tünetek akár 18 hónapig is eltartottak. Az egyik betegnek az előzményben magas láza, heves fejfájása, tarkókörttsége volt, zavart állapota alapján utólag encephalitist valószínűsítettünk, liquorvizsgálat azonban nem történt.

Ezen a nagyobb anyagon végzett elemzés is a korábbiakkal egyező adatokat talált. A betegek 63%-a 10 évesnél fiatalabb volt (2-57 év, átlag: 12.6 év). Nagyobb részük volt nő, mint férfi (50/36). A doxycyclin-kezelés lerövidítette a rendszerint kezelés nélkül is jóindulatú betegséget.

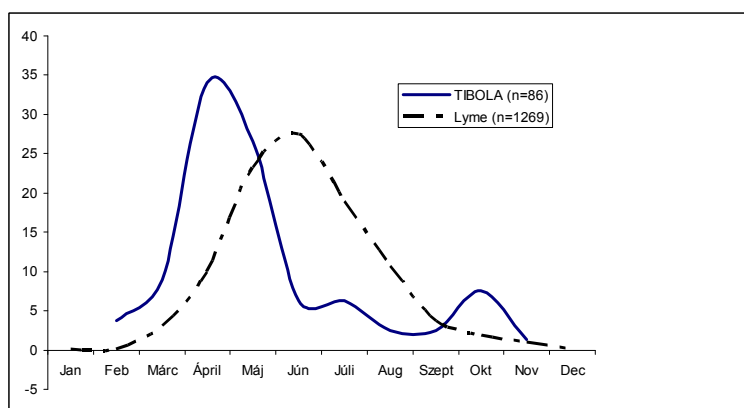
Hatvankét páciens tudta pontosan, hogy az ország mely területén érte a kullancscsípés. Az ország három régiója látszott érintettnek. Az III/1. ábrán feltüntettem a kontrollként alkalmazott azon Lyme betegeket ($n=899$), akik tudták, mely területen érte őket a fertőzés (1 háromszög átlagosan 10 beteget reprezentál). A TIBOLA fertőzések területe elég jól korrelál az évtizedekkel korábban publikált (Janisch, 1959) Dermacentor előfordulási helyekkel. Látható, hogy a TIBOLA csak néhány göcban fordul elő, míg a Lyme betegség sokkal inkább szétszórótt (III/1 ábra).



III/1. ábra. A Kullancsbetegségek Ambulanciáján 1996. május 9 - 1997. július 27. között megjelent betegek kullancscsípésének területi megoszlása. A TIBOLA betegek (virág), valamint a Lyme betegek (kék háromszögek) fertőződésének és a Dermacentor kullancsok (fekete pontok) földrajzi elhelyezkedése.

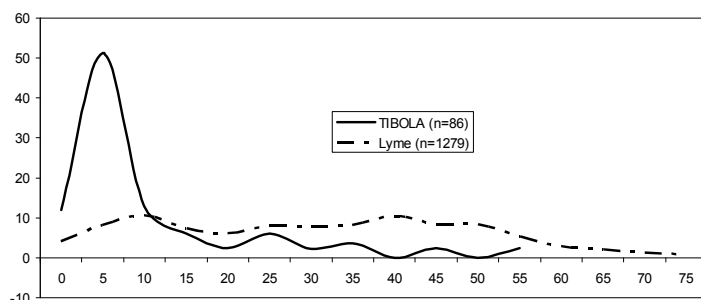
A szezonális eloszlás is jelentősen különbözik a TIBOLA és a Lb esetében ($p<0.001$, $\chi^2=42.4$, d.f=10). A TIBOLA a hűvösebb hónapokban gyakoribb, szezonaritása bimodális (III/2. ábra).

dc_164_11



III/2. ábra. 1996. március és 2000. december között észlelt TIBOLA és Lyme betegek alapján bemutatott szezonális eloszlás.

Az átlagéletkor TIBOLÁ-ban 12.6 év (2-57) szignifikánsan alacsonyabb volt ($p < 0.001$, $\chi^2 = 56.7$, d.f.=8), mint a Lb-ban (35.3 év – III/3. ábra). A TIBOLÁ-ban női dominanciát észleltünk (fffi/nő arány=0,72), míg Lb-ban ez 0.84 volt, de a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns ($p > 0.1$, $\chi^2 = 0.47$).



III/3. ábra. 1996. március és 2000. december között észlelt TIBOLA és Lyme betegek életkori megoszlása

A betegek többsége (83 - 96.5%) a kullancscsípést a hajás fejbőrön észlelte, és mindössze egy a lábán, másik kettő a törzsén. Az átlagos lappangási idő 9 nap (1-55 nap; SD: 9.9) volt. A tapintható nyirokcsomók száma 1-20-ig terjedt, átmérőjük elérte az 5 cm-t. Kivételesen az egész nyakat deformáló hatalmas nyirokcsomó-pakettet is láttam (III/4-5. ábra).



III/5. ábra. A fejbiccentő izom mögött a nyakat deformáló, hatalmas nyirokcsomó-duzzanat



III/5. ábra. A fül mögött gyakran látunk mogyorónyi nyirokcsomókat.

Típusos eschart láttam 70 betegben (81%), és ez volt az első tünet 33 (38%) esetben. (III/6. ábra).



III/6. ábra. A bal oldali képen vastag pörkkel fedett florid eschar, középen kezdődő eschar mellett a nyakon messziről is látható, a fejbiccentő izom mögött elhelyezkedő nyirokcsomó-duzzanattal. A jobb oldali képen leváló félben lévő pörk, gyógyuló eschar, körülötte már látható a jellegzetes alopecia.

Az eschar a szakállban, sőt néha a szemöldökön is kialakulhat (III/7. ábra).



III/7. ábra. Eschar a szakállban.

Az eschar kis papula, majd vesicula formájában kezdődik, ezt követően egy 5-10 mm átmérőjű necrosisban folytatódik, amiből mézszerű váladékozás indult meg 13 (15%) betegben. Három ízben haemangioma-szerű, vérerekkel átszőtt 1-2 cm-es duzzanat fejlődött, amit két ízben bőrgyógyász először haemangiosarcomának véleményezett (III/8. ábra).



III/8. ábra. Bacillaris angiomatosis (bakteriális neoangiogenesis) TIBOLÁ-ban haemangiosarcoma gyanúját keltheti.

A többi betegnél is kialakult egy duzzanat, felette kis pörkkel, de komoly fekély, váladékozás ezt az elváltozást nem kísérte. A betegek kisebb része (n=36) mérte meg a hőmérsékletét, 11-nek volt hőemelkedése, 13-nak láza. A láz csak 1-2 napig tartott, és még a kezeletlen esetekben sem tartott egy hétnél tovább. A betegek közel fele (41/86) említett myalgia, arthralgia, veritékezést vagy fejfájást. A csípés (eschar) helyén hetek vagy hónapok múlva láttunk helyi, 0,5-3 cm-es alopeciát a követett betegek kisebbik felében (30/76 – 39.5% - III/9. ábra). Az

alopecia néha még évek múlva is megmaradt (III/10. ábra), de volt, hogy csak hónapokig látszott.



III/9. ábra. Frissen kialakult alopecia a pörk leválása után.



III/10. ábra. Az alopecia évekig megmaradhat, így még utólagosan is kórismézhető a fertőzés.

III/2.2.2. Laboratóriumi leletek

Három betegben találtunk gyorsult süllyedést (30, 55 és 78 mm/h), 3 másiknak volt emelkedett fehérvérsejtszáma (9.1, 12.0 and 12.1 G/l), 2 betegnek mérsékelt leukopéniája (4.1 és 4.6 G/l). Két betegnek volt relatív monocytosisa (10% és 17%). Egy betegnek volt kóros máj-

funkciós lelete: GOT (100 U/l), GPT (48 U/l), gGT (367 U/l), az ő vizsgálatakor mérsékelt hepatomegaliát találtam, ami két hét alatt elmúlt. *Staphylococcus aureus* sikertelenül izolálni az escharból, 2 ízben abból a 7 betegből, akinél történt bakteriológiai leoltás. Gombatenyésztés negatív eredménnyel zárult mindhárom esetben, ahol történt ez irányú vizsgálat.

A 73 vizsgált betegből csak 19 (26%) volt pozitív *R. slovaca* immunoblotban. (Az antigént D. Raoult bocsátotta rendelkezésemre, ezúton is köszönöm.) Csak IgM-ben volt pozitív 2 beteg, 3 IgM-ben és IgG-ben is, a többi 14 csak IgG-ben. Csupán 2/55 (4%) kor és nem szerint válogatott kontrollban találtunk IgG-pozitív reakciót, de az IgM mindegyikükben negatív volt. Mindkét pozitív leletű kontroll páciensnek évente 40-nél több kullancscsípése volt az előző időkben. Valamennyi betegben a *R. slovaca*-val szemben volt a legintenzívebb válasza a kereszt-abszorpciós tesztekben, ahol egyéb Rickettsiákkal végeztünk kimerítést. Egyik betegünk sem volt pozitív Bartonella, tularaemia, és HGE szerológiákban. Borrelia szerológia 8 (9%) esetben volt pozitív. Egyiküknek típusos EM-a volt egy évvel a TIBOLA fertőzés előtt. Másik két páciensnek EM-a is volt, az eschartól távol eső területen. Mindkettőben Borrelia IgM anti-testválaszt mutattam ki. Másik két betegben, akinek nem volt sem az előzményben, sem a megjelenéskor Lb-ra utaló klinikai tünete, pozitív szerológiai reakciója az első vizsgálatkor, és később, az összehasonlító elemzés (COMPASS) során szeroprogrediációt észleltünk. (Ők nem részesültek kezelésben addig, amíg nem derült ki a szeroprogrediáció.) Nem találtunk összefüggést a Borrelia szeropozitivitás és a TIBOLA-ra utaló tünetek, különösen az eschart övező erythema között. Az EBV és CMV irányában 6 esetben végzett szerológiai leletek negatívak lettek.

PCR pozitív eredmény született 10/13 (77%) vizsgált esetben. Vékonytű nyirokcsomó-biopsziával nyert anyagból 6/10 (60%) mutattunk ki *R. slovaca*-t, 2/9 (22%) esetben a vérből, 2/4 (50%) ízben az escharból vett bőrbíopsziás mintából, és 1/2 (50%) az eschar felszínéről, a pörkből.

III/2.2.3. Az antibiotikum-kezelés hatása

A kezdetektől fogva világos volt, hogy a TIBOLA jóindulatú, spontán gyógyhajlamot mutató fertőzés. Emiatt utóbb már csak azokat kezeltem, akiknek komoly panaszokat okozó, és főleg progresszív tünetei voltak. A spontán gyógyhajlamot mutató 14 beteget nem kezeltem. Mire hozzám kerültek a betegek, sokukat kezelték antibiotikumokkal a kollégák, 25-en kaptak egy-nél több antibiotikumot, egyikük 7 (!) készítményt is. Az átlagos kezelési idő 21 (5-60) nap volt. Kezdetben úgy láttam, hogy az azithromycin megrövidíti a betegség lefolyását, de két

dc_164_11

esetben a kezelés ellenére a tünetek progrediáltak. Ezt követően amoxicillin + clavulansav hatékonyságát vizsgáltam. Az első megfigyelések biztatónak tűntek, de két betegben a kezelés ellenére a tünetek progrediáltak. Ezután 16 betegben a doxycyclinnel próbálkoztam, és látványos javulást tapasztaltam 12 ízben. Igen látványos javulást láttam abban a két betegben, akiket chloramphenicolal kezeltem, ők 5 nap alatt meggyógyultak (III/1. táblázat).

Antibiotikum-kezelés	Betegek száma	gyógytartam napokban,tól-ig	gyógytartam (napok - átlag)
semmi	14	12-180	62
azithromycin vagy co-amoxiclav.	18	6-210	61
doxycyclin	16	10-138	50
chloramphenicol	2	4-6	5
Többszörös kezelés	25		
Nincs adat	11		

III/1. táblázat. Antibiotikum-kezelés és a betegség tartama

III/3. A ló kontaktus szerepe a TIBOLÁ-ban

III/3.1. Bevezetés

A TIBOLA epidemiológiai és klinikai tüneteit 2002-ben összegeztem 86 beteg adatai alapján (Lakos, 2002). Azóta megerősítést nyert, hogy a betegséget *R. slovaca* okozza, hiszen sok esetben sikerült PCR-rel kimutatni bőrből, vérből, nyirokcsomóból és kullancsokból is (Raoult et al., 2002). A *R. slovaca* egy intracellularis, a foltosláz csoportba (SFG) tartozó baktérium, amit néhány esetben nemcsak *Dermacentor marginatus*, hanem néhány európai területről *D. reticulatus* kullancsokból is tudtak izolálni (Fernández-Soto et al., 2006). Mindkét faj gyakran megtalálható lovakon is (Arthur, 1960) és néha megtámad embereket is (Fernández-Soto et al., 2006). Az évek során világossá vált, hogy a TIBOLA betegek többsége a fertőződés idején találkozott lovakkal. Az alábbiakban beszámolok a ló kontaktus vizsgálatáról.

III/3.2. Betegek és Módszerek

Az első, jól dokumentált, de akkor (1988) még nem diagnosztizált beteggel együtt ennek a vizsgálatnak a kezdetéig (2010.) 202 TIBOLA beteget diagnosztizáltam a már korábban leírt tünetek alapján: fekete eschar (“tache noire”) a kullancscsípés helyén és megnagyobbodott (>1 cm³) nyirokcsomók a tarkóján és/vagy a nyakon az eschar nyirokelvezetési régiójában. A betegeket a Kullancsbetegségek Ambulanciáján, ill. elődjén, még a László kórházi Lyme Ambulancián kórisméztem. Az Ambulancián évente 2500-3000 beteget látunk, a budapesti elhelyezkedésnek is köszönhetően az egész országból. A betegek többsége orvosai tanácsára keresi fel az intézményt, de saját elhatározásból is érkeznek, ha kullancs által terjesztett fertőzés gyanúja merül fel bennük. Egymást követő, válogatás nélkül érkező Lb-ra vagy TIBOLÁ-ra típusos betegek adatait gyűjtöttem prospektíve 2007. március és 2010. január között. Minden betegnek ugyanazt a kérdést tettem fel: - “Találkozott-e lovakkal abban az időben, amikor a kullancscsípés érte?” - “Amennyiben nem vett észre kullancscsípést, a tünetek kezdetét megelőző 2 hónapban találkozott-e lovakkal?” Két beteg kivételével minden esetben a klinikai tünetek alapján állapítottam meg a diagnózist. Két arcideg-bénulásos beteg kórisméjét az intrathecalis *Borrelia* antitest-termelés kimutatásával (Lakos et al., 2005) igazoltam. Összesen 855 beteg adatait dolgoztam fel: 50 TIBOLA betegre 805 Lb jutott.

III/3.2.1. Szerológia

Három kivétellel valamennyi TIBOLA esetén végeztem *Rickettsia conorii* IgM és IgG antitest-meghatározást (Vircell ELISA). (Három gyermek szülei nem egyeztek bele a vérvételbe.) A szerológiai progressziót vagy regressziót önkényes definíció szerint akkor állapítottam meg, ha az akut és a rekonvaleszcens minták közötti különbség elérte a gyárilag mellékelt erősen pozitív minta extinkciójának legalább 10%-át. A savópárokat mindig párhuzamosan vizsgáltam. Korábbi vizsgálataim alapján a gyárilag megadott cut-off megfelelt 100 egészséges véradó 98-as percentilisének IgG-ben, míg az IgM specificitása 100%-os volt. Valamennyi *Rickettsia* antitestre vizsgált páciens savóit megvizsgáltam Bb IgM és IgG irányában is a házi fejlesztésű ACA1 alapú WB-tal. A savópárokat itt is mindig párhuzamosan vizsgáltam.

III/3.2.2. Kullancsok

A TIBOLA betegek egy része megőrizte a kullancsát (N=16), ebben a tanulmányban csak ezekkel (a Lb betegek kullancsaival nem) foglalkozom. A fajmeghatározást Földvári Gábor végezte a sztereo mikroszkóp alatt megfigyelt morfológiai jegyek alapján kullancshatározók (Hillyard, 1996; Estrada-Peña, 2004) segítségével.

III/3.2.3. Földrajzi elterjedés

A kullancscsípések földrajzi helyét rögzítettem. A helymeghatározáshoz egy autós térkép felosztását használtam (Magyarország térképe, Kartográfiai Vállalat, 1991). A térkép 89 közel négyzet alakú területre osztja Magyarországot.

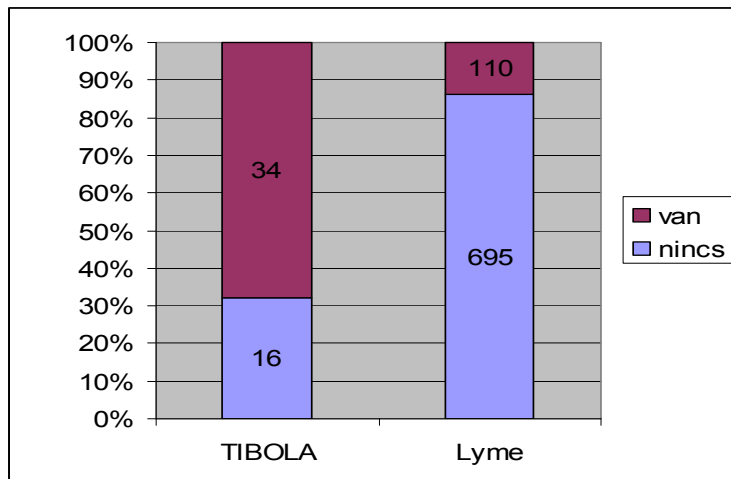
III/3.2.4. Elemzések

A TIBOLA relatív kockázatát vizsgáltam a kor, a nem, a kullancscsípés földrajzi helye, és a ló kontaktus szempontjából. Fisher exact tesztet számoltunk. (A statisztikai elemzést Kőrösi Ádám végezte.) A fertőzés területi megoszlásán kívül, a három másik változó (kor, nem, ló kontaktus) szignifikánsan befolyásolta a TIBOLA relatív kockázatát.

III/3.3. Eredmények

III/3.3.1. Ló kontaktus

A TIBOLA szignifikánsan gyakoribb volt a ló kontaktusról beszámoló páciensek ($OR=13.35$, $p<<0.001$) és a nők között ($OR=3.99$, $p<<0.001$) is (III/12. ábra és III/2-3. táblázat).



III/12. ábra. Ló kontaktus aránya a TIBOLA és a Lb betegek között

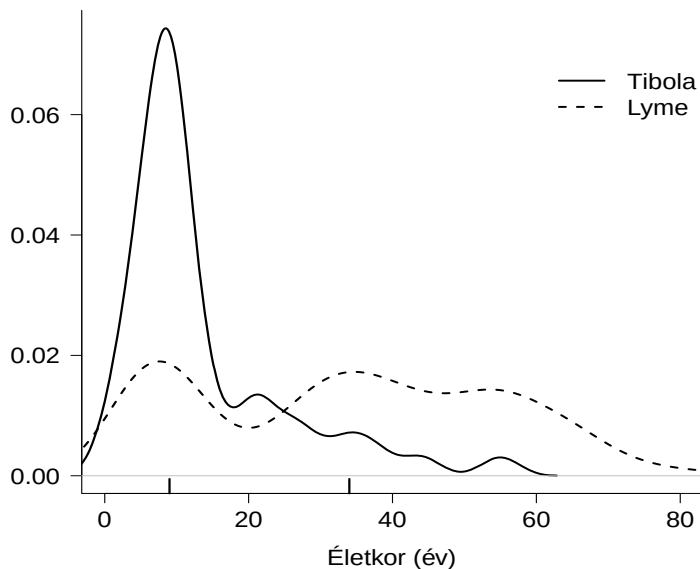
Esetszám		
	TIBOLA	Lyme
Férfi	9	376
Nő	41	429

III/2. táblázat. TIBOLA és Lb esetszám nemek szerint

	Ló kontaktus	
	Nincs	Van
Férfi	332	53
Nő	379	91

III/3. táblázat. Ló kontaktus nemek szerinti bontásban

A kormegoszlás is szignifikánsan eltért a TIBOLA és a Lyme betegek között, ugyanúgy, ahogy azt korábban, a mostanítól független populációban is láttam (III/13. ábra).



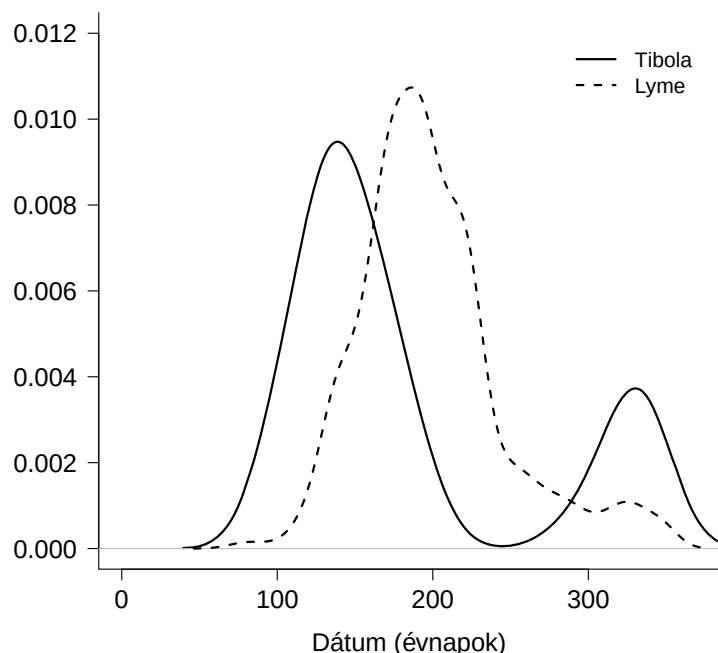
III/13. ábra. A két betegség kormegoszlása. Az x tengelyen elhelyezett jelek mutatják a megfelelő mediánokat (TIBOLA: 9 év, Lyme: 34 év). Kolmogorov-Szmirnov teszt a két eloszlás között erősen szignifikáns különbséget mutat ($D=0.519$, $p<<0.001$). (Kőrösi Ádám ábrája.)

A 20 év alattiak kockázata TIBOLÁ-ra sokkal nagyobb volt, mint az idősebbeké. Az életkor minden éve 6%-kal csökkentette a TIBOLA kockázatát. A Lb-ban nincs ilyen eltérés a kormegoszlás vonatkozásában. Különbséget találtunk azonban a nemek szerinti kormegoszlásban is. A nők idősebbek voltak: 34.86 év, szemben a férfiak 29.55 évével ($F_{1,853}=13.63$, $p<<0.001$).

A nők valamivel gyakrabban találkoztak lovakkal ($OR=1,503$, $p=0.035$). A ló kontaktust említő páciensek viszont fiatalabbak voltak ($F_{1,853}=26.62$, $p<<0.001$) átlagos életkoruk 24.32, a többieké 34.12 év volt.

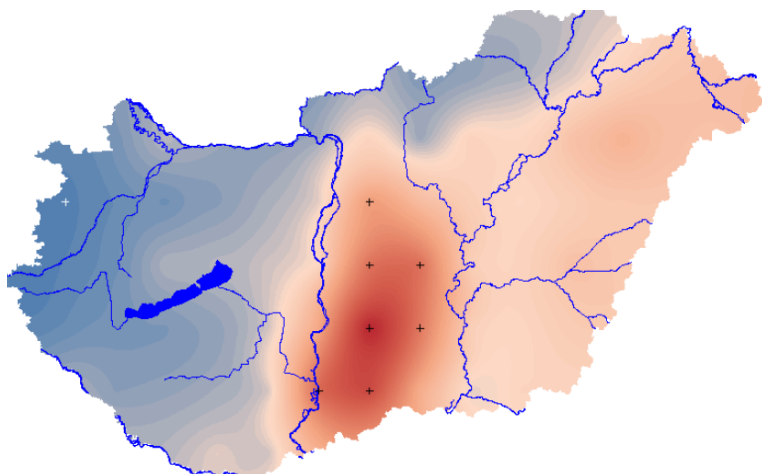
III/3.3.2. Egyéb epidemiológiai adatok

Ebben a mostani, a korábbi adatbázistól teljesen független populációban a korábban közölt (Lakos, 2002) adatokkal csaknem teljesen egyező, a két betegségben jelentősen eltérő szezonalitást találtunk. A TIBOLA bimodális szezonalitású, májusi és novemberi csúccsal, míg a Lb unimodális, júniusi csúccsal, bár egy kis emelkedés, 2. csúcs itt is megfigyelhető késő ősszel. (III/14. ábra)



III/14. ábra. A kullancscsípések ideje alapján rajzolt görbék. A TIBOLA mediánja az év 153. napja, a Lb-é a 192 nap. A Kolmogorov-Szmirnov teszt szignifikáns különbséget mutat a két eloszlás között ($D=0.435$, $p<<0.001$). (Kőrösi Ádám ábrája.)

Ebben a mostani adatbázisban, a korábbihoz képest alacsonyabb elemszámú tanulmányban nem tudtam a földrajzi megoszlásban eltérést kimutatni, de, ha az összesített (TIBOLA $N=170$; Lb $N=4071$) adatokat vizsgáljuk, akkor azt találjuk, hogy a Duna-Tisza közén a két kórképet egymáshoz viszonyítva szignifikánsan gyakoribb a TIBOLA, míg az északnyugati határszélen a Lb (III/15 ábra).



III/15. ábra. A TIBOLA (vörös, N=170) és a Lyme betegség (kék, N=4071) földrajzi eloszlása Magyarországon az azonos időszakban, 1996. januártól 2008. decemberig megjelent valamennyi beteg alapján, aki tudta, hogy mely területen érte a kullancscsípés. Az ország területét 89, közel négyzet alakú régióra osztottuk, és területenként megvizsgáltuk a két betegség előfordulását. A keresztek mutatják, ahol szignifikáns különbséget találtunk. Látszik, hogy a Duna-Tisza közén relatíve több a TIBOLA, mint a Lb, de ez jórészt abból adódik, hogy ezen a területen sokkal ritkább a Lb. (Solymosi Norbert ábrája.)

III/3.3.3. Kullancsok

Tizenhat TIBOLÁ-s őrizte meg a kullancsát. Többségük *D. marginatus*-nak bizonyult, közülük 9 volt nőstény és egy hím, míg 5 nőstényt és 1 hímét *D. reticulatus*-nak határoztunk meg. A kullancsok Rickettsia PCR vizsgálata még nem fejeződött be.

III/3.3.4. Szerológia

R. conorii antitestet 23/47 (49%) ízben mutattunk ki. IgG és IgM együttes antitesteket 4 TIBOLA betegben találtam, 10 csak IgM és 9 Csak IgG reakcióban volt pozitív. Ebből a 23 pozitív betegből 8 esetben szerokonverziót, 14 további esetben szeroprogressziót vagy regressziót láttunk a kontrollvizsgálatok során. A TIBOLA betegek nagyobbik felében (24 eset, 51%) negatív eredményt kaptam, de 3 kivétellel, a negatív esetekben nem volt mód második vérminta vételére. A negatív és a pozitív lelettel rendelkező betegek között nem tudtunk ki-mutatni semmilyen különbséget (az adatokat és számításokat itt most nem közlöm).

Bb antitesteket 4 betegben találtam, 2 közülük szerokonverziót mutatott. Sem a tünetekben, sem a gyógyhajlamban nem találtam eltérést ezekben a feltételezhetően kettős fertőzést el-szenvedő betegekben.

III/3.4. Megbeszélés

Közismert, hogy a kullancsok számos zoonózist terjesztenek. Európában sokáig csak a kullancsencephalitistről tudtunk, a Q-láz vagy a mediterrán foltos láz és a tularaemia alárendelt jelentőségű volt, a hazai orvostársadalomban sokak számára ezek ma is egzotikus betegségeknek számítanak. Gyökeres fordulatot jelentett a Lyme-kór felfedezése, hiszen hamar kiderült, hogy a betegség Európában is honos, sőt Magyarország talán a világ egyik legfertőzöttebb területén fekszik (Lakos et al., 1985; Lakos, 1996). Ennek felismerése után hoztam létre a Lyme Ambulanciát, majd a Kullancsbetegségek Ambulanciáját, amely rendkívüli forgalmat bonyolított le, kullancscsípett emberek ezrei jelentkeztek vizsgálatra. Az évek során több olyan tünetegyüttes is körvonalazódott, amelyekről könnyű volt bizonyítani, hogy az eddig ismert fertőzésekbe nem illeszthetők be, de nyilvánvalóan kullancscsípés következtében alakultak ki. Ezek egyike volt a TIBOLA, amelynek leírását késleltette az a félrevezető tény, hogy a betegség főleg gyermekkorban fordul elő és szinte mindig a hajas fejbőrön észlelt kullancscsípés után jelentkezik. Logikus volt feltételezni, hogy a hajas fejbőr szennyezettebb és a felülfertőződés kockázata így sokkal nagyobb. Gyermekes esetekben sokkal gyakoribb a kullancscsípés a fejen, mint a test egyéb részein, szemben a felnőttekkel, ahol az arány fordított (I/9. ábra). Az új, kullancs által terjesztett betegség tünetei meglehetősen egyformák, a betegek alig mutatnak eltérést egymástól, jellemzően a hajas fejbőrön, a kullancscsípés helyén egy fekete escharból (“tache noire”) s a körülötte kialakuló, többnyire szokatlanul terjedelmes, kezdetben mérsékelten fájdalmas nyirokcsomó-duzzanatból állnak. Ez utóbbi inspirálta, hogy a betegséget TIBOLÁ-nak (tick-borne lymphadenopathynak) nevezzem el. Az eschar körül néha látható ugyan erythema, azonban ez finomabb, rajzos szerkezetű, könnyen elkülöníthető az EM-től. A nyirokcsomó-duzzanat a kezeletlen esetekben hónapokig, néha évekig is fennáll, ritkábban az eschar is idült lefolyású. A betegség felismerését késleltette, hogy kezdetben azt gondoltam, hogy a tünetek a kullancscsípés után kialakuló másodlagos fertőzés következményei. Ezt a feltételezést látszott megerősíteni, hogy egyes antibiotikumok lerövidítették a gyógyulást, és volt, hogy gennykeltőket tenyésztettünk ki az eschar területéből. A gennykeltő etiológia ellen szólt, hogy a betegek többségében, a hatalmas nyirokcsomó-duzzanatok ellenére alig volt láz. A felülfertőzés ellen szólt még, hogy az első betegeim egy viszonylag szűk földrajzi területen akvirálták infekciójukat. Az adatok pontosabb gyűjtésére a human granulocytás ehrlichiosis 1994-es leírása ösztönzött (Bakken et al., 1994). Ezért 1996-ban végre elhatároztam, hogy prospektíve gyűjtöm az adatokat, hiszen gyanítható, hogy az újabb rickettsiosisok felfedezésével még nem zárult le a sor, további kullancs által terjesztett fertő-

zések leírására lehet számítani. A hosszú inkubációs idő, a nyirokcsomó-duzzanatok hosszadalmas gyógyulása, valamint a klinikai kép uniformitása alapján egyre valószínűbbnek tartottam, hogy egy új, krónikus, de jóindulatú fertőzés okozta entitásról van szó, amit TIBOLÁ-nak neveztem el. A *Rickettsia* etiológiát támogatta az eschar megjelenése, és a doxycyclin-kezelés sikere, illetve a ritkán alkalmazott chloramphenicol látványos hatása. A csípés helyén kialakuló fekete eschar jellegzetes a SFG Rickettsiákra. A bozótláznak, melyet a Rickettsiák közé sorolt *Orienta tsutsugamushi* okoz, és atkák terjesztenek, ugyancsak jellemzője az eschar, de nem társul hozzá nyirokcsomó-duzzanat. Akkortájt láttam az első afrikai kullancslázban szenvedő, a (*Rickettsia africae*) fertőzést Dél-Afrikában akviráló beteget. Az *Ornithodoros* kullancs csípése helyén ugyanolyan escharja volt, mint a mi TIBOLÁ-s betegeinknek (III/11. ábra).



III/11. ábra Eschar egy Dél-Afrikából hazatért lázas betegen. *R. africae* okozta afrikai kullancsláz.

Három betegben láttam bacillaris angiomatosiszt, amit addig csak a Rickettsiákkal rokon *Bartonella*-fertőzések esetében írtak le. Ilyen például a *B. bacilliformis* okozta verruga peruviana. Újabban a *B. henselae* okozta folyamatokat is gyakrabban látják, főleg AIDS betegekben (Florin et al., 2008).

A TIBOLA leírását végső soron egy rövid közlés ösztönözte (Raoult et al., 1997). A Lancetben levélként megjelent írásban egyetlen beteget mutatnak be, a tünetekről csak vázlatosan esik szó, a fényképfelvételen alig látszik valami, de ez az általam ismert képhez hasonlított. Kórokozóként a *Rickettsia slovaca*-t izolálták és vektorként a *Dermacentor marginatus* kullancsfajt jelölték meg. Ez adja a magyarázatot az eddig megválaszolatlan kérdésekre! A *Dermacentor* sokkal válogatosabb, mint a Lyme-kór vagy a kullancsencephalitis terjesztéséért felelős *Ixodes ricinus*. Embereket sokkal ritkábban támad meg, csak a szőrös állatokat kedveli. Tekintve, hogy a gyermekeket gyakrabban csípi a fejükön a kullancs, szőrrel fedett terüle-

tet a *Dermacentor* gyorsabban talál náluk, mint a felnőttek esetében, mivel 60-100 cm magasságban vadászik (Mejlon et al., 1997). Így lett világos, hogy a több beteg által is említett „szokatlanul nagy” kullancs nem a szívott állapotot jelöli, hanem valóban egy nagyobb testű kullancsról, a *Dermacentor*orról lehet szó. Az eltérő vektor megmagyarázza az eltérő szezonalitást is. A kórokozó tisztázása Raoult nevéhez fűződik (Raoult et al., 1997). Később a közös tanulmányunkban szereplő 67 betegből 17 (25%) ízben sikerült PCR-rel a kórokozót kimutatni. A *R. slovaca*t 30 éve fedezték fel (Rehacek, 1984), de az intenzív vizsgálatok ellenére (Rehacek, 1993) kórokozó szerepe a legutóbbi időkig tisztázatlan maradt. Nem kérdés, hogy a franciák által leírt betegnek TIBOLÁ-ja volt, de az esetismertetésből a betegség klinikai tünetei még nem derülhettek ki. Valószínű, hogy a sok évvel korábban leírt cseh encephalitises beteg tüneteit is a TIBOLA okozta (Mittermayer et al., 1980). Egy korábbi tanulmányunkban 98/472 (20.7%) TIBOLA endémiás területeken gyűjtött *Dermacentor marginatus* kullancsban mutattunk ki Rickettsiákat, ezek 2/3-a SFG, valószínűleg *R. slovaca* volt, bár pontos fajmeghatározásra nem volt mód (Rehacek et al., 1998). A 73 *R. slovaca* immunoblotban megvizsgált betegeink mindössze 26%-a adott pozitív reakciót, míg az illesztett kontrollokból 2/55 (3,6%). Mindkét pozitív reakciót adó kontroll páciensnek többször volt korábban már kullancscsípése. A viszonylag specifikus szerológiánk szenzitivitása alacsony volt. Úgy látszott, a rövidebb ideje fennálló és/vagy enyhe tünetekkel jelentkező betegek gyakrabban voltak negatívak, bár statisztikailag ezt nem tudtuk alátámasztani. A PCR a szerológiánál megbízhatóbbnak bizonyult egyéb Rickettsia fertőzésekben is (Nilsson et al., 1999; Zavala-Velazquez et al., 2000).

Az eredményeink alapján egyértelmű, hogy a ló kontaktus fontos kockázati tényező a TIBOLA szempontjából, hiszen a betegek több mint 2/3-a említette. A legtöbben közvetlen érintkezésről számoltak be, de kontaktust említők között azok is szerepelnek, akik csak lovardában jártak, vagy a lovasok által használt kifutón közlekedtek, vagy a közvetlen lakókörnyezetükben tartottak lovakat. Az Ambulancián azonos időben észlelt másik, hazánkban gyakori kullancs által terjesztett Lb esetek adatait használtam kontrollként. Ily módon elkerültem azt a hibát, amit az Ambulancia földrajzi helyzete, vagy a magánrendelő pénzügyi feltételei okozhatnának egyéb kontrollok esetén: mindkét betegcsoport egyforma eséllyel kereste fel a vizsgálóhelyet. A ló kontaktus 13-szorosára növelte a TIBOLA kockázatát, de a női nem és a fiatalabb életkor is jelentős kockázatonövelő tényező, ráadásul ezek egymást is erősítő tényezők. A nők gyakrabban lovagoltak, akárcsak a fiatalabbak. A pályamunkában nem részletezett statisztikai számítások (többváltozós lineáris regressziós modell) szerint a ló kontaktus erőtel-

jesebben növelte a TIBOLA kockázatát a nőkben, mint a férfiakban. Hasonló interakció figyelhető meg a kor és a ló kontaktus között; az idősebb TIBOLÁ-sok mindegyike lovagolt.

Ismert, hogy a *D. marginatus* és a *D. reticulatus* nagy számban megtalálható lovakon (Janisch, 1959; Arthur, 1960), de eddig még nem derült ki, hogy a ló kontaktus növelte volna a TIBOLA kockázatát. További vizsgálatokat igényelne, hogy kiderítsük, van-e lovaknak a *R. slovaca* vonatkozásában rezervoár szerepe. Arról sem tudni, okoz-e valamilyen tünetet lovakban ez a baktérium. A *Demacentor* kullancsok a legnagyobb testű kullancsok a mi régiókban, átmérőjük éhesen is átlagosan 5.4 mm, és 15 mm teljesen megszívott állapotban (Hillyard, 1996). Janisch (Janisch, 1959) hangsúlyozta, hogy a legtöbb *Demacentor* a lovak sörényében és a farokrépán található. Ez adhatja a magyarázatát, hogy a jellegzetes eschar a TIBOLÁ-ban szinte mindig a hajas fejbőrön vagy a szakállban, és többnyire a hosszú hajú lányok vagy fiúk fején található. Ezzel függhet össze a női predominancia is, az erősebb, nagyobb szőrzet jobb menedéket nyújt e szokatlanul nagytestű kullancsok számára. A gyermekek predominanciája annak lehet a következménye, hogy a gyermekeket gyakrabban érik a fejen a kullancscsípések, mint a felnőtteken (Lakos és Nagy, 2000). Az iménti tényezők, tehát a dús, hosszú haj, a fiatalabb életkor, melyek növelik a fejen történő kullancscsípés kockázatát, a hidegebb hónapokban történő kullancscsípés, valamint a ló kontaktus egyértelműen növelik a TIBOLA kockázatát. A mostani, a korábbiól teljesen független adatbázisból számolt epidemiológiai feldolgozásunk a szezonáltságban, életkorban, nemek szerinti megoszlásban a korábbival tökéletesen egyező adatokat eredményezett. A nemek (Ibarra et al., 2006) és a kor (Porta et al., 2008) megoszlását hasonlóan találták később mások is, de a ló kontaktus szerepére rajtam kívül még más nem figyelt fel.

A xerophil *D. marginatus* és *D. reticulatus* fajok a nedvességkedvelő Ixodesekhez viszonyítva a hűvösebb és szárazabb éghajlaton is aktívak és gyakoribbak a réteken, mint az erdőkben (Estrada-Peña et al., 2004). Ennek köszönhető, hogyha nagyobb csoporton vizsgáljuk (N=187) a TIBOLA a Lb-hoz viszonyítva inkább az alföldi területeken gyakori, különösen a Duna-Tisza közén (Lakos et al., 2009).

A legtöbb TIBOLA beteget Magyarországon és Franciaországban diagnosztizáltuk (Lakos, 2002; Raoult, et al., 2002), sok esetet publikáltak még Spanyolországból (Oteo et al., 2004; Porta et al., 2008), és jártak az Ambulancián, akik Ausztriában, Szlovákiában, Csehországban, Romániában, Szlovéniában vagy Olaszországban fertőződtek. Esetismertetéseket közöltek Bulgáriából, Olaszországból és Németországból is (Komitova et al., 2003; Selmi et al., 2008;

Rieg et al., 2011). Eddig még nem észleltünk és nem közöltek eseteket Ukrajnából, Horvátországból és Szerbiából.

A TIBOLA klinikai tünetei (eschar és nyirokcsomó-duzzanatok) annyira jellegzetesek, mint a Lb-ban az EM, így szerológiai megerősítésre nincs szükség. Az eddig alkalmazott szerológiák érzékenysége még távolról sem közelítette meg a 100%-ot (Raoult et al., 2002). Korábban próbálkoztam házilag gyártott indirekt immunfluoreszcens teszttel és immunoblottal (a *R. slovacae* antigént Didier Raoulttól kaptam, ezúton is köszönöm). Mindkettő nagyon bizonytalannak mutatkozott, nehéz volt az eljárást standardizálni és az eredményeket nem mindig sikerült reprodukálni. Kipróbáltam kereskedelmi forgalomban kapható *R. slovacae* ELISÁ-kat, de sem a szenzitivitást, sem a specificitást nem találtam megfelelőnek. Kihasználva, hogy az SFG Rickettsiák között intenzív a keresztreakció, *R. conorii* ELISA tesztet kezdtem használni, meglepő módon ez sokkal jobb szenzitivitási/specificitási tulajdonságokat mutatott. A legtöbb olyan esetben, akiknek volt akut és rekonvaleszcens savójuk, a *R. conorii* ELISA teszt egyértelmű bizonyítékot szolgáltatott, hogy a beteg SFG Rickettsia fertőzésen esett át. Bár egyéb SFG Rickettsiákat is kimutattak hazai kullancsokból (Sréter-Lancz et al., 2006; Hornok et al., 2010), nincs adatunk emberi megbetegedésekről. A *R. conorii* antitest-vizsgálatok a TIBOLA alátámasztására épp azért látszanak használhatónak, mert nálunk a leggyakoribb kórokozó a *R. slovacae*, viszont a *R. conorii* nem fordul elő. Ez utóbbi antigén alkalmazásával ki lehet használni az intenzív keresztreakciót, ami az SFG Rickettsiák körében közismert. A *R. conorii* ELISA tesztet 100%-ban specifikusnak találtam 200 egészséges véradó vizsgálatának alapján. Különösen a friss fertőzések és enyhe tünetek esetén a szerológiai tesztek alapvetően érzéketlenek. Ez magyarázható azzal is, hogy a TIBOLA gyakran egy lokalizált fertőzés, ellentétben a többi SFG Rickettsia fertőzéssel. A rekonvaleszcens savók vizsgálatával javíthatjuk a szerológia érzékenységét. PCR technikák alkalmasabbnak tűnnek a diagnózis alátámasztására, bár többnyire bőr- vagy nyirokcsomó-biopsziát, tehát invázív beavatkozást igényelnek. A kezdeti próbálkozások után ezeket a vizsgálatokat etikai okokból nem folytattuk. Úgy tudom, ez az első közlés, amiben kettős (Bb és Rickettsia) fertőzésről számoltak be.

Sok kullancsot megőriztek a Lb betegek is, ezek egyike sem volt *Dermacentor*, még azokban az esetekben sem, ahol ló kontaktus szerepelt az előzményben. A TIBOLA betegek által összegyűjtött 16 kullancs 2 kivétellel mind nőstény volt. Tíz volt *D. marginatus*; 6 pedig *D. reticulatus*. A klinikai tünetekben nem találtam különbséget aszerint, hogy mely species okozta a fertőzést. A *D. reticulatus* viszonylag nagy száma némileg meglepő, hiszen a legtöbb

tanulmányban többnyire csak *D. marginatus*-ról tesznek említést (Oteo et al., 2004; Ibarra et al., 2006). Egy korábbi francia-magyar tanulmányban 3 kullancsot sikerült meghatározni, egyikük *D. reticulatus*, a másik kettő *D. marginatus* volt. (Raoult et al., 2002). Újabb tanulmányokban, bár kisebb számban, de a TIBOLA okozójaként egyéb Rickettsia fajok is szerepelnek, így az újonnan felfedezett *R. raoultii* és a *R. rioja*. De ezekben a közleményekben sem fordult elő *D. reticulatus* (Parola et al., 2009; Pérez-Pérez et al., 2010). A jelen munka az első, ami arra utal, hogy a *D. reticulatus* valószínűleg hasonló gyakorisággal terjeszti a TIBOLA kórokozóját, mint a *D. marginatus*. Az is újdonság, hogy valószínűleg a hím Dermacentorok is alkalmasak a fertőzés átvitelére. A hím Dermacentor kullancsok 3-4 napig szívnak, míg az Ixodes hímek csak 6-8 óráig (Babos, 1964), ez növelheti a patogének átvitelének lehetőségét. A kullancsok Rickettsia PCR vizsgálata jelenleg folyik.

III/5. Összefoglalás

A TIBOLÁ-val foglalkozó 3 klinikai-epidemiológiai tanulmányt azért ismertettem, mert be akartam mutatni a betegség felfedezésének a történetét, és az ismereteink alakulását azalatt a 15 év alatt, amióta gyűjtöm a betegek adatait. A TIBOLA eset-meghatározása a csaknem minden esetben a hajás fejbőrön lévő kullancscsípés helyén kialakuló jellegzetes lokális reakción (eschar, tache noire) és a környéki nyirokcsomók jelentős duzzanatán alapul. A helyi reakció napokkal vagy hetekkel a csípés után alakul ki, kis papulával vagy vesiculával indul, majd nekrotikus, néha intenzíven váladékozó fekélyé alakul, amit fekete pörk borít. Az elváltozás mérete nem haladja meg a 2 cm-t, szabályos kör alakú, kezelés nélkül akár egy évig, ritkán tovább is eltarthat, elmúlhat, majd recidiválhat. Úgy tudom, más még nem közölt bacillaris angiomatosiszt ebben a betegségben, én 3 ízben észleltem, bár a megjelent közleményben csak, mint heamangioma-szerű képletet említettem (Lakos, 2002). A lefolyás antibiotikumokkal lerövidíthető, különösen a doxycyclin látszik hatékonynak. A helyi reakció gyakran ujjbegynyi alopeciával gyógyul, ez olyan jellegzetes, hogy még évek múlva, utólag is megállapítható ebből a diagnózis. A TIBOLÁ-nak különleges az epidemiológiája, mint a gyermekkori és női predominancia, a bimodális szezonális. Legutóbb igazoltam még a ló kontaktus szerepét is. Elsőként észleltem, hogy a hím kullancsok valamint, hogy nemcsak a *D. marginatus*, hanem a *D. reticulatus* is fontos vektora a betegségnek.

IV. Felfedezések, felismerések, új megállapítások, tevékenységek, további kutató munka alapjai

Magyarországon 1984-ben elsőként, és Európában is az elsők között ismertem fel a Lyme borreliosisist.

Magyarországon elsőként, 1986-ban kezdtem meg a szerológiai vizsgálatokat Lyme borreliosis irányában.

Megalapítottam és felszereltem a László Kórházban a Lyme Ambulanciát és laboratóriumot.

Létrehoztam a magánpraxis keretében működő Kullancsbetegségek Ambulanciáját 1993-ban.

Leírtam a Lyme borreliosis legfontosabb tüneteit.

Felhívtam a figyelmet, hogy a progressiv chronicus neuroborreliosis összetéveszthető a sclerosis multiplexszel, azzal szemben azonban antibiotikumokkal jól gyógyítható.

Leírtam, hogy a recidiváló facialis paresis sohasem a Lyme borreliosis következménye, ellentétben a rövid idő alatt kétoldali válnakó folyamattal, ami viszont mindig Borrelia-fertőzések következménye.

Bemutattam, hogy az idült neuroborreliosisra egy jellegzetes memóriazavar és neuropathia jellemző.

Felhívtam a figyelmet, hogy a neuroborreliosis liquorképe összetéveszthető a meningitis basilaris tuberculosaéval.

Klinikai vizsgálatokat végeztem a Lyme borreliosisban használható antibiotikumokkal. Úgy találtam, hogy általában nincsenek nagy különbségek az egyes készítmények rövidtávon megítélhető hatékonyságában.

In vitro vizsgálatokkal bebizonyítottam, hogy a mások által javasolt kombinált antibiotikumkezelés inkább növeli a Borreliák túlélésnek valószínűségét, szinergetikus hatást nem találtam.

Az antibiotikum-érzékenység vizsgálatához – eltérően az általános gyakorlattal – nem a baktériumokat számoltam, hanem az általuk termelt tejsav mennyiségét, később a Borrelia-tenyészet pH-ját határoztam meg. Ez sokkal jobban reflektált a Borreliák életképességére, és így pontosabb eredményt adott. A vizsgálat sokkal egyszerűbbé, gyorsabbá és olcsóbbá vált.

Magyarországról elsőként közöltem a Lyme borreliosisról epidemiológiai adatokat.

A világon elsőként bizonyítottam be, hogy a kezeletlenül hagyott terhességi Lyme borreliosis a terhesség elvesztéséhez, vagy koraszüléshez vezethet, illetve, hogy egyéb magzati károsodásokat okozhat. Megállapítottam, hogy a szájon át adott antibiotikumok a károsodások kivédésére kevésbé alkalmasak, viszont a vénásan adott penicillin vagy a parenterálisan alkalmazott ceftriaxon teljes biztonságot nyújt.

Magyarországon elsőként izoláltam Borreliákat kullancsból, emberi liquor- és bőrbioptziás mintából. Erythema migransból nagyrészt *B. afzelii*-t, 8-8%-ban *B. burgdorferi sensu stricto*-t és *B. garinii*-t tenyésztettem ki.

A világon az elsők között izoláltam emberből egy újonnan felfedezett Lyme spirochaetát, a *Borrelia spielmanii*-t.

Az elsők között hívtam fel a figyelmet arra, hogy a különféle szerológiai eljárások jelentősen eltérő eredményeket adhatnak.

Magyarországon én vezettem be a Borrelia Western blot vizsgálatokat.

Kifejlesztettem egy nagy megbízhatóságú Borrelia Western blot kitet (Lakoblot Lyme). Az eljárás határértékeinek beállítását, a specifikus antitestek kiválasztását az eddig közölt legnagyobb klinikai minta alapján végeztem el.

Megoldottam a Western blot képek leolvasásának számítógépes automatizálását (automata immunoblot reader – AIR).

A világon elsőként jöttem rá, hogy az intrathecalis Borrelia antitesttermelést a korábbi módszereknél sokkal egyszerűbben és megbízhatóbban ki lehet mutatni, ha az azonos napon vett vér- és liquormintákat párhuzamosan vizsgáljuk Western blottal. Leírtam az aszimmetria szabályt: ha a szérumminta hígításával vagy koncentráálásával nem lehet elérni a liquormintában látható bandmintázatot, az nagy biztonsággal jelzi az intrathecalis antitesttermelést.

Vizsgálataim alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a központi idegrendszernek autochton B-sejt populációja van.

Leírtam az összehasonlító immunoblot vizsgálatot, aminek a comparativ immunoblot assay, (COMPASS) elnevezést adtam. Az eljárás a Lyme borreliosisban régóta ismert számtalan szerodiagnosztikai problémára jelent megoldást, jelentősen növeli a vizsgálatok szenzitivitását és specifitását, így az egyébként rendkívül alacsony pozitív prediktív értékét.

Bebizonyítottam, hogy amennyiben a Lyme szerológiai vizsgálatokat szűrővizsgálati jelleggel, tehát – a mindennapi gyakorlatnak megfelelően – nem célzottan végzik, akkor a vizsgálat

pozitív prediktív értéke rendkívül alacsony, optimális esetben is kevesebb, mint 10%, tehát a pozitív leletek legalább 90%-a téves.

Számításaimból kiderült, hogy – a tünetmentes átfertőződés nagy aránya miatt – paradox módon épp a fokozott kockázatú csoportokban a szerológiai vizsgálatok gyakorlatilag használhatatlanok, egyedül a COMPASS segítségével lehet érdemben növelni a vizsgálatok pozitív prediktív értékét, ami egyébként a 0-hoz közelít.

Abban az időben messze a legnagyobb klinikai anyagon végeztünk *Borrelia* PCR vizsgálatokat. Bebizonyítottuk, hogy gyenge szenzitivitása miatt a klinikai diagnosztikában ez az eljárás nem alkalmazható.

Több nemzetközi és hazai útmutató megfogalmazásában vettem részt. A legutóbbi magyar nyelven megfogalmazott irányelv számos új elemet tartalmaz az eddigi nemzetközi ajánlásokhoz képest.

Én ismertem fel és mutattam be az új, kullancs által terjesztett, általam tick-borne lymphadenopathynak (TIBOLA) elnevezett betegséget. Én dokumentáltam először Európában a TIBOLÁ-ban néha megfigyelhető bacillaris angiomatosist, amit addig csak *Bartonella* fertőzésben észleltek Dél-Amerikában (*verruca peruviana*).

Azóta Európa számos országából közöltek TIBOLÁ-s eseteket. Én számoltam be elsőként a betegség különleges epidemiológiai sajátosságairól, pl. hogy a gyermekek és a lányok kockázata kiemelkedő, hogy a betegség szezonaritása bimodális, és hogy a lovakkal való kontaktus sokkal gyakoribb ebben a csoportban, mint a kontrollként szereplő Lyme betegeknél. Igazoltam, hogy mindkét, Európában honos *Dermacentor* kullancsfaj közvetíti a betegséget.

Magyarországon elsőként állítottam össze epidemiológiai tanulmányt a kullancsencephalitisről. Megállapítottam, hogy a betegség már azelőtt megszelídült, hogy megritkult volna. A szükséges adatok birtokában valószínűsítettem, hogy – ellentétben az általánosan elfogadott nézettel, – nem a bejelentési kötelezettség elmulasztása, illetve a diagnosztikus aktivitás csökkenése, hanem mindenekelőtt a kampányszerűen bevezetett védőoltásoknak köszönhető, hogy az incidencia a 90-es évek előtti időszak negyedére csökkent, miközben szinte valamennyi európai országban az esetszám drámaian emelkedett.

Bemutattam, hogy hazánkban az azonos vektornak megfelelően a kullancsencephalitis és a Lyme borreliosis földrajzi eloszlása azonos, és egybeesik a nagyvadak előfordulásával is.

További teendők

A COMPASS szabályait még csak most dolgozzuk ki. Nyilvánvaló, hogy az egyes anitest-válaszokban mutatkozó progresszió diagnosztikus ereje nem egyforma. A mintavételek közötti optimális intervallumok meghatározása is csak empirikusan, statisztikai alapon oldható meg. A vérminták vétele közötti távolságnak a lehető legrövidebbnek kell lennie, hogy minél gyorsabban diagnózishoz jussunk, de elég hosszúnak kell lennie ahhoz, hogy ne nézzünk el egyetlen fennálló fertőzést sem amiatt, mert a túl rövid idő alatt még nem mutatkozott szeroprogresszió.

A mai napig sincsenek tudományosan megalapozott bizonyítékok arra, hogy mennyi ideig, és mekkora adagú antibiotikumokkal optimális kezelni az erythema migrans vagy a Lyme borreliosis egyéb tüneteit. Az eddigi tanulmányok a szubjektív panaszok értékelése alapján próbálták megítélni a gyógyulást. Erythema migrans esetén a folt eltűnésének időtartama volt a hatékonyság megítélésének az alapja. Ez azonban jórészt azon múlik, milyen intenzitású volt a kezelés megkezdésekor az erythema migrans. A folt eltűnése még nem jelent mikrobiológiai gyógyulást. A hagyományos technikákkal végzett szerológiai reakciók alapján a gyógyulást, vagy a fertőzés perzisztálását nem lehet megítélni. Egyedül a COMPASS jelentene ezen a téren segítséget. Tehát olyan tanulmányokat kellene végezni, ahol a különféle terápiás javaslatok hatékonyságának megítélését erre a vizsgálatra bízánk.

Prospektív, multicentrikus, randomizált vizsgálatokat kellene végezni terhességi Lyme borreliosisban, ahol a terápia (amoxicillin vagy ceftriaxon) megítélését részben a szerológia (COMPASS), részben a terhességi szövődmények alapján mérnénk fel.

Úgy találtam, hogy a glucocorticoid tartalmú krémek alkalmazása után sokkal gyorsabban és nagyobb biztonsággal lehet a Lyme baktériumot kitenyészteni. Érdekes lenne ennek a magyarázatát kideríteni. Fel lehetne használni ezt a megfigyelést az erythema migrans kezelésére adott antibiotikumok hatékonyságának a megítélésére. Tehát a már gyógyult erythema területét szteroiddal történő kezelés után biopsziáznánk, és tenyészténénk a Borreliákat. Egyébként csak kivételesen ritkán sikerül az antibiotikum adása után kitenyészteni a mikrobát, még akkor sem, ha egyéb adatok a fertőzés perzisztálása mellett szólnak.

A multiplex erythema migrans csaknem mindig nagyon jellegzetes, erőteljes IgM reakcióval jár. Ha nincs multiplex erythema migrans, de van ugyanilyen IgM válasz, mondhatjuk-e, hogy ezekben az esetekben is generalizált fertőzésről van szó? Valószínűleg igen, de ennek a vizsgálata nem túl egyszerű. Úgy tűnik, hogy függetlenül attól, hogy van-e multiplex bőrelválto-

zás, ezekben a betegekben gyakrabban látunk hónapokkal később szeroprogressziót, vagyis úgy tűnik, hogy gyakoribb a Borreliák perzisztálása. Jó lenne ezen megfigyelések összefüggéseit tisztázni.

Jó lenne kideríteni, hogy a lovak játszanak-e rezorvoár szerepet a Rickettsiák fenntartásában. Milyen a Rickettsia szeroprevalencia a lovak körében? Van-e a lovak között *R. slovaca* okozta klinikai tünet?

Az intrathecalis antitestszintézis általam leírt új módszere nyilvánvalóan nemcsak a neuroborreliosisban, hanem egyéb eredetű neuroinfekciókban is használhatóak lennének. Ki kellene próbálni...

A COMPASS egyéb infekciókban is használható lenne, különösen ott volna erre nagy szükség, ahol a zajló és a lezajlott, aktív, inaktív fertőzés közötti különbség a hagyományos szerológiai eljárásokkal nem oldható meg biztonságosan (pl. toxoplasmosis, chlamydiasis - chlamydophilosis).

Nemcsak a Borreliák, hanem az egyéb mikrobák antibiotikum-érzékenység vizsgálata is lehetne a jelenleg használatos eljárásoknál sokkal olcsóbb, pontosabb és gyorsabb, ha nem a telepek fejlődését, hanem megfelelő indikátorok használatával a mikrobák egyes anyagcsere-termékeit mutatnánk ki. Egyszerű kolorimetriás módszerrel (pl. ELISA reader alkalmazásával) leolvasható lenne a mikroba aktivitása, még jóval azelőtt, hogy a táptalajon a telepek ki-fejlődnének...

Köszönetnyilvánítás

Rudolf Ackermann (München) kérésemre postafordultával küldte a *Borrelia* törzset és a szükséges használati utasításokat, amivel 1986-ban megkezdhettem a szerológiai vizsgálatokat.

Josef Leopold (Schoeller Pharma) lelkesedésemet látva ellenszolgáltatás nélkül legyártatta a *Borrelia*-tenyésztéshez szükséges tápoldat legfontosabb részét.

Mihály Ilona (László Kórház) tanította meg az indirekt immunfluoreszcens szerológiai technikát. Jóvoltából évekig használhattam a Mikrobiológiai laboratórium helyiségeit és felszereléseit. Önzetlenül, lelkesen segített Bánkuti Éva asszisztens, tanácsai nélkül kudarcot vallottam volna a laboratóriumban.

Nagy Gyöngyi asszisztensem a laboratóriumi munkában kezdetben éppolyan járatlan volt, mint jómagam. Immáron 26 éve dolgozik mellettem. Kitartó, precíz munkájának, számtalan ragyogó ötletének köszönhetem, hogy mindazt elértem, aminek egy töredékét ebben a pályamunkában bemutathattam. Gyöngyi nemcsak ügyes volt, hanem sokszor előfordult, hogy az elkövetett hibáinkból erényt kovácsolva jött rá megoldásokra, melyek utólag döntőnek bizonyultak. Briliáns memóriájának, megfigyelőkészségének sok betegem köszönheti gyógyulását vagy legalább diagnózisát.

Amikor a munkámat kezdtem, az asztali számítógép még vagyonokba került, kevesen álmodhattak róla, sokan nem is tudták, mire való. A László Kórházban nekem volt először számítógépem. A betegek adatainak feldolgozását nem tudtam volna megoldani Radványi András (MTA-SZTAKI) segítségével nélkül. Ragaszkodott hozzá, hogy tanuljam is meg a programozást, így aztán együtt írtuk az első adatbázis-kezelő programomat.

Horváth István matematikus-pszichológus barátom (MTA Psychológiai Intézet) beszélt rá, hogy jelentkezsem az első nemzetközi kongresszusokra, ahol meglepő sikereket értem el. A statisztika alapjaira ő tanított meg, első közleményeimnek ő volt a nyelvi lektora is. Az első epidemiológiai tanulmányom számításait éjszakánként együtt készítettük a SZTAKI hatalmas alapterületet elfoglaló „óriás” számítógépén.

Ole Orum Kristiansentől (Koppenhága, Statens Seruminstitut) tanultam meg az akkor nagyon ígéretesnek látszó *Borrelia* flagellum-preparálást, és általában az ELISA technikákat. Klaus Hansen mellett dolgozhattam itt, és részt vehettem az új Lyme szerológiai kit (flagellum-ELISA) tesztelésében.

Eva Asbrinktól (Stockholm) kaptam azt a *Borrelia* izolátumot, ami később a legjobb antigénnek bizonyult, amit a Lyme szerodiagnosztikában valaha kipróbáltak. Ma is ezt használom, és igen nagy szerencsém volt ezzel. Évától sokat tanultam a klinikai diagnosztika terén is.

Janisch Miklós (Állatorvos-tudományi Egyetem) kísért el az első kullancsgyűjtő expedícióimra, tőle tanultam meg a kullancsgyűjtés technikáját, és még számtalan dolgot a kullancsokról.

Az első *Borrelia* tápadataimat Németh János (OKI) segített összeállítani. Bár sokat szenvedtünk, az első időszakban nem voltunk túl sikeresek, az akkor elkövetett hibákból sokat tanultam.

Partizer Marika a László Kórház gazdaságisa mindent elkövetett, hogy azokban az időkben, amikor nem volt könnyű beszerezni egy laboratórium üzemeltetéséhez szükséges vegyszereket, műszereket, teljesítse a kívánságaimat.

Gerold Stanek (Bécs, Közegészségügyi Intézet) végezte a szerológiai vizsgálatot az első *Borrelia* encephalomyelitises betegemnél, akinek csodálatos gyógyulása aztán döntő szerepet játszott abban, hogy a kullancs által terjesztett fertőzésekkel foglalkozzam. Számtalan WHO-s és EU-s értekezletre történő meghívásomat azt hiszem, jórészt Geroldnak köszönhetem.

Allen Steere és Robert Grodzicki (Yale, majd Tufts) sok jó tanáccsal láttak el, és tőlük kaptam néhány amerikai *Borrelia* izolátumot, melyek rádöbbenettek, hogy a szerológiai vizsgálatok eredményét döntően befolyásolják, hogy milyen antigént használunk.

Göran Stiernstedt (Stockholm) maga is klinikus, mégis tőle tanultam meg a kullancsok preparálását, és a *Borrelia* izolálás alapjait.

Jacomina Hoogkamp-Korstanje, (Leeuwarden, Hollandia) abban az időben az ESPID (European Society for Paediatric Infectious Diseases) főtitkára, a kezdeményezésemre sokat segített abban, hogy több magyar gyermekgyógyász is tagja lehessen a társaságnak, együttműködésünknek köszönhető, hogy később a társaság Budapesten rendezte meg a kongresszusát. Az én kérésemre ő vezette azt a multicentrikus, európai kutatást, melyben az arcidegbénulás *Borrelia* eredetének gyakoriságát vizsgáltuk.

Marta Granström (Stockholm) segített a legtöbbet. Mártával egy tanulmányutamon ismerkedtem meg, és vagy 15 éven át jó barátságban voltunk, legtöbb közleményemnek ő volt a lektora, tanácsadója, sokszor gyökeresen átírta a kézirataimat. Tőle tanultam meg, hogy egy munkát elvégezni még csak a kezdet, a kézirat megírása a nagyobbik feladat. Az ő ötlete volt, hogy hozzunk létre egy nemzetközi társaságot, aminek az European Society for Emerging Infections (ESEI) nevet adtuk. Kongresszusain Nobel-díjas tudósok, WHO igazgatók, világhírű szakemberek vettek részt. A társaság egyik célja volt, hogy az amerikai CDC-hoz hasonló európai szervezet létrejöttét támogassuk. Ez a célunk az ECDC létrejöttével végül meg is valósult.

Patrick Guerintól (Neuchatel) tanultam meg, hogyan kell a kullancsokat mesterségesen táplálni. Vele együtt kezdtem bele egyes repellensek vizsgálatába, de sajnos idő hiányában a munkát nem tudtam befejezni.

Ian Liveyvel (Immuno-Baxter, Bécs) vagy 10 éven át dolgoztunk együtt egy új Lyme vakcina kifejlesztésén. Sajnos, a kutatás zsákutcának bizonyult. Mindazt, amit a *Borrelia*-tenyésztésről ma tudok, jórészt neki köszönhetem. Bár az együttműködésünknek már rég vége, a piacról beszerezhetetlen vegyszerek terén bármikor számíthatok a segítségére.

Jan Clement (Leuven, Belgium) hívta fel a figyelmemet az első R. slovaca okozta betegbemutatásra. Ha ő nincs, talán még most sem közlöm le a TIBOLÁ-t.

Ian mellett még Barbara Johnson (CDC, Atlanta) szolgáltatta azokat a monoklonális antitesteket, melyek segítségével beállítottam a Western blot vizsgálataimat.

Janet Robertson (Southampton) tanította meg a Western blot technikát, ha bárhol elakadtam online segítségnyújtására mindig számíthattam.

Jane Markley (MRL, később Focus Laboratories, Cypress, USA) hívott meg az akkor a világ legnagyobb *Borrelia* Western blot kit gyárába. Náluk, később az ő antigénjeikkel végeztem először az akkor újdonságnak számító Ehrlichia szerológiát.

Deborah Dodge (Roche) révén jutottam el a Roche molekulárbiológiai központjába, Branchburgbe (USA). Együtt dolgoztunk egy akkor vadonatújnak számító asztali PCR berendezés (thermocycler) tesztelésén.

James Olson hívott meg a CDC atlantai központjába, ott láttam először szuperbiztos *Rickettsia* laboratóriumot. Bár a közös munkánk nem volt eredményes, az elkövetett hibákból sokat tanultam.

Jeremy Gray (Dublin) az EUCALB (European Concerted Action on Lyme Borreliosis) vezetője révén kerültem be számos európai, szerológiai körvizsgálatba, e vizsgálatokhoz szükséges klinikai minták egy jelentős része tőlem származott.

Didier Raoulttal (Marseille, WHO *Rickettsia* referencia laboratórium) évekig dolgoztunk együtt a TIBOLÁ-n. Két legsikeresebb közleményem vele társszerzőségben született.

Mágori Anikó (Onkológiai Intézet) tanított meg a vékonytű-biopsziára, amire a *Rickettsia* izolálásokhoz volt szükségem.

Frans Jongejan (Utrecht, Hollandia) hívott meg az ICTTD (International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases) EU-s támogatással létrehozott munkacsoportjába. Itt a világ minden pontjáról gyűltek össze zseniális szakemberek, akikkel évről évre, 8 éven át találkozhattam, csuda dolgokat tanultam tőlük.

Az utóbbi években Solymosi Norbert, Reiczigel Jenő és Körösi Ádám végezték a tanulmányaimhoz a statisztikai számításokat. Norberttől hallottam először a Bayesi statisztikáról, és az ő révén értettem meg e módszernek az alapjait.

Az OMFB (Országos Műszaki Fejlesztési Bizottság) két ízben is támogatta a pályázatomat, e támogatás nélkül nem tudtam volna felépíteni az azóta is működő laboratóriumomat.

Az MTA-Soros Alapítvány több tanulmányutamat, kongresszusi részvételemet támogatta, nagyvonalú támogatásukkal rendezhettem meg az ESEI első és második budapesti kongresszusát.

Gyógyszergyárak és kereskedők (Roche, Biogal, Glaxo, Chinoín, Pliva, Chiron, Novartis, Unilab, Sigma, Sanofi, Whittaker, Vircell, Gull Laboratories) felkérésére klinikai vizsgálatokat végezhettem. Ezekből sokat tanultam, támogatásukkal végiglátogathattam a legfontosabb kutatóhelyeket. A Biolab sikerrel forgalmazta éveken át az általam gyártott LakoBlot Lyme Western blot kitet.

Magyarics Zoltán volt az „összekötő” az Intercell Ag (Bécs) Lyme vakcina kutatásban. Bár ez a munka is zsákutcának bizonyult (mások sikeresebbek voltak, mint mi), Zolitól sokat tanultam főleg a géntechnológiai és szerodiagnosztikai kutatások terén.

Falus András (SE) tanácsait, sokrétű segítségét hálásan köszönöm.

Bagdi Károly és Miklósi Ferenc (Convention Kft) segítségével szerveztem az ESEI, az ESPID budapesti konferenciáit, az Első Hazai Lyme Kongresszust és az Új és Veszélyes Fertőző Betegségek tudományos értekezleteit. Öröm volt velük dolgozni.

Társszerzőim között vannak a magyarok mellett argentin, belga, bolgár, brazil, cseh, dán, egyesült államokbeli, francia, holland, horvát, kínai, német, olasz, portugál, spanyol, svájci, svéd, szenegáli, szlovákiai, szlovéniai kutatók. Boldog vagyok, hogy módomban nyílt megosztani velük gondolataimat. Közreműködésüket köszönöm.

Családomra kevesebb időm, erőm jutott, mint amennyi juthatott volna, ha nem foglalkozom kutatással is. Cserében a betegek talán többet kaptak azzal, hogy szakszerűbb ellátásban részesültek, amit a tudományos vizsgálatok során gyűjtött tapasztalataimnak is köszönhetnek. Nevükben is köszönöm a családomnak, 4 gyermekemnek, 4 unokámnak és barátaimnak a türelmüket.

Rókusz László több fontos betegemnek is kezelőorvosa volt, de valahogy kimaradt a szerzőtársak közül, ezúton is elnézését kérem. Többek között a jelen pályázat lektorálásáért is neki tartozom köszönettel....

Irodalom

- A Fővárosi Szent László Kórház módszertani levele (1991). A Lyme borreliosis. Orv Hetil. 1991;132:2441-4.
- A honvédség létszáma 1990-2007-ig (2011).
http://4.bp.blogspot.com/_9OrIoF5ZN4o/SfGMkzORtDI/AAAAAAAAABM0/d6zrOaO84_U/s1600-h/honvetszam.jpg letöltve: 2011. jan. 16.
- Ackermann R, Hörstrup P, Schmidt R (1984). Tick-borne meningoneuritis (Garin-Bajadoux, Bannwarth). Yale J Biol Med. 1984;57:485-90.
- Allegue F, Pérez-Pérez L, Villa-Bajo L. (2009). DEBONEL/TIBOLA: an emerging rickettsiosis. Clin Exp Dermatol. 2009;34:e246-7.
- Andersson CR, Vene S, Insulander M, et al. Vaccine failures after active immunisation against tick-borne encephalitis. Vaccine. 2010;28:2827-31.
- Andrew MA, Easterling TR, Carr DB, Shen D, Buchanan ML, Rutherford T, Bennett R, Vicini P, Hebert M (2007). Amoxicillin pharmacokinetics in pregnant women: modeling and simulations of dosage strategies. Clin Pharmacol Ther. 2007;81:547-56.
- Ang CW, Notermans DW, Hommes M, Simoons-Smit A, Herremans T (2011). Large differences between test strategies for the detection of anti-Borrelia antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. Eur J Clin Microbiol. 2011;30:1027-32.
- Arnez M, Pleterski-Rigler D, Luznik-Bufon T, Ruzić-Sabljić E, Strle F (2002). Solitary erythema migrans in children: comparison of treatment with azithromycin and phenoxymethyl-penicillin. Wien klin Wochenschr. 2002;114:498-504.
- Arthur DR (1960). Ticks. A monograph of the Ixodoidea. Part V. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ashburn D, Davidson MM, Joss AW, Pennington TH, Ho-Yen DO (1998). Improved diagnosis of reactivated toxoplasmosis. Mol Pathol. 1998;51:105-9.
- Avsic-Zupanc T, Poljak M, Maticic M, Radsel-Medvescek A, LeDuc JW, Stiasny K, Kunz C, Heinz FX (1995). Laboratory acquired tick-borne meningoencephalitis: characterisation of virus strains. Clin Diagn Virol. 1995;4:51-9.
- Babos S (1964). Die Zeckenfauna Mitteleuropas. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Bacon RM, Biggerstaff BJ, Schriefer ME, Gilmore RD Jr, Philipp MT, Steere AC, Wormser GP, Marques AR, Johnson BJ (2003). Serodiagnosis of Lyme disease by kinetic enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant VlsE1 or peptide antigens of Borrelia burgdorferi compared with 2-tiered testing using whole-cell lysates. J Inf Dis. 2003;187:1187-99.
- Bakken JS, Dumler JS, Chen SM, Eckman MR, Van Etta LL, Walker DH (1994). Human granulocytic ehrlichiosis in the upper midwest United States. A new species emerging? JAMA. 1994;272:212-5.
- Balogh Z, Ferenczi E, Szeles K, Stefanoff P, Gut W, Szomor KN, Takacs M, Berencsi G. Tick-borne encephalitis outbreak in Hungary due to consumption of raw goat milk. J Virol Method. 2010;163:481-5.
- Banyas GT (1992). Difficulties with Lyme serology. J Am Optom Assoc. 1992;63:135-9.
- Baradaran-Dilmaghani R, Stanek G (1996). In vitro susceptibility of thirty Borrelia strains from various sources against eight antimicrobial chemotherapeutics. Infection. 1996;24:60-3.
- Bartolomé J, Lorente S, Hernández-Pérez N, Martínez-Alfaro E, Marín-Ors A, Crespo MD (2005). Clinical and epidemiological study of spotted fever group rickettsiosis in Albacete, Spain. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2005;23:194-6.
- Bentas W, Karch H, Huppertz HI (2000). Lyme arthritis in children and adolescents: outcome 12 months after initiation of antibiotic therapy. J Rheumatol. 2000;27:2025-30.
- Berbis P (2008). Quoi de neuf en dermatologie clinique? Ann Dermatol Venereol. 2008;135:S317-25.
- Binnicker MJ, Jespersen DJ, Haring JA, Rollins LO, Bryant SC, Beito EM (2008). Evaluation of two commercial systems for automated processing, reading, and interpretation of Lyme borreliosis Western blots. J Clin Microbiol. 2008;46:2216-21.
- Boldis V, Strus J, Kocianová E, Tusek-Znidaric M, Stefanidesová K, Schwarzová K, Kúdelová M, Sekeyová Z, Spitalská E (2009). Life cycle of Rickettsia slovaca in L929 cell line studied by quantitative real-time PCR and transmission electron microscopy. FEMS Microbiol Lett. 2009;293:102-6.
- Boldis V, Spitalská E (2010). Dermacentor marginatus and Ixodes ricinus ticks versus L929 and Vero cell lines in Rickettsia slovaca life cycle evaluated by quantitative real time PCR. Exp Appl Acarol. 2010;50:353-9.
- Bourget P, Fernandez H, Quinquis V, Delouis C (1993). Pharmacokinetics and protein binding of ceftriaxone during pregnancy. Antimicrob Agents Chemother. 1993;37:54-9.
- Bózsik BP, **Lakos A**, Budai J, Telegdy L, Ambrózy Gy (1986). Occurrence of Lyme borreliosis in Hungary. Zbl Bakt Mikr Hyg A 1986;466-7. **(IF: 0,344)**
- Bremell D, Hagberg L (2011). Clinical characteristics and cerebrospinal fluid parameters in patients with peripheral facial palsy caused by Lyme neuroborreliosis compared with facial palsy of unknown origin (Bell's palsy). BMC Infect Dis. 2011;11:215-21.

- Brouqui P, Bacellar F, Baranton G, Birtles RJ, Bjoërsdorff A, Blanco JR, Caruso G, Cinco M, Fournier PE, Francavilla E, Jensenius M, Kazar J, Laferl H, **Lakos A**, Lotric Furlan S, Maurin M, Oteo JA, Parola P, Perez-Eid C, Peter O, Postic D, Raoult D, Tellez A, Tselentis Y, Wilske B: Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10:1108-32. (**IF: 2,361**)
- Bröker M, Schöndorf I (2006). Are tick-borne encephalitis vaccines interchangeable? *Expert Rev Vaccines.* 2006;5:461-6.
- Budai J ifj, **Lakos A**, Ferencz A (1989). A Lyme borreliosis késői manifesztációja: acrodermatitis chronica atrophicans. Magyar Infektológiai Társaság Vándorgyűlése. Debrecen, 1989. szept. 14.
- Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP (1982). Lyme disease-a tick-borne spirochetosis? *Science.* 1982;216:1317-9.
- Burnette WH (1981). Western blotting: electrophoretic transfer of proteins from SDS-polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Anal Biochem.* 1981;112:195-203.
- Cadoz M, Denis F, Guérin T, Prince-David M, Diop-Mar I. Bacteriological, pharmacological and clinical comparison between amoxycillin and ceftriaxone in the treatment of 300 purulent meningitis. *Pathol Biol (Paris).* 1982;30:522-525.
- CDC (1991). Lyme disease surveillance—United States, 1989-1990. *MMWR.* 1991;40:417-21.
- CDC (1995). Recommendations for Test Performance and Interpretation from the Second National Conference on Serologic Diagnosis of Lyme Disease. *MMWR.* 1995;44:590-1.
- CDC (1997). Case definitions for infectious conditions under public health surveillance. *MMWR Recommendations and Reports.* 1997;46:1-55.
- CDC (2008). Lyme Disease (*Borrelia burgdorferi*) case definition. In: www.cdc.gov, 01.09.2011, Letölthető: http://www.cdc.gov/osels/ph_surveillance/nndss/casedef/lyme_disease_2008.htm
- Cinco M, Murgia R, Ruscio M, Andriolo B (1996). IgM and IgG significant reactivity to *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii* among Italian patients affected by Lyme arthritis or neuroborreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1996;14:159-66.
- Clopés A, Rovira R, Samper MA, Sanchís FJ, Delgado LE, Terradas P (2009). Nen amb adenopaties doloroses occipitals i febreta: TIBOLA. *Pediatr Catalana* 2009;69:291-3.
- Cooke WD, Bartenhagen NH (1994). Seroreactivity to *Borrelia burgdorferi* antigens in the absence of Lyme disease. *J Rheumatol.* 1994;21:126-31.
- Coumou J, van der Poll T, Speelman P, Hovius JW (2011). Tired of Lyme borreliosis. Lyme borreliosis in the Netherlands. *The Netherlands Journal of Medicine.* 2011;69:101-111.
- Coyle PK, Deng Z, Schutzer SE, Belman AL, Benach J, Krupp LB, Luft B. Detection of *Borrelia burgdorferi* antigens in cerebrospinal fluid. *Neurology.* 1993;43:1093-8.
- Craft JE, Grodzicki RL, Shrestha M, Fischer DK, García-Blanco M, Steere AC (1984). The antibody response in Lyme disease. *Yale J Biol Med.* 1984;57:561-5.
- Csányi S (2010). Vadgazdálkodási Adattár <http://www.vmi.szie.hu/adattar/pdf/VG-1960-2010.pdf>, letöltve: 2011, jan, 16.
- Cutler SJ, Wright DJ, Luckhurst VH (1993). Simplified method for the interpretation of immunoblots for Lyme borreliosis. *FEMS. Immunol Med Microbiol.* 1993;6:281-5.
- Cutler SJ, Wright DJ (1994). Predictive value of serology in diagnosing Lyme borreliosis. *J Clin Pathol.* 1994;47:344-9.
- Danielova V, Holubová J, Daniel M (2002). TBE virus prevalence in *Ixodes ricinus* ticks collected in high risk habitats of the South-Bohemian region of the Czech Republic. *Exp Appl Acarol.* 2002;26:145-51.
- Danielová V, Kliegrová S, Daniel M, Benes C (2008). Influence of climate warming on tickborne encephalitis expansion to higher altitudes over the last decade (1997-2006) in the Highland Region (Czech Republic). *Cent Eur J Public Health* 2008;16:4–11.)
- Demicheli V, Debalini MG, Rivetti A (2009). Vaccines for preventing tick-borne encephalitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;21:CD000977
- Dever LL, Jorgensen JH, Barbour AG (1992). In vitro antimicrobial susceptibility testing of *Borrelia burgdorferi*: a microdilution MIC method and time-kill studies. *J Clin Microbiol.* 1992;30:2692–7.
- Dobler G, Wölfel R (2009). Typhus and other rickettsioses: emerging infections in Germany. *Dtsch Arztebl Int.* 2009;106:348-54.
- Dodge D, Le Gassic KF, Wang Z, **Lakos A** (1993). Specific detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in the blood, urine and cerebrospinal fluid of acute and chronic Lyme disease patients using the polymerase chain reaction. 6th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Seville, Spain 1993.03.28-1993.03.31. p. 332.
- Doffoel-Hantz V, Heissat S, Sparsa A, Durox H, Bonnetblanc J (2009). Erysipèle de la face révélateur de syndrome Tibola. *La revue de médecine interne.* 2009;30:142-3.
- Donta ST (1997). Tetracycline therapy for chronic Lyme disease. *Clin Inf Dis.* 1997;25:52-6.

- Dressler F, Whalen JA, Reinhardt BN, Steere AC (1993). Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease. *J Infect Dis.* 1993;167:392-400.
- Dressler F, Ackermann R, Steere AC (1994). Antibody responses to the three genomic groups of *Borrelia burgdorferi* in European Lyme borreliosis. *J Infect Dis.* 1994;169: 313-8.
- Elliott DJ, Eppes SC, Klein JD (2001). Teratogen update: Lyme disease. *Teratology.* 2001;64:276-81.
- Engström SM, Shoop E, Johnson RC (1995). Immunoblot interpretation criteria for serodiagnosis of early Lyme disease. *J Clin Microbiol.* 1995;33:419-27.
- Estrada-Peña A, Bouattour A, Camicas JL, Walker AR (2004). Ticks of domestic animals in the Mediterranean region. A guide to identification of species. University of Zaragoza, Zaragoza.
- Ferencz A, Mándoky F, **Lakos A** (1989). Penicillin és Rocefin összehasonlító vizsgálata Lyme borreliosisban. Magyar Infektológiai Társaság Vándorgyűlése. Debrecen, 1989. szept. 14.
- Ferenczi E (2008). A kullancsencephalitis elleni védőoltásokról. *Epinfo.* 2008;15:301-4.
- Ferenczi E, Molnár E (1991). Tick-borne encephalitis in Hungary in the last ten years. *Ellipse.* 1991;29:458-9.
- Fernández-Soto P, Pérez-Sánchez R, Encinas-Grandes A, Alamo-Sanz R (2006). Rickettsia slovaca in Dermacentor ticks found on humans in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2006;25:129-31.
- Florin TA, Zaoutis TE, Zaoutis LB (2008). Beyond cat scratch disease: widening spectrum of *Bartonella henselae* infection. *Pediatrics.* 2008;121:e1413-25.
- Fornósi F, Molnár E (1954). Klescevoj encefalit v Vengriji – Izolacija virusa i jevo szvojsztva. *Acta Microbiol Acad Sci Hung.* 1954;1:9-21.
- Földvári G, Farkas R, **Lakos A** (2005). *Borrelia spielmanii*, erythema migrans, Hungary. *Emerg Inf Dis.* 2005;11:1794-5. **(IF: 5,643)**
- Földvári G, Rigó K, Majláthová V, Majláth I, Farkas R, Petko B (2009). Detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in lizards and their ticks from Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009;9:331-6.
- Gaston J, Durox H, Sparsa A, Bonnetblanc JM, Doffoel-Hantz V (2011). Dermohypodermatitis on the face revealing TIBOLA. *Arch Pediatr.* 2011 Apr 12. [Epub ahead of print]
- Gáti J (1993). Pénzszívók. *HVG.* 1993. június 19, pp 36.
- Gerber MA, Zolneraitis EL (1994). Childhood neurologic disorders and Lyme disease during pregnancy. *Pediatr Neurol.* 1994;11:41-3.
- Gerster JC, Gugli S, Perroud H, Bovet R (1981). Lyme arthritis appearing outside the United States: a case report of Switzerland. *Brit Med J.* 1981;283:951-2.
- Goettner G, Schulte-Spechtel U, Hillermann R, Liegl G, Wilske B, Fingerle V (2005). Improvement of Lyme borreliosis serodiagnosis by a newly developed recombinant immunoglobulin G (IgG) and IgM line immunoblot assay and addition of VlsE and DbpA homologues. *J Clin Microbiol.* 2005;43:3602-9.
- Golovljova I, Vene S, Sjölander KB, Vasilenko V, Plyusnin A, Lundkvist A (2004). Characterization of tick-borne encephalitis virus from Estonia. *J Med Virol* 2004;74:580–8.
- Gustafson JM, Burgess EC, Wachal MD, Steinberg H (1993). Intrauterine transmission of *Borrelia burgdorferi* in dogs. *Am J Vet Res.* 1993;54:882–90.
- Granström M (1997). Tick-borne zoonoses in Europe. *Clin Microbiol Inf.* 1997;3:156-69.
- Guerrero A, Gimeno F, Colomina J, Molina M, Oteo JA, Cuenca M (2006). Low incidence of tick-borne rickettsiosis in a Spanish Mediterranean area. *Ann NY Acad Sci.* 2006;1078:200-2.
- Haemig PD, Sjöstedt de Luna S, Grafström A, Lithner S, Lundkvist A, Waldenström J, Kindberg J, Stedt J, Olsén B (2011). Forecasting risk of tick-borne encephalitis (TBE): Using data from wildlife and climate to predict next year's number of human victims. *Scand J Infect Dis.* 2011 Jan 24. [Epub ahead of print]
- Haglund M, Forsgren M, Lindh G, Lindquist L (1996). A 10-year follow-up study of tick-borne encephalitis in the Stockholm area and a review of the literature: need for a vaccination strategy. *Scand J Infect Dis.* 1996;28:217-24.
- Haglund M, Gunther G (2003). Tick-borne encephalitis - pathogenesis, clinical course and long-term follow-up. *Vaccine.* 2003;21:S11-8.
- Hainz U, Jenewein B, Asch E (2005). Insufficient protection for healthy elderly adults by tetanus and TBE vaccines. *Vaccine.* 2005;23:3232–5.
- Halperin JJ, Volkman DJ, Wu P (1991). Central nervous system abnormalities in Lyme neuroborreliosis. *Neurology.* 1991;41:1571-82.
- Halperin JJ, Shapiro ED, Logigian E, Belman AL, Dotevall L, Wormser GP, Krupp L, Gronseth G, Bever CT Jr (2007). Practice parameter: treatment of nervous system Lyme disease (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2007;69:91-102.
- Hansen K, Hindersson P, Pedersen NS (1988). Measurement of antibodies to the *Borrelia burgdorferi* flagellum improves serodiagnosis in Lyme disease. *J Clin Microbiol.* 1988;26:338-46.
- Hauser U, Lehnert G, Lobentanzer R, Wilske B (1997). Interpretation criteria for standardized Western blots for three European species of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *J Clin Microbiol.* 1997;35:1433-44.

- Heinz FX, Holzmann H, Essl A, Kundi M (2007). Field effectiveness of vaccination against tick-borne encephalitis. *Vaccine*. 2007;25:7559–67.
- Hillyard PD (1996). Ticks of North-West Europe. Synopses of the British Fauna (New series). Vol. 52, Field Studies Council, Shrewsbury.
- Holzmann H, Aberle SW, Stiasny K, Werner P, Mischak A, Zainer B, Netzer M, Koppi S, Bechter E, Heinz FX (2009). Tick-borne encephalitis from eating goat cheese in a mountain region of Austria. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:1671-3.
- Hoogkamp-Korstanje JAA, Lakos A, Cizman M (1994). Role of *Borrelia burgdorferi* in Bell's palsy - multicenter study. 12th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases. Budapest, Magyarország, 1994.04.21-1994.04.22. p. 18.
- Hornok S, Meli ML, Perreten A, Farkas R, Willi B, Beugnet F, Lutz H, Hofmann-Lehmann R (2010). Molecular investigation of hard ticks (Acari: Ixodidae) and fleas (Siphonaptera: Pulicidae) as potential vectors of rickettsial and mycoplasmal agents. *Vet Microbiol*. 2010;140:98-104.
- Horváth S, Lakos A, Budai J (1992). Electromyographic findings in Lyme borreliosis. International Conference on Lyme borreliosis. Arlington, USA May 30-June 2, 1992.
- Hunfeld KP, Ruzic-Sabljic E, Norris DE, Kraiczy P, Strle F (2005). In vitro susceptibility testing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates cultured from patients with erythema migrans before and after antimicrobial chemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:1294-301.
- Huycke MM, D'Alessio DD, Marx JJ (1992). Prevalence of antibody to *Borrelia burgdorferi* by indirect fluorescent antibody assay, ELISA, and western immunoblot in healthy adults in Wisconsin and Arizona. *J Infect Dis*. 1992;165:1133-7.
- Ibarra V, Portillo A, Santibáñez S, Blanco JR, Pérez-Martínez L, Márquez J, Oteo JA (2005). DEBONEL/TIBOLA: Is *Rickettsia slovaca* the only etiological agent? *Ann NY Acad Sci*. 2005;1063:346-8.
- Ibarra V, Blanco JR, Portillo A, Santibáñez S, Metola L, Oteo JA (2005). Effect of antibiotic treatment in patients with DEBONEL/TIBOLA. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1063:257-8.
- Ibarra V, Oteo JA, Portillo A, Santibáñez S, Blanco JR, Metola L, Eiros JM, Pérez-Martínez L, Sanz M (2006). *Rickettsia slovaca* infection: DEBONEL/TIBOLA. *Ann NY Acad Sci*. 2006;1078:206-14.
- Infektológiai Szakmai Kollégium (2011). Nemzeti Erőforrás Minisztérium szakmai irányelve – A Lyme borreliosis klinikai és laboratóriumi diagnosztizálásáról és kezeléséről. *Egészségügyi Közlöny* 2011;61:1386-93.
- Janisch M (1959). Kartographische Aufnahme der ungarischen Zeckenfauna (Geographical distribution of tick species in Hungary) *Állattani Közlemények*. 1959;47:103-10.
- Jelenik Z, Keller M, Briggs B, Günther G, Haglund M, Hudeckova H, Jilkova E, Mickiene A, Sandell B, Steffen R, Strle F (2010). Tick-borne encephalitis and golden agers: position paper of the International Scientific Working Group on Tick-borne encephalitis (ISW-TBE). *Wien med Wochenschr*. 2010;160:247-51.
- Jellinger K (1981). Histopathology of TBE. In: Kunz C. ed. Tick-borne encephalitis. Wien, Facultas Verlag. 1981:59-75.
- Jilková E, Vejvalková P, Stiborová I, Skorkovský J, Král V (2009). Serological response to tick-borne encephalitis (TBE) vaccination in the elderly - results from an observational study. *Expert Opin Biol Ther*. 2009;9:797-803.
- Juhász C, Szirmai I (1993). Spectral EEG parameters in patients with tick-borne encephalitis: a follow-up study. *Clin Electroencephalogr*. 1993;24:53-8.
- Kaell AT, Redecha PR, Elkon KB, Golightly MG, Schulman PE, Dattwyler RJ, Kaell DL, Inman RD, Christian CL, Volkman DJ (1993). Occurrence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in patients with nonspirochetal subacute bacterial endocarditis. *Ann Intern Med*. 1993;119: 1079-83.
- Kaiser R (2000). False-negative serology in patients with neuroborreliosis and the value of employing of different borrelial strains in serological assays. *J Med Microbiol*. 2000;49:911-5.
- Kaiser R (2002). Tick-borne encephalitis (TBE) in Germany and clinical course of the disease. *Int J Med Microbiol*. 2002;291:S58-61.
- Kannian P, McHugh G, Johnson BJ, Bacon RM, Glickstein LJ, Steere AC (2007). Antibiotic responses to *Borrelia burgdorferi* in patients with antibiotic-refractory, antibiotic-responsive, or non-antibiotic-treated Lyme arthritis. *Arthritis Rheum*. 2007;56:4216-25.
- Karlsson M (1990). Aspects of the diagnosis of Lyme borreliosis. *Scand J Infect Dis*. 1990;67S:1-59.
- Karlsson M, Hammers S, Nilsson-Ehle I, Malmberg AS, Wretling B (1996). Concentrations of doxycycline and penicillin G in sera and cerebrospinal fluid of patients treated for neuroborreliosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996;40:1104-7.
- Kerbo N, Donchenko I, Kutsar K, Vasilenko V (2005). Tickborne encephalitis outbreak in Estonia linked to raw goat milk. *Euro Surveill*. 2005;10:2730. Elérhető: www.eurosurveillance.org [letöltve 2010. október 1.]
- Kleibeuker W, Zhou X, Centlivre M, Legrand N, Page M, Almond N, Berkhout B, Das AT (2009). A sensitive cell-based assay to measure the doxycycline concentration in biological samples. *Hum Gene Ther*. 2009;20:524-30.

- Klempner MS, Hu LT, Evans J, Schmid CH, Johnson GM, Trevino RP, Norton D, Lew L, Wall D, McCall J, Kosinski M, Weinstein A (2001). Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. *New Engl J Med.* 2001;45:85–92.
- Kollaritsch H, Chmelík V, Dontsenko I, Grzeszczuk A, Kondrusik M, Usonis V, **Lakos A** (2011). The current perspective on tick-borne encephalitis awareness and prevention in six Central and Eastern European countries: report from a meeting of experts convened to discuss TBE in their region. *Vaccine.* 2011;29:4556–64. **IF: 3,572**
- Komitova R, **Lakos A**, Aleksandrov A, Christova I, Murdjeva M (2003). A case of tick-transmitted lymphadenopathy in Bulgaria associated with *Rickettsia slovaca*. *Scand J Infect Dis.* 2003;35:213. **(IF: 1,117)**
- Komoly S, **Lakos A** (1989). The changes of the IgG-index, the intrathecal IgG synthesis rate and the albumin quotient in penicillin treated cases of meningoradiculitis caused by *Borrelia burgdorferi*. In: Stanek (ed.), *Lyme Borreliosis II*, Zbl. Bakt. 1989;18:240–244. **IF: 0.605**
- Lakos A**, Bózsik B, Budai J, Káli G, Telegdy L, Ambrózy Gy (1985). Lyme kór - kullancs által terjesztett borreliosis Magyarországon. *Orv Hetil.* 1985;126:2697–2700. **(Petényi-díj)**
- Lakos A**, Telegdy L, Káli G (1986a). Progressiv borreliosis: a Lyme kór ritka változata. *Orv Hetil.* 1986;127:1439–41.
- Lakos A**, Telegdy L, Káli G, Prinz G, Bán É, Budai J (1986b). Lyme disease imitating multiple sclerosis. IXth International Congress of Infectious and Parasitic Diseases Munich, 1986 July 20–26. p 1068. Futuramed Verlag, München
- Lakos A** (1988a). A perifériás facialis paresis gyakori okozója - a kullancs által terjesztett *Borrelia burgdorferi*. *Orv Hetil.* 1988;129:1257–60. **(Petényi-díj)**
- Lakos A** (1988b). A frequent cause of peripheral facial paresis: tick-borne *Borrelia burgdorferi* infection. Zoonoses Congress with International Participation. Brno, Csehszlovákia, 1988.08.29–1988.09.01. p. 25.
- Lakos A**, Herczegfalvi Á, Veress É (1988). An outbreak of Bell's palsy caused by *Borrelia burgdorferi* in Hungary. *Pediatr Res.* 1988;24:654. **(IF: 2,834)** (Abstract: VIth Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, 27–29 April 1988 Padova – Olaszország)
- Lakos A**, Komoly S, Ferencz A, Mikola I, Csanda E, Tajti G (1988). Bannwarth-syndroma, a Lyme-kór gyakori idegrendszeri formája. *Ideggy Szle.* 1988;41:73–8.
- Lakos A** (1989). Lyme borreliosis in Hungary - the first three years. In: Stanek (ed.), *Lyme Borreliosis II*, Zbl. Bakt. 1989;18:55–9. **IF: (0,605)**
- Lakos A** (1990). Comparison of four serological tests for *Borrelia burgdorferi* in Bell's palsy. *Serod Immunother.* 1990;4:271–5. **(IF: 0,457)**
- Lakos A.** (1991a). A Lyme borreliosis. Klinikai tünetek, terápia, epidemiológia, szerodiagnosztika. Petit, Budapest. 1991, 1–121.
- Lakos A** (1991b): Neuroborreliosis. CSF findings can mimic tuberculous meningitis. IX Annual meeting of European Society for Paediatric Infectious Diseases. Neurological manifestations of systemic infections. St Feliu de Guixols, Spain, 18–19 April 1991. Abstract book, 7.
- Lakos A**, Nagy G, Jankovics I, Csík M (1991). A *Borrelia burgdorferi* (Lyme spirochaeta) első hazai izolálása kullancsokból. *Orv Hetil.* 1991;132:129–134. **(Markusovszky-Díj)**
- Lakos A** (1992a): Kullancsok és betegségek. Melánia, Budapest. 1992. 1–144.
- Lakos A** (1992b). Cerebrospinal findings in Lyme meningitis. *J Infection.* 1992;25:1–12. **(IF: 1,350)**
- Lakos A**, Ferencz A (1993). Comparative study of penicillin and doxycycline treatment in tick-borne erythema chronicum migrans. *J Chemother.* 1993;5:613–4. **(IF: 0,303)**
- Lakos A**, Nagy G, Buza V, Ormay I (1993). *Borrelia burgdorferi* első hazai izolálása liquorból. MIT Tudományos Ülés, Karcag, 1993. szept. 10.
- Lakos A**, Horváth Z (1994). A Zinnat és a Doxycyclin htaékonyságának összehasonlítása erythema migransban. Első Hazai Lyme kongresszus. Budapest, 1994. december 1–4. Abstract book p. 55.
- Lakos A** (1995a). Lyme borreliosis in Hungary - epidemiological analysis of 1175 cases. Report of WHO workshop on Lyme borreliosis diagnosis and surveillance. Warsaw, June 1995. WHO/CDS/VPH/95. 1995, 10–11 és 84–102.
- Lakos A** (1995b). Lyme borreliosis and pregnancy. Symposium on the therapy and prophylaxis for Lyme borreliosis. Portoroz, Slovenia May 13–16, 1995. Abstract book, pp 43.
- Lakos A** (1995c). Platelia Lyme ELISA kit. Clinical and laboratory testing. 12th Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, August 23–25, 1995. Programfüzet, 32.
- Lakos A**, B. Kovács A, Szemenyei J, Várai Gy (1995). Randomized comparison of the efficacy of panemecillinum and doxycycline in the treatment of patients with erythema migrans. 7th European congress of clinical microbiology and infectious diseases. Vienna, Austria, March 26–30, 1995.
- Lakos A** (1996a). Prevalence of *Borrelia* antibody and clinical symptoms corresponding to Lyme disease among 1770 forestry workers. VII. International Congress on Lyme borreliosis. San Francisco, California, June 16–21, 1996. Abstract book, 67.
- Lakos A** (1996b). Újabb kullancs által terjesztett betegségek. SubRosa, Budapest, 1996. 76–77.

- Lakos A, Nagy G (1996a).** Előrelépés a Lyme diagnosztikában: Beszámoló egy saját fejlesztésű Western blot eljárásról. Magyar Infektológiai Társaság Tudományos Ülése. 1996. szept. 28-29. Székesfehérvár
- Lakos A, Nagy G (1996b).** Az antibiotikum-felhasználás terén nagy jelentőségű új szerológiai módszer: Western blot a Lyme diagnosztikában. Antibiotikum-politika - tudományos-szakmai konferencia. Keszthely Magyarország, 1996 p. 23-24.
- Lakos A, Ferenczi E, Ferencz A, Tóth E (1996-1997).** Tick-borne encephalitis. *Parasit hung.* 1996-1997;29-30:5-16.
- Lakos A (1997a).** Újabb kullancsbetegségek. László Kórház Tudományos Ülése. 1997. március 14.
- Lakos A (1997b).** Tick-borne lymphadenopathy – a new rickettsial disease? *Lancet* 1997;350:1006. **(IF: 16,135)**
- Lakos A (1997c).** TIBOLA – egy új, kullancs által terjesztett betegség. *Orv Hetil.* 1997;138: 3229-32.
- Lakos A, Granström M (1997).** Diagnostic power of immunoblot in Lyme borreliosis. The 15th Annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases. Paris, France, 21-23 May, 1997. Abstract book, 126.
- Lakos A, Nagy G (1997).** Előrelépés a Lyme-kór diagnosztikájában: Hazai Western blot kit kifejlesztése. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia.* 1997;4:101-7.
- Lakos A, Kalocsai K (1997).** TIBOLA – új és gyakori, kullancs által terjesztett rickettsiosis. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia.* 1997;4:94-7.
- Lakos A, Ferenczi E, Ferencz A, Tóth E (1997).** A kullancsencephalitis. *LAM.* 1997;7:116-22.
- Lakos A (1998a).** TIBOLA – egy új, kullancs által terjesztett rickettsiosis. *Praxis.* 1998;7:82-6.
- Lakos A (1998b).** TIBOLA – egy új, kullancs által terjesztett rickettsiosis. *Medartis.* 1998;2:4-8.
- Lakos A (1998c).** Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) – a new rickettsial tick-borne infection? The 16th Annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases. Bled, Slovenia, 27-29 May 1998.
- Lakos A (1998d)** Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) – rickettsiosis? European Society for Emerging Infections. Budapest, 13-16 September, 1998.
- Lakos A, Radványi A, Nagy G (1998).** Automata immunoblot analysis (AIBA) Lyme borreliosis (Lb) diagnosztizálására. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia.* 1998; 5:26.
- Lakos A (1999a).** A Lyme-betegség (Lb) diagnózisa és kezelése. *Háziorvos Továbbképző Szemle.* 1999;4:21-4.
- Lakos A (1999b).** Borreliosisok. In: Czírók É. (ed.): *Klinikai és Járványügyi Bakteriológia.* Melánia, Budapest 1999, 711-2.
- Lakos A (1999c).** Az erythema migrans (EM) klinikai formái, differenciál-diagnosztikája, kezelése. *Gyermekorvosi Figyelő* 1999;1:80-4.
- Lakos A (1999d).** Lyme szerológia. In: Czírók Éva (ed): *Klinikai és Járványügyi Bakteriológia.* Melánia, Budapest 1999, 240-5.
- Lakos A (1999e).** A Lyme-betegség (Lb) kezelése. *Gyógyszereink.* 1999;49:88-92.
- Lakos A (1999f)** Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) – a new, probably rickettsial infection. *Inf Dis Rev.* 1999;1:114-6.
- Lakos A (1999g).** Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) with unknown etiology. VIIIth International Conference on Lyme Borreliosis and other Emerging Tick-Borne Diseases. Munich, Germany June 20-24, 1999.
- Lakos A, Nagy G (1999).** Antibiotikum-kombináció hatása a Lyme-kórt okozó *Borrelia burgdorferi* szaporodására. *Orv Hetil.* 1999;140:1529-32.
- Lakos A, Nagy G, Halbritter A (1999).** In-vitro effect of antibiotic combination (pefloxacin-doxycycline and pefloxacin-ceftriaxone) on *Borrelia garinii*. VIIIth International Conference on Lyme Borreliosis and other Emerging Tick-Borne Diseases. Munich, Germany June 20-24, 1999.
- Lakos A, Raoult D (1999).** Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) a Rickettsia slovaca infection? In: Raoult D, Brouqui Ph. (eds) *Rickettsiae and Rickettsial Diseases at the turn of the third Millenium.* Elsevier (Amsterdam, Lausanne, New York, Oxford, Paris, Shannon, Tokyo) 1999, 258-261.
- Lakos A, Nagy G (2000).** *Borrelia* izolálás erythema migransból. Magyar Infektológiai Társaság tudományos ülése. 2000., Budapest.
- Lakos A (2001a).** Symptoms, epidemiology, vector, and etiology of tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA). Symposium on Tick-Transmitted Diseases. Ljubljana, Slovenia 13-15 September 2001. (Invited lecture) Abstract book, p. 12.
- Lakos A (2001b).** Lyme-arthritis. In: *Reumatológia.* Szerk.: Gömör B. Medicina, 2001, 117-120.
- Lakos A (2002a).** A Lyme-betegség szerodiagnosztikája. *Medicus Anonymus,* 2002;10:11-3.
- Lakos A (2002b):** Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA). *Wien klin Wochenschr.* 2002;114: 648-54. **(IF: 0,591)**
- Lakos A (2002c).** Neuroborreliosis. In *Betegségenciklopédia.* Szerk.: Kornya László. Springer Tudományos Kiadó Kft, Budapest, 2002, 778-779.
- Lakos A (2002d).** Szpecificsna laboratorija diagnostika. In: Aktualnyi prorodna-ognyisnyi infekcii v Blgarija. (Ed: Angelov L) *Medicinszko izdatyelsztvo “Vaszil Petrov”,* Plovdiv, 2002. pp. 294-300.
- Lakos A (2004a).** Tick-borne diseases in Hungary with special reference to tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA). (Invited lecture). EU Coordination Action: Integrated Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases (ICTTD). 27 September – 1 October 2004, Maputo, Mozambique.

- Lakos A** (2004b). A Lyme-kór laboratóriumi diagnosztikája. In: Ludwig E. (ed): Infektológiai útmutató. (Klinikai irányelvek kézikönyve) 2004, november, különszám, 19. old. Medition, Budapest.
- Lakos A** (2005a). Zoonosisok (Lyme borreliosis, Febris recurrens, Ehrlichiosis, Babesiosis, Tibola, Egyéb, kullancsok által terjesztett rickettsiosisok, Macskakarmolás betegség, Toxoplasmosis, Brucellosis, Tularaemia, Hantavírus-fertőzések, Leptospirosis, Q-láz, Anthrax, Száj- és körömfájás, Malleus) In: Szalka A, Timár L, Ludwig E, Mészner Zs (eds). Medicina, Budapest, 2005, pp. 655-700.
- Lakos A** (2005b). Tick-borne bacterial diseases. 4th ESCMID Summer School. Szeged, 2005. június 25-július 1.
- Lakos A** (2005c). A kullancsencephalitis epidemiológiája Európában. XI. Országos Védőoltási Konferencia. Eger, 2005. április 21-23.
- Lakos A**, Ferenczi E, Komoly S, Granström M (2005). Different B-cell populations are responsible for the peripheral and intrathecal antibody production in neuroborreliosis. *Int Immunol.* 2005;17:1631-7. **(IF: 3,543)**
- Lakos A**, Nagy G (2005). Klinikai vizsgálat a kullancsencephalitis megelőzésére kifejlesztett Enceppurral. *Medicus Anonymus.* 2005;13:25-7.
- Lakos A**, Solymosi N, Reiczigél J (2005). Lyme betegség epidemiológiája Magyarországon. Magyar Parazitológiai Társaság Jubileumi Tudományos Ülése. 2005, március 31. Budapest. Abstract Book 16. old.
- Lakos A** (2006). Hazai fontosabb zoonózisok (Lyme-kór, TIBOLA, leptospirosis, tularaemia, ehrlichiosis). XII. Országos Antibiotikum Továbbképző Tanfolyam. Siófok, 2006. november 16-18.
- Lakos A** (2007). A kullancsencephalitis. *Praxis.* 2007;17:1-4.
- Lakos A** (2008). Ajánlások a kullancscsípés és a kullancs által terjesztett fertőzések ellátásához. Háziorvosi Továbbképző Szemle. 2008;13:5-9.
- Lakos A**, Nagy G, Deák LC (2008). Előrelépés a Lyme diagnosztikában, a szerológiai progresszió (COMPASS) értékelése. *Medicus Anonymus.* 2008;16:20-1.
- Lakos A** (2009). Lyme borreliosis – 25 év tapasztalatai. *Orv Hetil.* 2009;150:725-32. **(Markusovszky-díj)**
- Lakos A**, Solymosi N, Földvári G (2009). Horses and drought as risk factors for tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA). *International Congress of Vector Ecology.* Antalya, 2009. October 7-9. pp 185-186.
- Lakos A** (2010). Kullancsencephalitis epidemiológiája Európában: Megéri-e oltani? Mikor oltunk, mivel oltunk? *Magyar Belorvosi Archivum* 2010;63:48-9.
- Lakos A**, Reiczigél J, Solymosi N (2010). The positive predictive value of *Borrelia burgdorferi* serology in the light of symptoms of patients sent to an outpatient service for tick-borne diseases. *Inflamm Res.* 2010;59:959-64. **(IF: 2,004)**
- Lakos A**, Solymosi N (2010a). Maternal Lyme borreliosis and pregnancy outcome. *Int J Infect Dis.* 2010;14:e494-498. **(IF: 2,529)**
- Lakos A**, Solymosi N (2010b). Lyme borreliosis in pregnancy. *European Society for Paediatric Infectious Diseases.* 2010 Nizza (Franciaország), May 4-8.
- Lakos A** (2011). A Lyme-kór diagnosztikája. Szegedi Bőrgyógyászati Továbbképző Napok: Bőrgyógyászati Továbbképző Tanfolyam. Szeged, 2011.04.07-2011.04.09. pp. 81-84. p 23.
- Lakos A**, Igari E (2011). A Lyme borreliosis klinikai és szerológiai vizsgálata erdészeti dolgozók körében. *Háziorvosi Szle.* 2011;16:10-2.
- Lakos A**, Rókus L (2011) A kullancsencephalitis járványügyi helyzete Magyarországon – a védőoltások szerepe. *Háziorvos Továbbképző Szemle.* 2011;16:38-40.
- Lakos A**, Igari E, Solymosi N (2012). Clinical and serological survey for Lyme borreliosis amongst forestry workers. (Közlésre elküldve, lektorálás alatt.)
- Lakos A**, Igari E (2012). Advancement in *Borrelia burgdorferi* antibody testing: Comparative immunoblot assay (COMPASS). In: Karami A (ed). *Lyme borreliosis.* InTech, Rijeka, 1-24. Közlésre elfogadva.
- Lämml B, Müller A, Ballmer PE (2000). Late sequelae of early summer meningoencephalitis *Schweiz med Wochenschr.* 2000;130:909-15.
- Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, Arnold LM, Choi H, Deyo RA, Gabriel S, Hirsch R, Hochberg MC, Hunder GG, Jordan JM, Katz JN, Kremers HM, Wolfe F (2008). Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. *Arthritis Rheum.* 2008;58:26–35.
- Le Gassic KF, Louie PH, **Lakos A**, Sun R, Diaco R, Dodge DE: Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in blood from Lyme disease patients by polymerase chain reaction. *International Conference on Lyme borreliosis.* Arlington, USA May 30-June 2, 1992. Abstract book, 121.
- Leschnik MW, Kirtz GC, Thalhammer JG. Tick-borne encephalitis (TBE) in dogs (2002). *Int J Med Microbiol.* 2002;291:S66-9.
- Liszkay G, **Lakos A**, Daróczy J, Vecsei É (1988). Az acrodermatitis chronica atrophicans, mint a Lyme borreliosis késői manifesztációja. *Orv Hetil.* 1988;129:2143-5.
- Lotric-Furlan S, Strle F (1995). Thrombocytopenia--a common finding in the initial phase of tick-borne encephalitis. *Infection.* 1995;23:203-6.

- Loew-Baselli A, Konior R, Pavlova BG, Fritsch S, Poellabauer E, Maritsch F, Harmacek P, Krammer M, Barrett PN, Ehrlich HJ (2006). FSME-IMMUN study group. Safety and immunogenicity of the modified adult tick-borne encephalitis vaccine FSME-IMMUN: results of two large phase 3 clinical studies. *Vaccine*. 2006;24:5256-63.
- Lőrincz I, Várvolgyi Cs, **Lakos A**, Wórum F, Kovács P, Polgár P (1989). Kullancscsípés okozta atrioventricularis block - Lyme carditis. *Orv Hetil*. 1989;130:2311-4.
- Lőrincz I, **Lakos A**, Kovács P, Várvolgyi Cs, Polgár P, Wórum F (1989). Temporary pacing in complete heart block due to Lyme disease. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1989;12:1433-6. **(IF: 1,749)**
- Luft BJ, Dattwyler RJ, Johnson RC, Luger SW, Bosler EM, Rahn DW, Masters EJ, Grunwaldt E, Gadgil SD (1996). Azithromycin compared with amoxicillin in the treatment of erythema migrans. A double-blind, randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 1996;124:785-91.
- Luft BJ, Mudri S, Jiang W, Dattwyler RJ, Gorevic PD, Fischer T, Munoz P, Dunn JJ, Schubach WH (1992). The 93-kilodalton protein of *Borrelia burgdorferi*: an immunodominant protoplasmic cylinder antigen. *Infect Immun*. 1992;60:4309-21.
- Lundkvist K, Vene S, Golovljova I, Mavtchoutko V, Forsgren M, Kalnina V, Plyusnin A (2001). Characterization of tick-borne encephalitis virus from Latvia: evidence for co-circulation of three distinct subtypes. *J Med Virol*. 2001;65:730-5.
- Ma B, Christen B, Leung D, Vigo-Pelfrey C (1992). Serodiagnosis of Lyme borreliosis by western immunoblot: reactivity of various significant antibodies against *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol*. 1992;30:370-6.
- MacDonald AB (1986). Human fetal borreliosis, toxemia of pregnancy, and fetal death. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg [A]*. 1986;263:189-200.
- MacDonald AB, Benach JL, Burgdorfer W (1987). Stillbirth following maternal Lyme disease. *NY State J Med*. 1987;87:615-6.
- Marangoni A, Sparacino M, Cavrini F, Storni E, Mondardini V, Sambri V, Cevenini R (2005). Comparative evaluation of three different ELISA methods for the diagnosis of early culture-confirmed Lyme disease in Italy. *J Clin Microbiol*. 2005;43:361-7.
- Maraspin V, Cimperman J, Lotric-Furlan S, Pleterski-Rigler D, Strle F (1999). Erythema migrans in pregnancy. *Wien klin Wochenschr*. 1999;111:933-40.
- Maraspin V, Lotric-Furlan S, Strle F (2002). Development of erythema migrans in spite of treatment with antibiotics after a tick bite. *Wien klin Wochenschr*. 2002;114:616-9.
- Markowitz LE, Steere AC, Benach JL, Slade JD, Broome CV (1986). Lyme disease during pregnancy. *JAMA*. 1986;255:3394-6.
- Marques, A (2008). Chronic Lyme disease: a review. *Infectious Disease Clinics of North America* 2008;22:341-60.
- Márquez FJ, Rojas A, Ibarra V, Cantero A, Rojas J, Oteo JA, Muniain MA (2006). Prevalence data of *Rickettsia slovaca* and other SFG *Rickettsia* species in *Dermacentor marginatus* in the southeastern Iberian peninsula. *Ann NY Acad Sci*. 2006;1078:328-30.
- Mejlon HA, Jaenson TGT (1997). Questing behaviour of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarology*. 1997;21:747-54.
- Mikkelsen AL, Palle C (1987). Lyme disease during pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1987;66:477-8.
- Milhano N, de Carvalho IL, Alves AS, Arrube S, Soares J, Rodriguez P, Carolino M, Nuncio MS, Piesman J, de Sousa R (2010). Coinfections of *Rickettsia slovaca* and *Rickettsia helvetica* with *Borrelia lusitaniae* in ticks collected in a Safari Park, Portugal. *Ticks Tick Borne Dis*. 2010;1:172-7.
- Millner MM, Thalhammer GH, Dittrich P, Spork KD, Brunner M, Georgopoulos A (1996). Beta-lactam antibiotics in the treatment of neuroborreliosis in children: preliminary results. *Infection*. 1996;24:174-7.
- Mittermayer T, Brezina R, Úrvölgyi J (1980). First report of an infection with *Rickettsia slovaca*. *Folia Parasitol (Praha)* 1980;27:373-6.
- Molnár E (1983). A kullancsencephalitis. *Medicina*, Budapest, 1983, pp. 88.
- Moriarty TJ, Norman MU, Colarusso P, Bankhead T, Kubes P, Chaconas G (2008). Real-time high resolution 3D imaging of the Lyme disease spirochete adhering to and escaping from the vasculature of a living host. *PLoS Pathog*. 2008 Jun 20;4(6):e1000090.
- Montagnani S, Tuccori M, Lombardo G, Testi A, Mantarro S, Ruggiero E, Blandizzi C (2011). Autoimmune hemolytic anemia following MF59-adjuvanted influenza vaccine administration: a report of two cases. *Ann Pharmacother*. 2011;45:e8.
- Mygland A, Ljøstad U, Fingerle V, Rupprecht T, Schmutzhard E, Steiner I (2010). European Federation of Neurological Societies: EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol*. 2010;17:8-16.
- Nachamkin I, Riddle DL, Feldman M, Edelstein PH (1996). Utilization of tests for Lyme disease antibody at a university hospital. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1996;3:287-9.
- Nadal D, Hunziker UA, Bucher HU, Hitzig WH, Duc G (1989). Infants born to mothers with antibodies against *Borrelia burgdorferi* at delivery. *Eur J Pediatr*. 1989;148:426-7.

- Niedrig M, Avsic T, Aberle SW, Ferenczi E, Labuda M, Rozentale B, Donoso Mantke O (2007). Quality control assessment for the serological diagnosis of tick borne encephalitis virus infections. *J Clin Virol.* 2007;38:260-4.
- Nilsson K, Lindquist O, Pahlson C (1999). Association of *Rickettsia helvetica* with chronic perimyocarditis in sudden cardiac death. *Lancet.* 1999;354:1169-73.
- Nohlmans MK, Blaauw, AA, van den Bogaard AE, van Boven CP (1994). Evaluation of nine serological tests for diagnosis of Lyme borreliosis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 1994;13:394-400.
- Norman GL, Antig JM, Bigaignon G, Hogrefe W R (1996). Serodiagnosis of Lyme borreliosis by *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, *B. Afzelii* Western blots (Immunoblots). *J Clin Microbiol.* 1996;34:1732-8.
- Numthavaj P, Thakkinstian A, Dejthevaporn C, Attia J (2011). Corticosteroid and antiviral therapy for Bell's palsy: a network meta-analysis. *BMC Neurology.* 2011;11:1.
- Ormay I, Leichtner T, Lakos A, Ferencz A (1990). Lyme carditis. *Magyar Infektológiai Társaság Vándorgyűlése.* Ajka, 1990. szept. 26-27.
- Országos Epidemiológiai Központ (1998). Módszertani útmutató a Lyme borreliosis klinikai és laboratóriumi diagnosztikájára és terápiájára. *OEK Módszertani Levelek.* 1998, 6-20.
- Ortuño A, Quesada M, López S, Miret J, Cardenosa N, Castellí J, Anton E, Segura F (2006). Prevalence of *Rickettsia slovaca* in *Dermacentor marginatus* ticks removed from wild boar (*Sus scrofa*) in northeastern Spain. *Ann NY Acad Sci.* 2006;1078:324-7.
- Ortuño A, Quesada M, López-Claessens S, Castellí J, Sanfeliu I, Antón E, Segura-Porta F (2007). The role of wild boar (*Sus scrofa*) in the eco-epidemiology of *R. slovaca* in Northeastern Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2007;7:59-64.
- Oteo JA, Ibarra V, Blanco J (2000). Eritema, necrosis y linfadenopatía. Una nueva enfermedad (DEBONEL) transmitida por *Dermacentor marginatus* Sulzer 1776. *Zubia Monogr* 2000;12:49-58.
- Oteo J A, Ibarra V, Blanco JR, Martínez de Artola V, Márquez FJ, Portillo A, Raoult D, Anda P (2004). *Dermacentor*-borne necrosis erythema and lymphadenopathy: clinical and epidemiological features of a new tick-borne disease. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004;10:327-31.
- Oteo JA, Ibarra V, Blanco JR, Metola L, Vallejo M, De Artola VM (2003). Epidemiological and clinical differences among DEBONEL-TIBOLA and other tick-borne diseases in Spain. *Ann NY Acad Sci.* 2003;990:391-2.
- Pachner AR, Steere AC (1984). Neurological findings of Lyme disease. *Yale J Biol Med* 1984;57:481-3.
- Parola P, Rovey C, Rolain JM, Brouqui P, Davoust B, Raoult D (2009). *Rickettsia slovaca* and *R. raoultii* in tick-borne *Rickettsioses*. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:1105-8.
- Petri E, Gniel D, Zent O (2010). Tick-borne encephalitis (TBE) trends in epidemiology and current and future management. *Travel Med Infect Dis.* 2010;8:233-45.
- Pérez-Pérez L, Portillo A, Allegue F, Zulaica A, Oteo JA, Caeiro JL, Fabeiro JM (2010). *Dermacentor*-borne necrosis erythema and lymphadenopathy (DEBONEL): A case associated with *Rickettsia rioja*. *Acta Derm Venereol.* 2010;90:214-5.
- Pharmindex (2010). CD-ROM.
- Puhó EH, Szunyogh M, Métneki J, Czeizel AE (2007). Drug treatment during pregnancy and isolated orofacial clefts in Hungary. *Cleft Palate Craniofac J.* 2007;44:194-202.
- Plorer A, Sepp N, Schmutzhard E, Krabichler S, Trobos S, Schauer G, Pahl C, Stoffler G, Fritsch P (1993). Effects of adequate versus inadequate treatment of cutaneous manifestations of Lyme borreliosis on the incidence of late complications and late serologic status. *J Invest Dermatol* 1993;100:103-9.
- Pluta S, Hartelt K, Oehme R, Mackenstedt U, Kimmig P (2010). Prevalence of *Coxiella burnetii* and *Rickettsia* spp. in ticks and rodents in southern Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 2010;1:145-7.
- Porta FS, Nieto EA, Creus BF, Espín TM, Casanova FJ, Sala IS, García SL, Aguilar JL, Vilaseca MQ (2008). Tick-borne lymphadenopathy: a new infectious disease in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27:618-22.
- 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.
- Qiu W-G, Bruno JF, McCaig WD, Xu Y, Livey I, Schriefer ME, Luft BJ (2008). Wide distribution of a high-virulence *Borrelia burgdorferi* clone in Europe and North America. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1097-104.
- R Development Core Team (2007). R, a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2007. ISBN 3-900051-07-0, Elérhető: <http://www.R-project.org>.
- Randolph SE (2004). Ticks and tick-borne disease systems in space and from space. *Adv Parasitol.* 2000;47:217-43.
- Randolph SE, EDEN-TBD sub-project team (2010). Human activities predominate in determining changing incidence of tick-borne encephalitis in Europe. *Euro Surveill.* 2010;15:24-31.
- Raoult D, Hechemy KE, Baranton G (1989). Cross-reaction with *Borrelia burgdorferi* antigen of sera from patients with human immunodeficiency virus infection, syphilis, and leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 1989;27:2152-5.
- Raoult D, Berbis P, Roux V, Xu W, Maurin M (1997). A new tick-transmitted disease due to *Rickettsia slovaca*. *Lancet.* 1997;350:112-3.

- Raoult D, **Lakos A**, Fenollar F, Beytout J, Brouqui P, Fournier PE: Spotless Rickettsiosis caused by *Rickettsia slovaca* and associated with *Dermacentor* ticks. Clin Infect Dis. 2002;34:1331-6. (IF: 4,750)
- Rath PM, Marsch WC, Brade V, Fehrenbach F (1994). Serological distinction between syphilis and Lyme borreliosis. Zentralblatt für Mikrobiologie. 1994;280:319-324.
- Rehacek J (1984). *Rickettsia slovaca*, the organism and its ecology. Acta Sc Nat Brno. 1984;18:1-50.
- Rehacek J (1993). *Rickettsiae* and their ecology in the Alpine region. Acta virol. 1993;37:290-301.
- Rehacek J, Kovacova E, Kocianova E, **Lakos A**, Nagy T, Hegedus D (1998). Detection of rickettsiae in ticks in Hungary. 1st Congress of the European Society for Emerging Infections, 13-16 September, 1998, Abstract book, 50.
- Rendi-Wagner P, Kundi M, Zent O, Banzhoff A, Jaehnig P, Stemberger R, Dvorak G, Grumbeck E, Laaber B, Kollaritsch H (2004). Immunogenicity and safety of a booster vaccination against tick-borne encephalitis more than 3 years following the last immunisation. Vaccine. 2004;23:427-34.
- Rieg S, Schmoldt S, Theilacker C, de With K, Wölfel S, Kern WV, Dobler G (2011). Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) acquired in Southwestern Germany. BMC Infect Dis. 2011;11:167.
- Robertson J, Guy E, Andrews N, Wilske B, Anda P, Granström M, Hauser U, Moosmann Y, Sambri V, Schellekens J, Stanek G, Gray J (2000). A European multicenter study of immunoblotting in serodiagnosis of Lyme borreliosis. J Clin Microbiol. 2000;38:2097-102.
- Rókusz L (2002). Tibola-betegség In: Betegségenciklopédia, Springer Tudományos Kiadó Kft. 2002. 842-43.
- Ryberg B (1984). Bannwarth's syndrome (lymphocytic meningoradiculitis) in Sweden. Yale J Biol Med. 1984;57:499-503.
- Santibáñez S, Ibarra V, Portillo A, Blanco JR, Martínez de Artola V, Guerrero A, Oteo JA (2006). Evaluation of IgG antibody response against *Rickettsia conorii* and *Rickettsia slovaca* in patients with DEBONEL/TIBOLA. Ann NY Acad Sci. 2006;1078:570-2.
- Schlesinger PA, Duray PH, Burke BA, Steere AC, Stillman MT (1985). Maternal-fetal transmission of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. Ann Intern Med. 1985;103:67-8.
- Schmolck H, Maritz E, Kletzin I, Korinthenberg R (2005). Neurologic, neuropsychologic, and electroencephalographic findings after European tick-borne encephalitis in children. J Child Neurol. 2005;20:500-8.
- Schneider F, Pergel R (2000). Kullancsencephalitis előfordulása és kimenetele Vas Megyében 1988-1998. között. Vasi Szemle. 2000;54:827-38.
- Schutzer SE, Janniger CK, Schwartz RA (1991). Lyme disease during pregnancy. Cutis. 1991;47:267-8.
- Schwarz B (1993). Health economics of early summer meningoencephalitis in Austria. Effects of a vaccination campaign 1981-1990. Wien med Wochenschr. 1993;143:551-5.
- Selmi M, Bertolotti L, Tomassone L, Mannelli A (2008). *Rickettsia slovaca* in *Dermacentor marginatus* and tick-borne lymphadenopathy, Tuscany, Italy. Emerg Infect Dis. 2008;14: 817-20.
- Selmi M, Martello E, Bertolotti L, Bisanzio D, Tomassone L (2009). *Rickettsia slovaca* and *Rickettsia raoultii* in *Dermacentor marginatus* ticks collected on wild boars in Tuscany, Italy. J Med Entomol. 2009;46:1490-3.
- Shapiro ED, Gerber MA (2000). Lyme disease. Clinical Infectious Disease. 2000;31:533-542.
- Shirts SR, Brown MS, Bobitt JR (1983). Listeriosis and borreliosis as causes of antepartum fever. Obstet Gynecol. 1983;62:256-61.
- Silver RM, Yang L, Daynes RA, Branch DW, Salafia CM, Weis JJ (1995). Fetal outcome in murine Lyme disease. Infect Immun. 1995;63:66-72.
- Simpson WJ, Burgdorfer W, Schrupf ME, Karstens RH, Schwan TG (1991). Antibody to a 39-kilodalton *Borrelia burgdorferi* antigen (P39) as a marker for infection in experimentally and naturally inoculated animals. J Clin Microbiol. 1991;29:236-43.
- Sindic CJ, Depre A, Bigaion G, Goubau PF, Hella P, Laterre C (1987). Lymphocytic meningoradiculitis and encephalomyelitis due to *Borrelia burgdorferi*: a clinical and serological study of 18 cases. Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry. 1987;50: 1565-1571.
- Sivak SL, Agüero-Rosenfeld ME, Nowakowski J, Nadelman RB, Wormser GP (1996). Accuracy of IgM immunoblotting to confirm the clinical diagnosis of early Lyme disease. Arch Intern Med. 1996;156:2105-9.
- Sood SK, Rubin LG, Blader ME, Ilowite NT (1993). Positive serology for Lyme borreliosis in patients with juvenile rheumatoid arthritis in a Lyme borreliosis endemic area: analysis by immunoblot. J Rheumatol. 1993;20:739-41.
- Sréter-Lancz Z, Széll Z, Kovács G, Egyed L, Márialigeti K, Sréter T (2006). *Rickettsiae* of the spotted-fever group in ixodid ticks from Hungary: identification of a new genotype ('*Candidatus Rickettsia kotlanii*'). Ann Trop Med Parasitol. 2006;100:229-36.
- Szabó Zs, **Lakos A** (1992). Neuropsychological tests in late neuroborreliosis. International Conference on Lyme borreliosis. Arlington, USA May 30-June 2, 1992.
- Stanek G, O'Connell S, Cimmino M, Aberer E, Kristoferitsch W, Granström M, Guy E, Gray J (1996). European Union Concerted Action on risk assessment in Lyme borreliosis: clinical case definitions for Lyme borreliosis. Wien klin Wochenschr. 1996;108:741-7.

- Stanek G, Strle F (2003). Lyme borreliosis. *Lancet*. 2003;362:1639-1647.
- Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F (2011). Lyme borreliosis. *Lancet*. 2011 Sep 6. [Epub ahead of print]
- Steere AC, Malawista SE, Snyderman DR, Shope RE, Andiman WA, Ross MR, Steele FM (1977). Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three connecticut communities. *Arthritis Rheum*. 1977;20:7-17.
- Steere AC, Coburn J, Glickstein L (2004). The emergence of Lyme disease. *J Clin Invest*. 2004;113:1093-101.
- Steere AC, Angelis SM (2006). Therapy of Lyme arthritis: strategies for the treatment of antibiotic-refractory arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006;5:3079-86.
- Steere AC, McHugh G, Damle N, Sikand VK (2008). Prospective study of serologic tests for Lyme disease. *Clin Inf Dis*. 2008;47:188-95.
- Stiernstedt G (1990). Lyme borreliosis during pregnancy. *Scand J Infect Dis*. 1990;71:S99-100.
- Straubinger RK, Straubinger AF, Summers BA, Jacobson RH (2000). Status of *Borrelia burgdorferi* infection after antibiotic treatment and the effects of corticosteroids: An experimental study. *J Infect Dis*. 2000;181:1069-81.
- Strobino BA, Williams CL, Abid S, Chalson R, Spierling P (1993). Lyme disease and pregnancy outcome: a prospective study of two thousand prenatal patients. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;169:367-74.
- Strobino B, Abid S, Gewitz M (1999). Maternal Lyme disease and congenital heart disease: A case-control study in an endemic area. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180:711-6.
- Sullivan FM, Swan IR, Donnan PT, Morrison JM, Smith BH, McKinstry B, Davenport RJ, Vale LD, Clarkson JE, Hammersley V, Hayavi S, McAteer A, Stewart K, Daly F (2007). Early treatment with prednisolone or acyclovir in Bell's palsy. *New Engl J Med*. 2007;357:1598-607.
- Šumilo D, Asokliene L, Avsic-Zupanc T, Bormane A, Vasilenko V, Lucenko I, Golovljova I, Randolph SE (2008). Behavioural responses to perceived risk of tick-borne encephalitis: vaccination and avoidance in the Baltics and Slovenia. *Vaccine*. 2008;26:2580-8.
- Süss J (2008). Tick-borne encephalitis in Europe and beyond – the epidemiological situation as of 2007. *Euro Surveill*. 2008;13:18916.
- Szer IS, Taylor E, Steere AC (1991). The long-term course of Lyme arthritis in children. *New Engl J Med*. 1991;325:159-63.
- Szever Z, Lakos A (1988). Lyme borreliosis okozta diplegia facialis. Magyar Neurológiai és Pszichiátriai Társaság, a Magyar Gyermekgyógyász és Idegsebész Társaság Tudományos Ülése. 1988. ápr. 9. Kecskemét.
- Toubi E (2010). Infections more than vaccines are inducers of autoimmune diseases. *Isr Med Assoc J*. 2010;12:635-7.
- Towbin H, Staehelin T, Gordon J (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1979;76:4350-4.
- Török É, Lakos A, Dragodán K, Lányi C (1987). Erythema chronicum migrans Lipschütz. (A Lyme borreliosis első tünete.) *Orv Hetil*. 1987;128:1983-6.
- Tuuminen T, Hedman K, Söderlund-Venermo M, Seppälä I (2011). Acute parvovirus B19 infection causes nonspecificity frequently in *Borrelia* and less often in *Salmonella* and *Campylobacter* serology, posing a problem in diagnosis of infectious arthropathy. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2011;18:167-72.
- Várai Gy, Lakos A, B. Kovács A (1994). Doxycyclin és Penicillin kezelés összehasonlítása erythema chronicum migransban. Első Hazai Lyme kongresszus. Budapest, 1994. december 1-4. Abstract book p. 56.
- Veleszületett Rendellenességek Országos Nyilvántartása 1986-2006. (2010): Az adatok egy része az OEK adatbázisából származik, részben elérhető az OEK Humangenetikai és Teratológiai Osztályán, <http://www.oek.hu/oek.web?to=127,587,139,131&nid=145&pid=1&lang=hun>
- Vesco U, Knap N, Labruna MB, Avšič-Županc T, Estrada-Peña A, Guglielmone AA, Bechara GH, Gueye A, Lakos A, Grindatto A, Conte V, De Meneghi D (2011). An integrated database on ticks and tick-borne zoonoses in the tropics and subtropics with special reference to developing and emerging countries. *Exp Appl Acarol*. 2011;54:65-83. (IF: 1,825)
- Vos K, Van Dam AP, Kuiper H, Bruins H, Spanjaard L, Dankert J (1994). Seroconversion for Lyme borreliosis among Dutch military. *Scand J Infect Dis*. 1994;26:427-34.
- Weber K, Bratzke HJ, Neubert U, Wilske B, Duray PH (1988). *Borrelia burgdorferi* in a newborn despite oral penicillin for Lyme borreliosis during pregnancy. *Pediatr Infect Dis J*. 1988;7:286-9.
- Weiss NL, Sadock VA, Sigal LH, Phillips M, Merryman PF, Abramson SB (1995). False positive seroreactivity to *Borrelia burgdorferi* in systemic lupus erythematosus: the value of immunoblot analysis. *Lupus*. 1995;4:131-7.
- Weissenböck H, Suchy A, Holzmann H (1998). Tick-borne encephalitis in dogs: neuropathological findings and distribution of antigen. *Acta Neuropathol*. 1998;95:361-6.
- WHO (1989). Workshop. European Seminar on Lyme borreliosis; Prague, Czechoslovakia; 14-17 November 1989. In: Stanek (ed.), *Lyme Borreliosis II*, Zbl. Bakt. Suppl. 18 Gustav Fischer, Stuttgart, New York, 1989, 352-61.
- WHO (1990). Workshop. Lyme borreliosis. Report on a WHO Workshop, Stockholm, 1990. June 18. EUR/ICP/OCD 010, Target 4, „Reducing disease and disability” WHO, Eur, pp 1-10.
- WHO (1995). Workshop on Lyme borreliosis diagnosis and surveillance. Varsó, 1995. június 20-22. WHO, Veterinary Public Health Unit. WHO/CDS/VPH/95.141.

- WHO (2004). The vector-borne human infections in Europe. Their distribution and burden on public health. (www.euro.who.int/document/e82481.pdf, letöltve: 2011. jan. 16).
- Williams CL, Strobino B, Weinstein A, Spierling P, Medici F (1995). Maternal Lyme disease and congenital malformations: a cord blood serosurvey in endemic and control areas. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 1995;9:320-30.
- Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, von Busch K, Kühlbeck R, Pfister HW, Einhäuple K (1986). Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphocytic meningoradiculitis (Bannwarth's syndrome). *J Inf Dis.* 1986;153:304-14.
- Wilske B, Bader L, Pfister HW, Preac-Mursic V (1991). Diagnostik der Lyme-Neuroborreliose. Nachweis der intrathekalen Antikörperbildung. *Fortschr Med.* 1991;109:441-6.
- Wilske B, Fingerle V, Herzer P, Hofmann A, Lehnert G, Peters H, Pfister HW, Preac-Mursic V, Soutschek E, Weber K (1993). Recombinant immunoblot in the serodiagnosis of Lyme borreliosis. Comparison with indirect immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assay. *Med Microbiol Immunol Berl.* 1993;182:255-70.
- Wittermann C, Schöndorf I, Gniel D (2009). Antibody response following administration of two paediatric tick-borne encephalitis vaccines using two different vaccination schedules. *Vaccine.* 2009;27:1661-6.
- Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klempner MS, Krause PJ, Bakken JS, Strle F, Stanek G, Bockenstedt L, Fish D, Dumler JS, Nadelman RB (2006). The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2006;43:1089-134.
- Wormser GP, Ramanathan R, Nowakowski J, McKenna D, Holmgren D, Visintainer P, Dornbush R, Singh B, Nadelman RB (2003). Duration of antibiotic therapy for early Lyme disease. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Int Med.* 2003;138:697-704.
- Zöldi V, Erdős G, Szlobodnyik J, Pauliny Z (2009). 2. Módszertani levél a kullancsok elleni védekezésről. *Epinfo.* 2009;16:1-61.
- Zöller L, Burkard S, Schäfer H (1991). Validity of Western immunoblot band patterns in the serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol.* 1991;29:174-82.
- Zavala-Velazquez JE, Ruiz-Sosa JA, Sanchez-Elias RA, Becerra-Carmona G, Walker DH (2000). *Rickettsia felis* - the etiologic agent of three cases of rickettsiosis in Yucatan. *Lancet.* 2000;356:1079-80.