

Die Lyme-Borreliose Schwierigkeiten bei der Diagnose

DIA 1

Sehr geehrte Damen und Herren, guten Tag.

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Christian Keller für die Einladung bedanken Ihnen über die Lyme-Borreliose zu berichten. Ich bin Ihrer Einladung gerne gefolgt über Zecken und die von ihnen übertragenen Krankheiten zu sprechen. Jedoch möchte ich Sie um Nachsicht bitten, da es das erste Mal ist, dass ich auf Deutsch einen Vortrag halte.

DIA 2

Im Verlaufe dieser Präsentation werden wir Zecken und insbesondere *Ixodes ricinus* und seine Biologie sehen. Dann behandeln wir die Borrelien, die Epidemiologie der Borreliose, das heisst die Zirkulation der Borrelien im natürlichen Milieu.

Anschliessend werden wir die prinzipiellen klinischen Symptome und die diagnostischen Mittel betrachten. Wir schliessen diesen Tour d'horizon ab mit der Vorstellung neuer Tests der diagnostischen Serologie.

DIA 3

Hier zeige ich Ihnen ein typisches Biotop in welchem wir *Ixodes-ricinus*-Zecken finden. Dieser Zeckentyp liebt die feuchten Zonen, die Wälder mit einem dichten Unterholz und die Wegränder. *Ixodes ricinus* wird man selten im offenen Feld finden. Im hier gezeigten Biotop finden wir beispielsweise die Zecken nur in der linken Hälfte des Bildes.

Die Larven aus einer Eiablage klettern generell auf die bodennahe Vegetation und man findet mehrere Hundert an derselben Stelle beisammen. Die Nymphen sind verstreut und finden sich meist in der niederen bis mittelhohen Vegetation. Die erwachsenen Zecken (Weibchen und Männchen) findet man in den etwas höheren Bereichen des Niederholzes aber selten höher als ein Meter über dem Boden. Die Zecken lassen sich nicht auf uns fallen, sondern sie krallen sich an uns fest, wenn wir sie von der Vegetation abstreifen.

DIA 4

Der Lebenszyklus spielt sich in vier Etappen ab. Ausgehend von einer Eiablage (tausend bis zweitausend Eier), schlüpfen von dieser Eiablage die Larven aus und steigen auf eine nahe gelegene niedrige pflanzliche Unterlage, wo sie auf einen vorbeiziehenden Wirt warten. Im Allgemeinen ist dieser Wirt ein kleines Säugetier (Feldmaus). Die Blutmahlzeit dauert drei bis vier Tage, dann fallen die Larven auf den Boden, wo sie sich zu Nymphen verwandeln. Die Nymphen machen sich nun auf die Suche eines neuen Wirtes, im Allgemein einen mittelgrossen Wirt, die Vögel eingeschlossen. Die Blutmahlzeit dauert fünf bis sieben Tage bis

die voll ernährten Zeckennymphen auf den Boden fallen, wo sie sich zu erwachsenen Zecken verwandeln.

Die erwachsenen Zecken gehen nun auf die Lauer eines Wirtes. Die weibliche Zecke ernährt sich meist auf einem grossen Wirt. Die Blutmahlzeit dauert sieben bis zehn Tage. Das Weibchen fällt dann auf den Boden und legt tausend bis zweitausend Eier. Der komplette Zyklus dauert zwei bis drei Jahre.

Es werden mehr als dreihundert Tierarten aufgeführt, welche als Wirt von *Ixodes ricinus* dienen (Eidechsen, Schlangen, Vögel und fast alle Säugetiere).

Der Mensch ist ein zufälliger Wirt und er kann von Zecken aller drei Stadien gestochen werden. Am häufigsten wird er von den Nymphen gestochen gefolgt von den adulten Zecken. Stiche von Nymphen kommen aber 20- bis 50-mal häufiger vor als Stiche durch adulte Zecken.

DIA 5

Wir kommen nun zu den Borrelien.

DIA 6

Borrelien lassen sich leicht im Magen der ungenährten, nüchternen Zecken sehen. Hier sehen wir Borrelien aus dem Mageninhalt eines *Ixodes scapularis*. Es ist festzustellen, dass *Ixodes ricinus* nur selten so stark infiziert sind wie im Bild. Die Epidemiologie der Lyme-Borreliose in Europa unterscheidet sich stark von jener in den USA beobachteten Epidemiologie.

DIA 7

Ein wichtiger Faktor, der grosse Fortschritte unserer Kenntnisse erlaubte, ist die Entwicklung neuer diagnostischer Tests, durch die komplette Sequenzierung des gesamten Genoms der *Borrelia burgdorferi*, und dann vor kürzerer Zeit auch die Sequenzierung der Chromosomen von *B. garinii* und *B. afzelii*.

Das Genom der *B. burgdorferi* weist verschiedene Charakteristiken auf; vorerst einmal weist diese Spirochaete lineare Chromosome auf (Bakterien haben dagegen ein kreisförmiges Genom, eingeschlossen ein anderer Spirochaet, bekannt unter dem Namen *Treponema pallidum*, der Verursacher der Syphilis. Die Grösse des Genoms der Borrelien ist sehr gering und beträgt weniger als eine Million Basispaare.

DIA 8

Jedoch besitzt *Borrelia* mehr als 600'000 Basenpaare auf sogenannten Plasmiden, und zwischen 21 - 25 kreisförmige oder lineare Plasmiden. Die wesentlichen Gene, welche Proteine (Eiweisse) und die Flagellen produzieren, befinden sich auf Plasmiden.

DIA 9

Seit der Entdeckung der Borrelie durch Dr. Burgdorfer im Jahr 1982 und derer Benennung als *B. burgdorferi* durch Johnson et al im Jahr 1984, wurden verschiedene Spezies definiert, deren Liste hier abgebildet ist. Die Borrelien mit dem Stern sind jene, die auf dem Menschen isoliert wurden. Die drei ersten sind die wichtigsten Spezies, die mit der Infektion des Menschen assoziiert werden.

DIA 10

Die Identifikation der Borrelien ist schwierig. Sie ist nicht morphologisch möglich, nicht durch Kulturen oder biochemischer Kriterien, noch aufgrund der Zeckenspezies. Das Protein-Profil und die immunologische Reaktivität mit monodonen Antikörpern erlauben die präzise Identifikation der Spezies, und auch die schnellere molekularbiologische Methode (PCR und Restriktionsprofil).

DIA 11

Hier ein Beispiel eines Restriktionsprofils, welches wir in unserem Labor, aufgrund einiger Charakteristiken der verschiedenen Spezies, erstellt haben.

DIA 12

Die schnellste und einfachste Methode, die Echtzeit-PCR, erlaubt uns, die drei prinzipiellen Spezies, die mit der Humaninfektion zusammenhängen, leicht zu unterscheiden. Hier die Amplifikationsphase, die uns auf die DNA der Borrelien hinweist.

DIA 13

Hier die Fusionskurven die die Identifikation der Spezies auf dem Gen OspA (Oberflächenprotein) und dem Gen der Flagellen, erlaubt.

DIA 14

Wir wenden uns nun der Epidemiologie zu.

DIA 15

Die an der Universität Neuenburg nach standardisierten Methoden ausgeführten Studien erlauben es, präzise die Menge an aktiven Zecken in einer gegebenen Region, Monat um Monat, abzubilden. Dadurch ist es auch möglich, den Kulminationspunkt von Stichen durch infizierte Zecken, ausgedrückt in der Anzahl infizierter Zecken pro hundert Quadratmeter, darzustellen.

DIA 16

Hier ein Vergleich der Risikozonen der Welschschweiz. Demnach ist Neuenburg die gefährlichste Zone und Bière die Zone mit dem tiefsten Risiko.

DIA 17

Die Darstellung dieser Zonen auf einer geographischen Karte zeigt, dass es schwierig ist, allgemeingültige Schlüsse zu ziehen. So stellen wir in der Region Bière zwei infizierte Zecken pro hundert Quadratmeter fest und in St. Livres, nur wenige Kilometer entfernt, eine Spitze von Dreiundzwanzig infizierten Zecken pro Quadratmeter. Grosse Unterschiede werden im Wallis beobachtet: bei Martigny findet man ungefähr 10% infizierter Zecken und bei Monthey - zwanzig Kilometer entfernt - mehr als 50% infizierter Zecken.

DIA 18

Die epidemiologischen Studien, die vorwiegend an der Universität Neuenburg durchgeführt wurden, haben dazu beigetragen, die Zyklen der verschiedenen Spezies der Borrelien in der Natur besser zu verstehen. *Borrelia burgdorferi* ist die häufigste Art, die bei verunfallten

Eichhörnchen gefunden wurden (Beobachtung von Zecken die von den verunfallten Tieren gesammelt wurden, aber auch von Hautbiopsien). Ebenso sind die kleinen Nager (Waldmaus und Feldmaus) das Wirtereservoir von *Borrelia afzelii* und die Vögel von *Borrelia garinii* und *Borrelia valaisiana*. Vor kurzer Zeit wurde *Borrelia spielmanii* in Deutschland identifiziert und auch deren Wirtsreservoir, der Gartenschläfer.

DIA 19

Man muss sich bewusst sein, dass *Ixodes ricinus*, nicht nur Träger von Borrelien (im Mittel einer auf drei Zecken) sondern auch des Virus FSME und ebenfalls von Rickettsien (im Mittel einer auf elf Zecken), *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*, *Anaplasma phagocytophila* den Verursacher von Ehrlichiose, von *Bartonella* und der Protozoen wie die Babesien sein kann. Man hat auch Trypanosomen und Microfilarien des Rehs beobachtet. Das bedeutet, dass durch einen Zeckenstich leicht mehr als ein Mikroorganismus übertragen werden kann.

DIA 20

Bedeutet ein Zeckenstich immer ein Stich von *Ixodes ricinus*?

DIA 21

Hier eine Liste der in der Schweiz vorkommenden Zecken. Mehr als zwanzig Zeckenarten wurden identifiziert. Hier in etwa die Zecken, die manchmal auf dem Menschen gefunden werden. Es ist wahr, dass *Ixodes ricinus* am häufigsten beteiligt ist (wahrscheinlich 98-99% der Stiche). Diese Zecke hat keine spezifischen Wirte, im Gegensatz etwa zu *Ixodes lividus* der nur die Uferschwalbe parasitiert. Aus dieser Liste kann *Ixodes hexagonus* ein gewisses Infektionsrisiko für den Menschen darstellen, weil dieser oft auf dem Igel gefundene Zeckentyp auch in unseren Gärten zu finden ist. Andere Zeckenspezies übertragen keine Borrelien auf den Menschen, jedoch können andere Bakterien und Krankheiten assoziiert sein.

DIA 22

Ein Zeckenstich bedeutet nicht, dass es nur das Risiko der Übertragung der Borreliose gibt. Ebenfalls ist das Vorhandensein eines Erythems (Wanderröte) nicht zwingend eine Lyme-Borreliose.

DIA 23

Wir lassen nun die klinischen Symptome Revue passieren und zeigen die Schwierigkeiten der Diagnose der Borreliose auf.

DIA 24

Auf der Ebene der Klinik kommen die Schwierigkeiten der Diagnostik daher, dass ausser der typischen Wanderröte kein einziges Symptom spezifisch für diese Krankheit ist, und dies trifft besonders auf die neurologischen Symptome zu. Die Kenntnis eines früheren Zeckenstiches bringt nur wenig Argumente zugunsten oder zu ungunsten dieser Diagnose.

DIA 25

Warum ist die Labordiagnose so kompliziert?

Dies beruht teilweise auf der Bakterie und ihrer Biologie. *Borrelia burgdorferi* hat ein sehr langsames Wachstum (acht Stunden für die Verdoppelung). Es hat immer sehr wenige

Bakterien in der Hautwunde, in den Körperflüssigkeiten und unseren Organen. Auf der anderen Seite repräsentiert *Borrelia burgdorferi* im weiteren Sinn in der Schweiz einen Komplex von mindestens fünf Spezies, und diese Bakterien haben eine erstaunliche Fähigkeit, die Zusammensetzung ihrer Oberflächenproteine zu verändern. Sie haben auch zahlreiche Antikörper mit andern Bakterien gemeinsam. Borrelien besitzen Oberflächenproteine, die die Fähigkeit haben, sich an gewisse Strukturen des menschlichen Körpers anzuhängen, wie zum Beispiel dem Knorpel unserer Gelenkgewebe und dem Myelin unserer Nerven...

DIA 26

Auch die Biologie des Vektors *Ixodes ricinus* trägt zur Komplexität bei. Diese Zeckenspezies ernährt sich auf einer Vielzahl von Wirten (mehr als 300 Tierarten, Reptilien, Vögel und alle Säugetiere). Wir haben gesehen, dass *Ixodes ricinus* eine grosse Zahl verschiedener pathogener Erreger überträgt. Zeckenstiche beim Menschen sind sehr häufig. Borrelien sind in 25-30% der Zecken vorhanden und deshalb ist die Seroprevalenz von Antikörpern in der Bevölkerung sehr hoch.

DIA 27

Das Risiko einer Lyme-Borreliose nach einem Zeckenstich wurde in der Westschweiz evaluiert. Während drei Jahren haben wir Blut von Personen gesammelt, die wegen eines Zeckenstiches zur ärztlichen Konsultation kamen. Wir haben die Personen ausgewählt, die im Moment des Stiches eine negative Serologie hatten und einen serologischen Folgetest zwei Monate später gemacht. Wir haben das Untersuchungskollektiv der Patienten in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe ohne Symptome im Moment der Arztkonsultation und eine Gruppe mit lokalen Reaktionen. Eine Serokonversion (von Negativ zu Positiv) von 3.4 % wurde in der Gruppe ohne Symptome und von 7.2 % in der Gruppe mit lokaler Reaktion festgestellt. Im Mittel entwickelten 4.5 % der gestochenen Personen Antikörper und nur 1 % von Ihnen haben eine typische Wanderröte entwickelt. Kein anderes Symptom konnte während der zwei Monate beobachtet werden, was bedeutet, dass das Risiko eine Borreliose zu entwickeln, selten ist.

DIA 28

Was ist zu tun, wenn jemand eine fixierte Zecke entdeckt?

- Man muss diese so schnell wie möglich entfernen
- Die Einstichstelle ist zu desinfizieren
- Eine Blutprobe ist zu entnehmen (im Labor aufzubewahren)
- Während vier Wochen die Einstichstelle beobachten
- Wenn man die Zecke dem Labor zustellt, können wir die Spezies und deren Entwicklungsstufe feststellen, sehen ob das Mundwerkzeug vollständig entfernt wurde und die ungefähre Dauer des Stiches abschätzen. Man weiss, dass je länger die Zecke fixiert war, desto grösser ist das Übertragungsrisiko
- Ein PCR-Test der Zecke ist nicht nützlich. Die Sensibilität dieser Methode auf vollgesogenen Zecken ist tief. Das Blut ist ein sehr starker Hemmer der PCR und in der Blutmahlzeit gibt es ebenfalls verdauende Enzyme die die Hemmung noch erhöhen. Somit schliesst ein negatives PCR bei weitem eine Infektion nicht aus und eine auf drei Zecken ist positiv, während das Risiko einer Infektion tief ist
- Eine Serologie in diesem Zeitpunkt bringt nichts.

DIA 29

Dies ist ein typisches Erythema migrans; es muss ein Arzt konsultiert werden

DIA 30

Hier andere Formen von Erythema migrans. Gewisse Wanderröten können sehr bleich sein, wie jenes rechts.

DIA 31

Das Erythema migrans ist eine klinische Diagnose, welche eine Behandlung ohne weiteren Diagnose-Test rechtfertigt.

DIA 32

Im Gegensatz dazu atypische Erythemas, wie bei diesem Patienten der vierundzwanzig Läsionen aufwies. Diese nennt man multiples Erythema. Es handelt sich um einen Zeckenstich mit einer Dissemination (Ausstreuung) auf den ganzen Körper.

DIA 33

Manchmal ist die Läsion ein roter oder violetter Fleck.

DIA 34

Die Empfehlungen bei einem atypischen Erythema sind folgende:

- Blutentnahme für eine Serologie
- Eine Biopsie der Haut am Aussenrand der Läsion zur Erstellung einer PCR
- Oder als Alternative eine antibiotische Behandlung und eine Beobachtung der klinischen Antwort
- Die Sensibilität der Serologie in dieser vorzeitigen Situation beträgt 50%; die PCR hat eine Sensibilität von 80%.

DIA 35

In der Folge eines Zeckenstiches kann ein Erythema migrans erscheinen, eine typische, klinische Manifestation der Lyme-Borreliose.

Ohne Behandlung kann die Krankheit zu andern Symptomen führen, wie z.B. neurologische, dermatologische und Symptome des Herzens. Hier eine Facialisparesie (Gesichtslähmung) die bei Kindern häufig mit Borreliose assoziiert ist (50% der Fälle bei Kindern, während Erwachsene nur eine Häufigkeit von 10% aufweisen).

DIA 36

Eines der diagnostischen Mittel bei Neuroborreliose ist die Untersuchung der Antikörper im Liquor (Gehirnflüssigkeit). Das Verhältnis der Antikörper, die im Liquor und jenen im Serum gefundenen werden ausgedrückt durch die Konzentration von Albumin im Liquor und dem Serum. Eine Verhältniszahl von mehr als zwei ist ein Zeichen einer intrathekalen Synthese (Synthese im Liquor).

DIA 37

Mit dem Immunoblot-Test kann man ebenfalls die Differenzen der Reaktivität gegen die verschiedenen Antigene der Borrelien beobachten. Genau in diesem Fall betrachten wir die G-Banden (Antikörper IgG) des Liquor (links im Bild) und des Serums (rechte Seite des Bildes) und sehen eine starke Reaktivität gegen die Flagelline und dem Protein p 39 im Liquor und im Serum. Aber wir beobachten im Gegensatz dazu eine starke Reaktivität im Serum gegen Osp C und keine im Liquor. Dies bedeutet, dass die im Liquor gefundenen Antikörper in dieser Flüssigkeit synthetisiert wurden und nicht vom Serum stammen.

DIA 38

Für die anderen Ausbreitungssymptome, Arthralgie (Gelenkschmerzen), Karditis (entzündliche Krankheit des Herzens) und andere, kann nur die Serologie eine Diagnose stützen.

DIA 39

Bei den chronischen Formen der Lyme-Borreliose ist die Acrodermatitis chronica atrophicans das Ergebnis einer lang anhaltenden Infektion der Haut. In den über sechs Monaten persistierenden Formen (linke Bildhälfte) wird die rot bis violette Läsion der Haut wie eine Eidechsenhaut. In den mehrere Jahre dauernden Formen lässt die tiefe Atrophie (Gewebeschwund) die Haut durchsichtig erscheinen, so dass die Blutadern sichtbar werden. Die Haut bekommt einen Aspekt von Pergamentpapier.

DIA 40

Die Diagnose in diesem Stadium ist zuerst eine serologische mit normalerweise sehr starken Reaktionen. Der PCR-Test einer Biopsie der Haut ist empfohlen und das Anlegen einer Kultur auf dieser Hautbiopsie ist möglich, wird aber nur selten als diagnostisches Mittel eingesetzt. Die Borrelien sind immer noch lebend in diesen Hautläsionen vorhanden. Generell ist *Borrelia afzelii* Verursacher dieser klinischen Manifestation.

DIA 41

Die Lyme-Arthritis ist klassischerweise Teil der chronischen Borreliose, ist doch diese Manifestation der Ursprung der sogenannten Lyme-Krankheit. Diese Symptome treten üblicherweise sechs Monate bis ein Jahr nach dem Zeckenstich als intermittierende Arthritis auf. Ohne spezifische Behandlung kann die Arthritis sich zu persistierender, chronischer und abnützender Arthritis entwickeln.

DIA 42

Die Serologie ist generell stark und mehrheitlich ist die *Borrelia burgdorferi* im engeren Sinn beteiligt. (30% ist *Borrelia afzelii* beteiligt und *Borrelia garinii* und *Borrelia valaisiana* sind seltener).

Die PCR ist ebenfalls ein Diagnosemittel für die Gelenkflüssigkeit.

DIA 43

Bei der chronischen Neuroborreliose werden verschiedenste Symptome beobachtet. Die Serologie ist häufig das einzige Mittel, um die Diagnose dieser Krankheit zu stellen. Der definitive Beweis erfolgt aufgrund der intrathekalen Synthese (Synthese im Liquor), aber diese ist nicht immer vorhanden. Der PCR im Liquor hat eine zu geringe Sensibilität um diesen

routinemässig zu benutzen. *Borrelia garinii* ist die Verursacherin der Neuroborreliose in etwas mehr als 50% der Fälle, *Borrelia afzelii* in 30% der Fälle und *Borrelia valaisiana* und *Borrelia burgdorferi* sind zu gleichen Teilen Verursacher.

DIA 44

Diese Graphik zeigt die serologischen Beobachtungen bei den chronischen Formen der Borreliose. Die Arthritis wird vorwiegend von *Borrelia burgdorferi* verursacht und in geringerem Ausmass von *Borrelia afzelii*. Die Acrodermatitis wird vorwiegend von *Borrelia afzelii* und die Neuroborreliose vorwiegend von *Borrelia garinii* verursacht.

DIA 45

Welches sind die Neuigkeiten bei der Diagnose der Borreliose? Ich denke das Antigen VLSE ist eine der grossen Entdeckungen und wird einen bemerkenswerten Beitrag bei der Diagnose und der Verfolgung des Infektionsverlaufes sein. VLSE wird abgeleitet von «variable major protein-like sequence expressed».

DIA 46

Wir beobachten bei den Folgeserologien eine rasche und eindeutige Abnahme der Anti-VLSE-Antikörper. In zwei der Situationen beobachten wir eine signifikative Zunahme. Diese zwei Patienten hatten wenig Behandlung gehabt. Die rosarote Kurve ist die eines Patienten bei welchem die Diagnose eine virale Meningitis (Hirnentzündung) ergab (Positives PCR eines Enterovirus im Liquor). Der Patient wurde schliesslich im November unter Behandlung genommen und, ausgenommen von der Folgeuntersuchung im Februar haben wir keine andere Information über Folgeuntersuchungen gehabt. Für den anderen Fall hatten wir keine klinischen Auskünfte noch Folgeuntersuchungen.

DIA 47

Wie Sie sehen, steigen mit dieser Methode die Anti-VLSE-Antikörper bei chronischen Infektionen stark an und die Antikörper fallen sehr klar in der Folge der Behandlung.

DIA 48

Neue Antikörper werden voraussichtlich erlauben, die Diagnose zu verbessern und die Krankheitsaktivität noch präziser zu definieren. Oft muss man ein Jahrzehnt rechnen zwischen der Entdeckung der Antigene und deren Erscheinen in einem Diagnosetest. Das Protein VLSE wurde bereits 1999 beschrieben, und es war erst 2007 in verschiedenen serologischen Tests präsent. Zurzeit gibt es nur zwei Tests auf dem Markt, die nur dieses einzige Protein enthalten, wie die vorhin dargestellten Ergebnisse.

DIA 49

Ich danke für Ihre Aufmerksamkeit.