

Lyme Borreliose-Diagnostik

Jana Heidrich

Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV)

Die Diagnose der Lyme Borreliose stellt ein Zusammenspiel von Anamnese, klinischem Bild und serologischen Befunden dar. Sie kann endgültig bei positivem Erregernachweis oder Serumtiteranstieg gestellt werden. Vor Einleitung einer Therapie sollten die vor allem zu Lahmheit führenden anderen Ursachen differentialdiagnostisch ausgeschlossen werden. Momentan gibt es in Europa leider keinerlei Standardisierung (Gold-Standard) hinsichtlich der verschiedenen Testmethoden oder der Ergebnisinterpretation.

Für die Diagnose der Lyme Borreliose stehen direkte und indirekte Nachweisverfahren zur Verfügung (Tab.1). Als Untersuchungsmaterialien dienen Blut, Liquor, Synovia, Urin, Zeckenhomogenate und Gewebeproben.

Tab.1: Nachweisverfahren zur Diagnose der Lyme Borreliose

| NACHWEISVERFAHREN | METHODE |
|-------------------|---|
| direkt: | |
| Erregernachweis | Mikroskopie |
| | Kultivierung |
| DNA-Nachweis | Polymerase-Kettenreaktion (PCR) |
| indirekt: | |
| Erregernachweis | Indirekter Immunfluoreszenztest (IFT) |
| | Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) |
| | Western-Blot |

Direkte Nachweisverfahren:

Die klassische **lichtmikroskopische Untersuchung** der Borrelien ist nur bedingt geeignet, da sich während der Fixierung und Lagerung oftmals die charakteristische Morphologie verändert bzw. verloren geht. Für die Nativdarstellung des Erregers findet die Dunkelfeld- oder Phasenkontrastmikroskopie sowie die Elektronenmikroskopie Einsatz. Die **kulturelle Anzucht** von *Borrelia (B.) burgdorferi* ist aufgrund des hohen Nährstoffanspruches und der langen Wachstumszeit schwierig. Borrelien vermehren sich durch Querteilung bei einer Generationszeit von 7 bis 20 Stunden, wodurch sich vorhandene Begleitkeime stark vermehren können und zum Absterben des Erregers führen. Die **PCR**-Technik erlaubt einen Nachweis geringster Mengen erregerspezifischer DNA im Probenmaterial. Die Reaktion beruht auf einer zyklischen Neusynthese (Amplifikation) von DNA-Sequenzen nach Zugabe einer thermostabilen DNA-Polymerase, der sequenzspezifischen Oligonukleotide (Primer) und den vier Nukleinsäureeinzelbausteinen (dNTP's). Die Amplifikate sollten hinsichtlich ihrer Spezifität mit Hilfe der Hybridisierung, Restriktionsenzymanalyse oder Sequenzierung untersucht werden.

Indirekte Nachweisverfahren:

Das Prinzip der **Immunfluoreszenztechnik** beruht auf der Kopplung eines spezifischen Antikörpers (AK) mit einem fluoreszierenden Farbstoff (Konjugation) und der anschließenden Darstellung des Antigen (AG)-AK-Komplexes im Fluoreszenzmikroskop. Gewisse diagnostische Schwierigkeiten entstehen durch unspezifische Fluoreszenzen. Inzwischen hat sich diese Methode zur Routine etabliert, überwiegend zum Nachweis von Borrelien in Zecken. Der **ELISA** kombiniert immunologische und enzymatische Verfahren. Nach Ablauf einer AG-AK-Reaktion und Zugabe von enzymmarkierten Antiseren kommt es zur Bildung

eines Immunkomplexes, der durch den enzymabhängigen Farbumschlag eines zugegebenen Substrates sichtbar gemacht wird. In der Diagnostik der Lyme-Borreliose ist die AK-Bestimmung am gebräuchlichsten. Durch die Differenzierung der AK in verschiedene Immunglobulinklassen (IgM, IgG) können Rückschlüsse auf den Infektionszeitraum geschlossen werden. Im **Western-Blot** werden die Antigene von *B. burgdorferi* mittels Polyacrylamid-Gelelektrophorese aufgetrennt und auf eine Membran aus Nitrozellulose oder Polyvinylidendifluorid transfundiert. Nach Inkubation mit dem zu untersuchenden Serum wird die Reaktion mittels Substratfärbung sichtbar gemacht. Es entstehen dabei unterschiedliche Banden, die nach ihrer Spezifität interpretiert werden.

Dissertation: „Untersuchungen zur Prävalenz von *B. burgdorferi* s.l. beim Rotfuchs (*Vulpes vulpes*) in Ostbrandenburg“

In der Arbeit wurde geprüft, ob der Rotfuchs (*Vulpes vulpes*) als Reserviertier eine Rolle in der Epidemiologie der Lyme-Borreliose spielt. Das Probenmaterial stammte von Füchsen aus den Landkreisen Oder-Spree, Uckermark, Barnim und Märkisch-Oderland, die im Rahmen der Tollwutdiagnostik im Staatlichen Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt in Frankfurt (Oder) untersucht wurden. Von 100 Rotfüchsen waren 78 Tiere mit Schildzecken (*I. ricinus*, *I. hexagonus*, *I. canisuga*) befallen.

Die kulturelle Anzucht von *B. burgdorferi* s.l. aus Hautproben gelang sowohl im MKP- als auch im BSK II-Medium nicht. Im Dunkelfeldmikroskop wurden bei 26% der untersuchten Füchse unbewegliche, spirochätenähnliche Gebilde festgestellt, die sich mittels der Elektronenmikroskopie als Flagellenbündel der Begleitflora erwiesen und in der Borrelien-spezifischen PCR negativ reagierten. Mit Hilfe der nested-PCR konnte in 7% der Hautproben Borrelien-DNS nachgewiesen werden.

Der Nachweis spezifischer *Borrelia*-AK (IgG) im Vollblut der Rotfüchse mittels zwei verschiedener ELISA-Tests verlief negativ.

Die Infektionsrate der Zecken wurde im indirekten Immunfluoreszenztest und der PCR bestimmt. Die mit Hilfe polyklonaler AK nachgewiesene Prävalenz von 45 % liegt deutlich höher als die unter Verwendung monoklonaler AK (18 %). Mittels einer OspA-spezifischen nested-PCR konnte eine Zeckenbefallsrate von 19 % ermittelt werden. Die Amplifikationsprodukte wurden im Southern-Blot-Verfahren bestätigt.

Nach den eigenen Untersuchungsergebnissen kann zusammenfassend festgestellt werden, dass der Rotfuchs über keine bzw. nur eine geringe Reservoirkompetenz verfügt.

Anschrift:

Dr. Jana Heidrich
BgVV (FG 506 Parasitologie)
Diedersdorfer Weg 1
12277 Berlin