

Borreliose-Serologie

Neben dem Direktnachweis (PCR¹+Kultur) und immunologischen Verfahren (z.B. LTT²) stellt die Serologie den Schwerpunkt des Nachweises einer Borrelien-Infektion dar.

Nachfolgend werden Hinweise gegeben, mit deren Hilfe eine Orientierung im Dschungel der unübersichtlichen und häufig widersprüchlichen LB³/ Bb⁴-Serologien versucht werden kann.

Auch in Deutschland gilt - leider - der "Grundsatz der Stufendiagnostik", sofern der anfordernde Arzt nicht ausdrücklich etwas anderes wünscht (MIQ 12/2000⁵).

Damit soll zuerst ein "Suchtest" durchgeführt werden und bei dessen positivem Ausfall ein "Bestätigungstest" folgen. Als Suchteste gelten ELISA⁶, EIA⁷, HAT⁸, IFT⁹. Bestätigungstest ist in der Regel ein Western-Blot.

Die Borreliose-Diagnostik ist - zum Glück - bislang nicht vereinheitlicht worden. Deshalb gibt es eine Anzahl unterschiedlicher Tests.

Möchte man einen Test / ein Testergebnis interpretieren, sollte man darüber informiert sein, wie der betreffende Test durchgeführt wird.

Folgendes ist dabei zu beachten:

Technische Kriterien

1. Welche Antigene werden eingesetzt?
2. Wie werden die Borrelia-Stämme gewonnen? - Langezeit "prozessierte" - d.h. in Kultur gehaltene Stämme verlieren ihre Antigenität.
3. Möglicherweise ist noch ein "falscher" Pko- / B.afzelii-Stamm in Gebrauch, der von der Stammsammlung in Braunschweig vertrieben worden sein soll.
4. Mit welcher Verdünnung (Titer) wird untersucht?
5. Welche Probenmengen werden eingesetzt?
6. Welche Adsorbentien werden verwendet, z.B. RF-Adsorbens¹⁰ oder TP-Adsorbens¹¹
7. Wo ist der "cut"¹² gesetzt?
8. Wie ist beim Western-Blot die Auswerteschablone gestaltet:
 - Muss sie vom Anwender erst erstellt werden?
 - Oder stellt die Firma ein fertig laminiertes Exemplar?
9. Enthält die Blot-Schablone alle relevanten Banden?
10. Daneben sind Tests auch von "Rezepten" abhängig, die nicht offensichtlich sind: z.B. Menge des auf den Reaktionsträger aufgetragenen Antigens, Aufbereitung des Antigens, sonstige Präparation des Reaktionsträgers.

Individuelle Durchführung

1. Wurden Kontrollen (positiv, negativ, cut) mitgeführt ?
2. Ist beim Western-Blot der "cut" entwickelt ?

¹ Polymerase-Ketten-Reaktion

² Lymphozyten-Transformationstest

³ Lyme-Borreliose

⁴ Borrelia burgdorferi s.l.

⁵ MiQ 12/2000; Quality Standards for the Microbiological Diagnosis of Infectious Diseases

⁶ Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay

⁷ Enzyme-Immuno-Assay

⁸ Häm-Agglutinations-Test

⁹ Indirekter Immun-Fluoreszenz-Test

¹⁰ Anti-IgG-Antikörper

¹¹ Treponema phagedenis-Ultrasonikat zur Adsorption von "unspezifischen" Treponemen- / Spirochäten Antikörpern

¹² Grenzwert-Kontrolle

3. Wie viel Konjugat wird beim IFT eingesetzt?
4. Nach welchen Kriterien wird der IFT ausgewertet? "Cut" gleich Positiv-Kontrolle oder wird eine abgeschwächte Fluoreszenz noch gewertet?

Darüber hinaus sollte jeder wissen, worum es sich bei "Sensitivität" und "Spezifität" handelt".

- Die Sensitivität eines Testes gibt Auskunft über die Anzahl der "Positiven" unter den Kranken
- Die Spezifität eines Testes gibt Auskunft über die Anzahl der "Negativen" unter den Gesunden.

Erläuterungen im Anhang

Die nachfolgende Zusammenstellung gibt eine Übersicht über viele der in Deutschland erhältlichen und verwendeten kommerziellen "Borreliose-Tests".

Auffällig ist, dass die meisten ELISAs mit weniger Antigenen arbeiten, als die korrespondierenden Western-Blots. Es kann deshalb bezweifelt werden, dass ELISAs grundsätzlich als Suchteste mit hoher Sensitivität geeignet sind.

Darüber hinaus sind in den wenigsten Suchtesten drei Bb-Stämme vertreten, um ein Mindestmass der Stammheterogenität zu erfassen.

Interpretations-Richtlinie für den Immunoblot (MiQ 12/2000)

Ganz-Zell-Lysat-Blot

Beim Gebrauch eines Pko-Stammes (B. afzelii):

IgG: positiv, wenn ≥ 2 Banden aus den nachfolgenden vorliegen:
p83/100, p58, p43, p39, p30, OspC, p21, Osp17, p14

IgM: positiv, wenn ≥ 1 Bande aus den folgenden vorliegt:
p41 (deutlich), p39, OspC, Osp17

Rekombinanter Blot

IgG: positiv, wenn ≥ 2 Banden aus den nachfolgenden vorliegen:
p83/100, p58, p39, OspC, p41int, Osp17

IgM: positiv, wenn ≥ 1 Bande aus den nachfolgenden vorliegt:
p39, OspC, p41int, Osp17
oder OspC alleine und deutlich

Es darf nicht vergessen werden, dass es keinen Goldstandard in der Borreliose-Diagnostik gibt. Direkt-Nachweise sind wenig sensitiv und auch die Serologie hat Lücken.

Lesenswert in diesem Zusammenhang:

Wien Klin Wochenschr 2002 Jul 31;114(13-14):601-5
Tylewska-Wierzbanowska S, Chmielewski T.

"Limitation of serological testing for Lyme borreliosis: evaluation of ELISA and western blot in comparison with PCR and culture methods."

J Clin Microbiol 2003 Mar;41(3):1299-303

Schulte-Spechtel U, Lehnert G, Liegl G, Fingerle V, Heimerl C, Johnson BJ, Wilske B.

"Significant improvement of the recombinant Borrelia-specific immunoglobulin G immunoblot test by addition of VlsE and a DbpA homologue derived from Borrelia garinii for diagnosis of early neuroborreliosis."

Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1999 Aug ; 18 (8) :551-60.

Goossens HA, van den Bogaard AE, Nohlmans MK.

Evaluation of fifteen commercially available serological tests for diagnosis of Lyme borreliosis.

Kommerzielle *Borrelia burgdorferi* - Diagnostik in Deutschland

Firma	Ads. ¹²	Vorverdün- nung	ELISA-M	ELISA-G	IFT	Blot	Liquor
BEHRING	RF ¹³	IgM 1:42 IgG 1:231	<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>			
BIOMERIEUX	?	IFT 1:128	B31	B31	B31		
BIO-RAD	?	1:101		<i>Borrelia burgdorferi</i>			
BIOTEST	?	ELISA 1:21 Blot 1:51	Int.Flagellin als Fusionsantigen von <i>B.afzelii</i> + <i>B.garinii</i>	P100, p41 int (Fusions-Antigen), p18, OspC		<i>B.afzelii</i> + <i>B.garinii</i>	
Byk & Dia Sorin	?	1:101	OspC von Pko und 20047(<i>B.garinii</i> , p41 int. von Pbi (<i>B.garinii</i>))	P100(Pko), p18 (Pko), OspC v. B31, 20047 und T25, p41 int. v. Pbi			
DAKO	μ-capture (-) ELISA fakultativ	Liquor 1:5 ELISA 1:201	Flagellum; μ-capture ¹⁴	Flagellum			Flagellum; μ-capture IgG+IgM
DPC-Biermann	+	Blot 1:100 ELISA 1:20	Bb ss + <i>B.afzelii</i>	Bb ss + <i>B.afzelii</i>		Bb ss + <i>B.afzelii</i> + OspC (<i>B.garinii</i>)	
EUROIMMUN	+	Liquor 1:2 ELISA 1:100 Blot 1:51 IFT-IgM 1:10 IFT-IgG1:100	Bb ss, <i>B.afzelii</i>	Bb ss., <i>B.afzelii</i>	Bb ss, <i>B.afzelii</i> , <i>B.garinii</i> : nach Kundenwunsch	Bb ss, <i>B.afzelii</i> oder <i>B.garinii</i> ; <i>B.afzelii</i> +VisE v. Bb ss - kein Cut -	Bb ss, <i>B.afzelii</i>
IBL-HAMBURG	+	ELISA 1:100	14 kD + OspC	Bb ss, <i>B.afzelii</i> , <i>B.garinii</i>		<i>B.garinii</i> VS102	
MAST	fakultativ	ELISA 1:101 IFT-IgM 1:40 IFT-IgG1:160	Bb ss ATCC 35211 + OspC v. <i>B.afzelii</i>	Bb ss ATCC 35211 + OspC v. <i>B.afzelii</i>	Europäischer Stamm v. Bb		
MIKROGEN	?	1:101	OspC (<i>B.afzelii</i>)+ P41 int (<i>B.afzelii</i> , <i>B.garinii</i>)	p100(<i>B.afzelii</i>), OspC v. Bb ss, p41 int (<i>B.afzelii</i> , <i>B.garinii</i>), p18 (<i>B.afzelii</i>)		P100 (<i>B.afzelii</i>), p41 (<i>B.afzelii</i>), p39 (<i>B.afzelii</i>), OspA (<i>B.afzelii</i>), OspC (3 Stämme), p41 int (<i>B.afzelii</i> , <i>B.garinii</i>), p18 (<i>B.afzelii</i>)	ELISA-M 1:1 ELISA-G 1:4 Blot-IgM Blot-IgG mind. 1:2
MILENIA	TP	ELISA 1:101 Blot 1:100	Europäischer Stamm v. Bb + OspC v. <i>B.afzelii</i>	Europäischer Stamm v. Bb + OspC v. <i>B.afzelii</i>		<i>Borrelia burgdorferi</i>	
R-BIOPHARM	fakultativ	IFT-IgM 1:32 IFT-IgG 1:64	Bb ss	Bb ss	Einzelstämme oder 3-fach Gemisch		
SERAMUN	?	ELISA 1:51 BLOT 1:100	<i>B.afzelii</i>	<i>B.afzelii</i>		<i>B.afzelii</i>	
TRINITY	?	Blot 1:100	B31	B31		<i>B.afzelii</i> Pko + OspC (EU-Blot) oder Bb ss (alter Blot)	
VIRAMED	Blot (-) IFT (+)	Blot 1:75 IFT-IgM 1:80 IFT-IgG1:320			Bb ss: B31	Duo: Bb ss+ <i>B.afzelii</i> Triple: Bb ss, <i>B.afzelii</i> , <i>B.garinii</i>	
VIRION-SERION	+	1:100	<i>B.garinii</i> + <i>B.afzelii</i> Pko	<i>B.garinii</i> + <i>B.afzelii</i> Pko	KBR ¹⁵ (kein IFT)		+
VIROTECH	TP+RF	1:101	Bb ss (2591)	Bb ss (2591)		Bbss + OspC (IgM), <i>B.afzelii</i> oder Bb ss 2591	+

¹² Adsorbentien

¹³ Rheumafaktor

¹⁴ modifizierter ELISA

¹⁵ Komplement-Bindungs-Reaktion

Statistische Grundbegriffe

- **Sensitivität:** Fähigkeit eines diagnostischen Testes, Personen mit der fraglichen Krankheit vollständig herauszufiltern. Verhältnis der Krank-Positiven zu allen Kranken. (Für einen Suchtest ist eine hohe Sensitivität erforderlich) => k_p / k
- **Spezifität:** Fähigkeit eines diagnostischen Tests, Freiheit von der fraglichen Krankheit festzustellen. Verhältnis der Gesund-Negativen zu allen Gesunden, auch den falsch-positiv Getesteten. => g_n / g
- **Negativer prädiktorischer (Vorhersage-) Wert:** Wahrscheinlichkeit, daß eine Test-negative Person nicht erkrankt ist. Verhältnis der Gesund-Negativen zu allen Test-Negativen. => g_n / n
- **Positiver prädiktorischer (Vorhersage-) Wert:** Wahrscheinlichkeit, daß eine Test-positive Person erkrankt ist. Verhältnis der Krank-Positiven zu allen Test-Positiven => k_p / p

	krank, (k)	gesund, (g)
Testpositiv, (p)	k, p	g, p
Testnegativ, (n)	k, n	g, n

- **Problemereich Goldstandard** (Grundlage für die Testsicherheit): wie kann wirklich erfasst werden, ob jemand krank oder gesund ist?
- **Die Bestimmung der relativen Häufigkeit im Laborversuch für eine kleine Anzahl von Probanden läßt sich nicht auf die Wahrscheinlichkeiten im täglichen Leben übertragen.**

Beispiele:

I.

Sensitivität 52 %: 52 von 100 Krankheitsfällen werden erkannt.
 Spezifität 98 %: 98 von 100 Gesunden werden negativ getestet.
 Voraussetzung hier: Anzahl der Gesunden und der Kranken ist gleich hoch.

	K	G
p	52	2
n	48	98

Negativer Vorhersagewert: $98 (g, n) / 146 (k, n+g, n) = 67 \%$, Anteil der Falsch-Negativen: 33 %
 Positiver Vorhersagewert: $52 (k, p) / 54 (k, p+g, p) = 96 \%$, Anteil der Falsch-Positiven: 4 %

II.

Sensitivität 80 %
 Spezifität 98 %
 Anzahl der Kranken = Anzahl der Gesunden

	K	G
p	80	2
n	20	98

Negativer Vorhersagewert: $98 / 118 = 83 \%$, falsch-negativ: 17 %
 Positiver Vorhersagewert: $80 / 82 = 97 \%$, falsch-positiv: 3 %

Anmerkungen und Korrekturvorschläge sind erbeten

© **Uta Everth - September 2003 - Borreliose Selbsthilfe e. V. Berlin-Brandenburg**

post@borreliose-berlin.de - www.borreliose-berlin.de