

Borreliose-Serologie

Die Lyme Borreliose gewinnt zunehmend an Bedeutung. Geschätzte Erkrankungshäufigkeiten für Zentral-Europa gehen bis zu 237/100.000 Einwohner und in einigen Regionen bis zu 1,5% pro Jahr. Das Spektrum der Krankheitssymptome ist komplex und die klinische Diagnose ist bei vielfältigen Allgemeinsymptomen schwierig und oft nicht zuverlässig. Die Antikörperbestimmung kann das diagnostische Problem oftmals nicht lösen, weil es „falsch-positive“ und „falsch-negative“ Resultate gibt. Der serologische Befund gibt eine begrenzte Antwort hinsichtlich der Stadieneinteilung der Lyme-Borreliose. Immerhin kann die Serologie einen Hinweis darauf geben, ob in der Vergangenheit eine Infektion mit *Borrelia burgdorferi* s.l. stattgefunden hat. Die Serologie hat einen sehr begrenzten Stellenwert bei der Therapiekontrolle der Lyme-Borreliose. Normalerweise wird eine Stufendiagnostik – ähnlich dem diagnostischen Vorgehen bei der HIV-Infektion – durchgeführt. Lassen sich im Suchtest (i-IFT, ELISA, HAT oder KBR) Antikörper nachweisen, so wird ein Bestätigungstest in Form eines Western-/ Immuno-Blots durchgeführt. Das Ergebnis wird durch den Nachweis und die Interpretation von Banden gestellt. Es soll gezeigt werden, dass der diagnostische Wert der Test-Kits von verschiedenen Herstellern erheblich schwankt. Das kann dazu führen, dass die Diagnose verpasst wird, sofern ein nicht geeignetes Test-System verwendet wird. Dieses Poster soll mögliche Einflüsse auf das serologische Ergebnis aufzeigen. Beispiele werden anhand von Blot-Streifen aus der täglichen Routine gegeben.

1 Talaska, Brandenburgisches Ärzteblatt 11 / 2002; 338-340

2 Poster: B. Reimer†, A. Marschang†, V. Fingerle‡, B. Wilske‡, F. v. Sonnenburg†,

† Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin, ‡ Max-von-Pettenkofer Institut für Mikrobiologie, Universität München, 1999

3 Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay, Indirekter Immunfluoreszenz-Test, Hämagglutinations-Test, Complement – Bindungs- Reaktion

Deutsche Version des Posters anlässlich des Internationalen Potsdam-Symposiums VIII in Jena, März 2005

U. Everth, U. Weller, A. Waldherr, Laborzentrum Berlin, Potsdamer Strasse 68-70, 10785 Berlin; E-mail: poster@everth.de

Copyright: Uta Everth

Technische Einflüsse auf serologische Ergebnisse

1. Antigene

- Welche Antigene werden eingesetzt? *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*?
- Produktion der Antigene: langezeit prozessierte, z.B. in Kultur gehaltene Stämme verlieren oder ändern ihre Antigenität.
- Möglicherweise ist ein „falscher“ Pko-/ *B. afzelii* – Stamm von der Stammsammlung in Braunschweig (DSMZ) vertrieben worden.
- Reinigung der Lysate.
- Rekombinante Antigene?

2. Seren

- Welche Verdünnung / welcher Titer wird verwendet?
- Welche Probenmenge wird verwendet?
- Welche Adsorbentien werden verwendet?
- Präanalytik: z.B. Aufbewahrungstemperatur

3.ELISA:

- Beschichtungsdicke der Kavitäten mit Antigen
- Aufbau: kompetitiv oder nicht kompetitiv, μ -capture
- Der cut erscheint über die Qualität des Resultates: positiv, negativ oder grenzwertig

4.Indirekter IFT:

- Intensität der Gegenfärbung

5.Western- / Immuno-Blot:

- Gespritzte oder geblottete Banden?
- Auswerteschablone:
 - Fertig zum Gebrauch?
 - Oder vom Anwender zu erstellen?
 - Welche Banden werden auf dem Bandlocator angezeigt?

Durchführung

- Wurden Kontrollen mitgeführt (positiv, negativ, cut)?
- Ist der Blot-cut genug entwickelt?
- Wie viel Konjugat wird z.B. beim IFT getropft?

Einstellung der Teste

Es gibt keinen „Goldstandard“ im Bereich der Borreliose-Serologie; somit werden verschiedene Evaluationsmethoden verwendet. Die Ergebnisse werden in Bezug auf Sensitivität und Spezifität klassifiziert. Es ist durchaus üblich, eine Serologie an einer anderen Serologie zu evaluieren. Eine weitere Möglichkeit stellt der Vergleich von klinischen Parametern und den Ergebnissen vergleichbarer serologischer Verfahren dar. Selten wird die Serologie mit PCR – oder Kultur-Resultaten verglichen. Es kommt vor, dass der ELISA-cut durch den Vergleich mit gepoolten Seren von Blutspendern ermittelt wird und dazu eine geschätzte Seroprävalenz zu Grunde gelegt wird.

Methoden

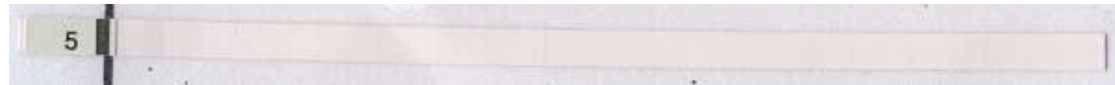
Wir zeigen den Vergleich von 8 Seren, die auf zwei bis vier verschiedenen kommerziell erhältlichen Test-Systemen eingemessen worden sind (Blots). Die Teste wurden nach Herstellerangaben durchgeführt. Test-Kits mit verschiedenen Antigenen wurden eingesetzt:

- I. Vollzell-Lysat- Blot mit Antigen von *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (Bb ss) Stamm 2531
- II. Vollzell-Lysat- Blot mit Antigen *Borrelia afzelii* und OspC von *B. garinii*
- III. Vollzell-Lysat- Blot mit Antigen *Borrelia afzelii*
- IV. Vollzell-Lysat- Blot mit Antigen *Borrelia-afzelii* und VlsE von Bb ss
- V. Vollzell-Lysat- Blot mit Antigen Bb ss und *Borrelia afzelii*
- VI. Vollzell-Lysat- Blot mit Antigen Bb ss und *Borrelia afzelii* und *Borrelia garinii*
- VII. Line-Blot mit OspC, VlsE, p39, p83, BBA36, BBO323, Crasp3, pG, EBV
- VIII. Rekombinanter - Blot mit p100 (*B. afzelii*), p41 (*B. afzelii*), p39 (*B. afzelii*), OspA (*B. afzelii*), OspC (3 strains), p41 int. (*B. afzelii*, *B. garinii*), p18 (*B. afzelii*)
- IX. Vollzell-Lysat- Blot mit Antigen von Bb ss und *B. afzelii* und VlsE

4 Proben wurden auf 3
verschiedenen IgM-Blots
eingemessen

IgM, test I:

Patient B.:



Patient D.:



66 58
↓ ↓

Patient J.:



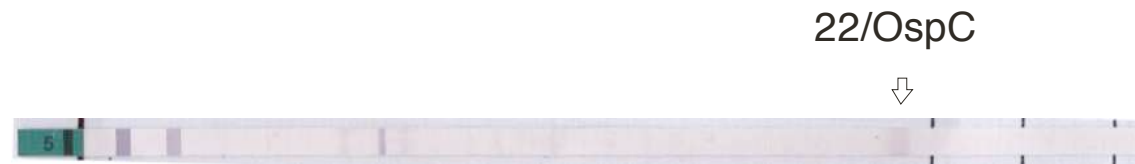
23
↓

Patient V.:



IgM, test II:

Patient B.



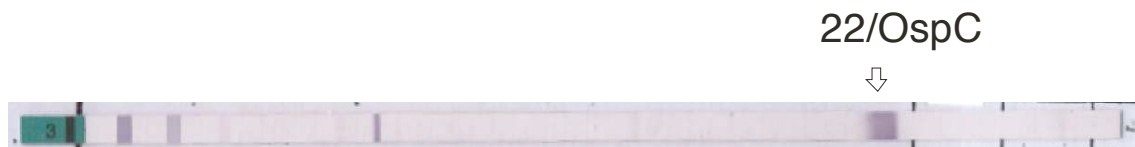
Patient D.:



Patient J.:



Patient V.:

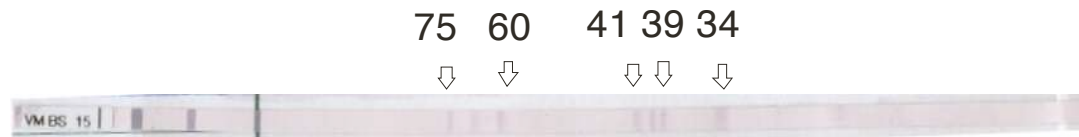


IgM, test V:

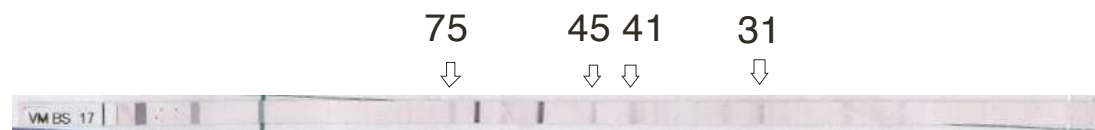
Patient B.:



Patient D.:



Patient J.:



Patient V.:



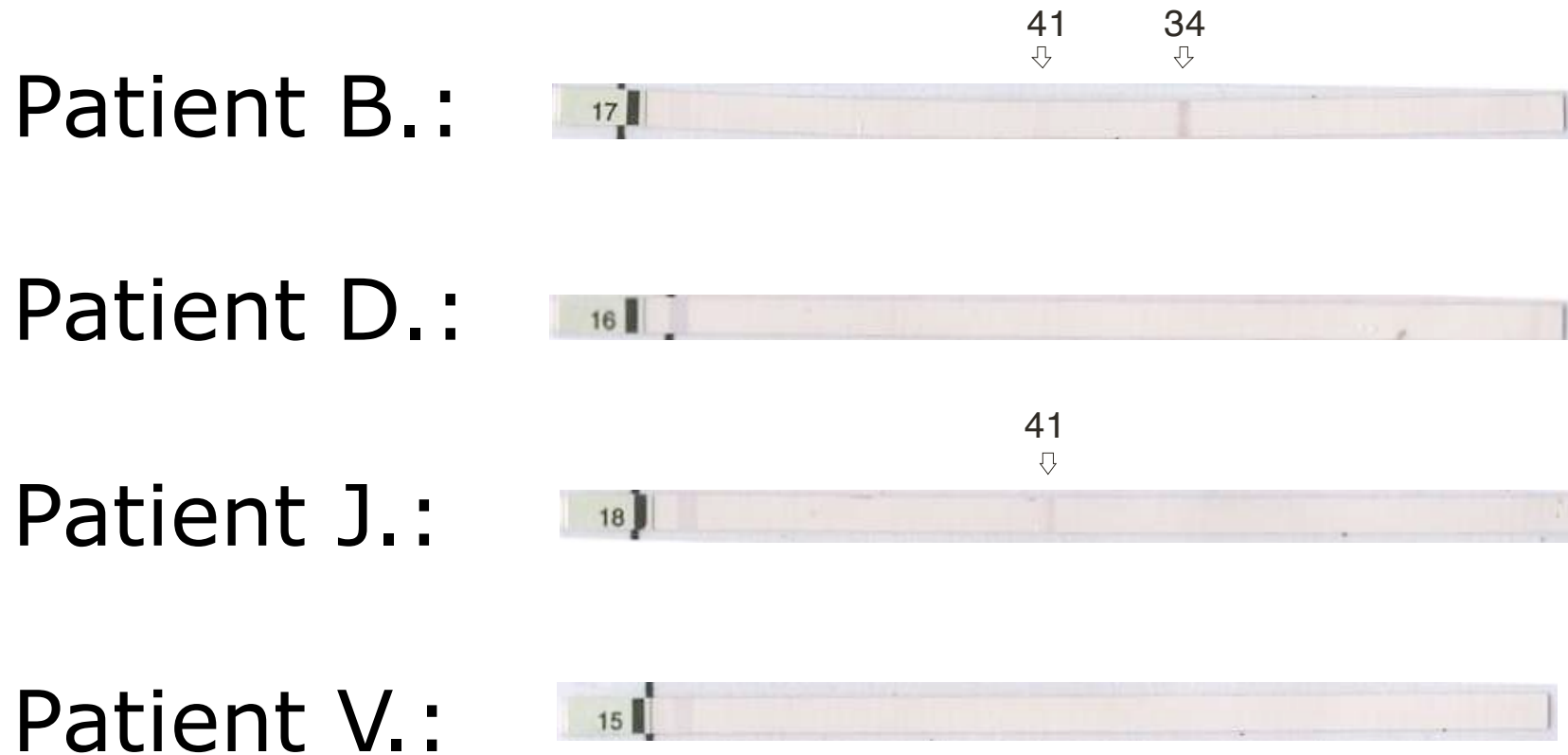
Results IgM-blots

	Test I	Test II	Test V
	Bands:	Bands:	Bands:
Patient B:		22/O spC	45, 41, 39, 25
Patient D:			75, 60, 41, 39, 34
Patient J:	66, 58	22/O spC (B. garinii)	75, 45, 41, 31
Patient V:	23	22 / O spC	25, 22

Patient J.: Reaktivität mit zusätzlichem OspC-Antigen (B. garinii) in Test II

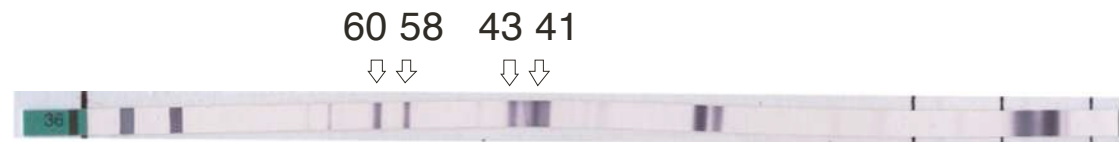
4 Proben wurden auf 3
verschiedenen IgG-Blots
eingemessen

IgG, test I :



IgG, test II :

Patient B.



Patient D.:



Patient J.:

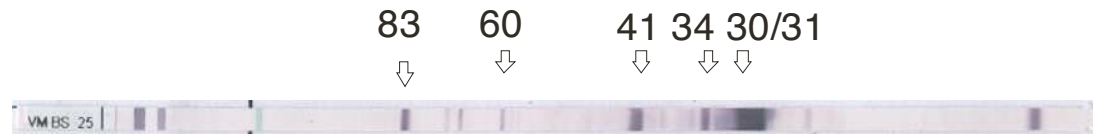


Patient V.:

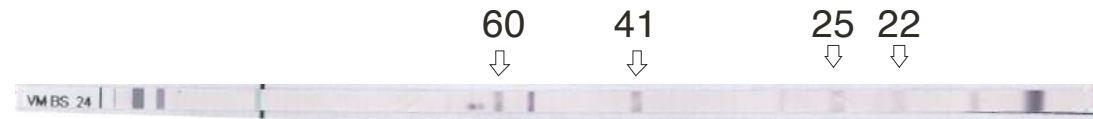


IgG, test V :

Patient B.:



Patient D.:



Patient J.:



Patient V.:



Results IgG-blots

	Test I	Test II	Test V
	Bands:	Bands:	Bands:
Patient B:	41, 34	60, 58, 43, 41	83, 60, 41, 34, 30/31
Patient D:		41	60, 41, 25, 22
Patient J:	41	41	41, 34, 31
Patient V:		60, 43, 41, 22/O spC	41, 25

Eine Probe wurde auf 4
verschiedenen IgM-Blots
und 4 verschiedenen
IgG-Blots eingemessen

IgM-blots

Test VIII:



Test VII:



Test VI:



Test IV:

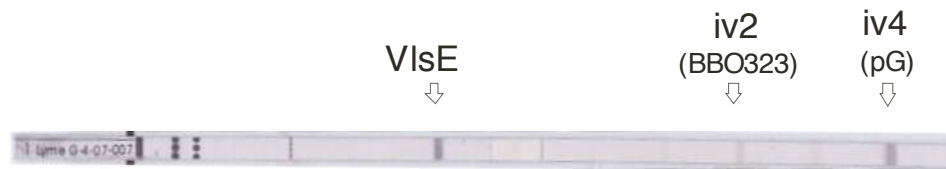


IgG-blots

Test VIII:



Test VII:



Test VI:



Test IV:



Results

	IgM	IgG
	Bands:	Bands:
Test VIII	100, 41, 41 int.(B. afzelii)	41
Test VII		VIsE, iv2, iv4
Test VI	83, 41, 31	75, 60, 41, 39
Test IV		

Eine andere Probe wurde
auf 3 verschiedenen
IgM-Blots und 3
verschiedenen IgG-Blots
eingemessen

IgM-blots

Test VII:



Test VI:



Test IV:



IgG-blots

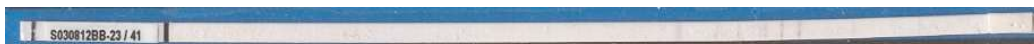
Test VII:



Test VI:



Test IV:



Results

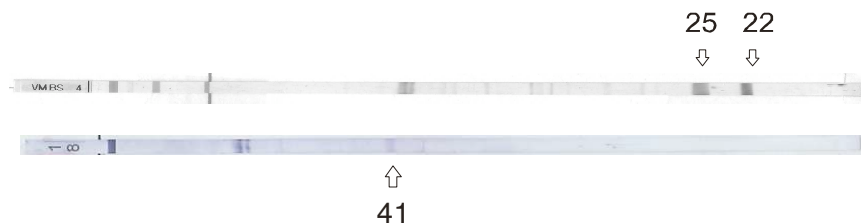
	IgM	IgG
	Bands:	Bands:
Test VII	OspC	
Test VI	83, 31, 25, 22	83, 75, 60, 41, (34)
Test IV		

Drei weitere ...

Patient M., IgM

Test V:

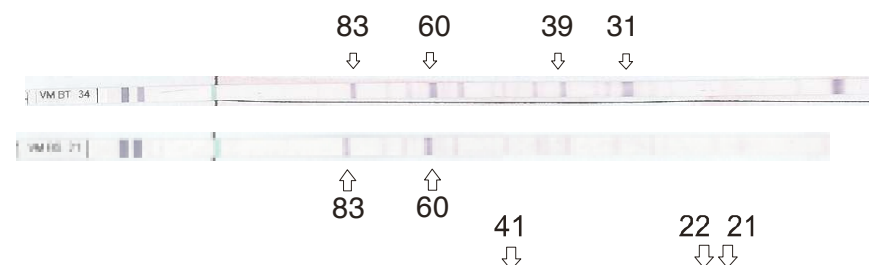
Test III:



Patient E.:

Test VI, IgG:

Test V, IgG:



Test VI, IgM:

Test IX, IgM:



Patient M.: Unterschiedliche OspC-Expression

Patient E.: Zusätzliche Banden bei p39 und p31 mit einem Blot mit zusätzlichem *B. garinii* Antigen (IgG-Blot)

Patient E.: VlsE im IgM-Blot



Ergebnis:

Identische Seren reagieren in verschiedenen Testsystemen unterschiedlich. Dies mag widersprüchliche Ergebnisse erklären, sofern eine Probe in verschiedenen Laboratorien untersucht wird. Unterschiedliche Ergebnisse könnten besser erklärbar sein, wenn das verwendete Testsystem als Anlage zum Laborbericht ausgewiesen werden würde. Die Auswahl des Testsystems kann für die Qualität des Befundes entscheidend sein.