

Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 8 (1986) 1–6

Hygiene-Institut der Universität Wien (Vorstand: Prof. Dr. H. Flamm) (1)

Neurologische Abteilung des Wilhelminen-Spitals der Stadt Wien (Vorstand: Prof. Dr. E. Sluga) (2)

## IIFT und ELISA in der serologischen Diagnose der Lyme-Borreliose

G. Stanek<sup>1</sup>, A. Hirschl<sup>1</sup>, W. Kristoferitsch<sup>2</sup>

### Einleitung

Die Lyme-Borreliose ist eine durch *Borrelia burgdorferi* (JOHNSON et al., 1984) verursachte, systemische Infektionskrankheit, die durch den Stich von Zecken oder Insekten übertragen wird.

Die Erkrankung verläuft in 3 Stadien, die durch verschiedene klinische Manifestationen gekennzeichnet sind (Tabelle 1).

TABELLE 1: **Klinische Manifestationen der Lyme-Borreliose**

<b>Stadium 1:</b> etwa bis zu 1 Monat nach der Infektion	
Haut	– Erythema chronicum migrans (ECM) – Lymphadenosis cutis benigna – Lymphadenopathie, regional oder generalisiert (– Cirkumskripte Sklerodermie, Morphea)
Nervensystem	– Kopfschmerz, milde Nackensteifigkeit
Muskeln/Skelett	– Myalgien oder Arthalgien
Leber	– SGOT↑, Hepatomegalie
Niere	– Mikrohaematurie oder -proteinurie
Augen	– Conjunctivitis
Testes	– Testikularschwellung
<b>Stadium 2:</b> etwa 1 bis 7 Monate nach Krankheitsbeginn	
Nervensystem	– Meningopolyneuritis (MPN), Radiculoneuritis
Herz	– AV-Block, Myopericarditis, Pancarditis
Muskeln/Skelett	– migratorische Schmerzen der Muskeln, Gelenke, Bursae, Sehnen und Knochen
<b>Stadium 3:</b> 5 oder mehr Monate nach Krankheitsbeginn	
Gelenke	– intermittierende Attacken oligoartikulärer Arthritis, symmetrischer Polyarthritis oder chronische Arthritis
Nervensystem	– chronischer Befall einschließlich Myelitis
Haut	– Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA)
Infektion in utero	– Abortus, Totgeburt, Myopericarditis des Neugeborenen

Der Krankheitserreger wurde 1982 von W. Burgdorfer in der Schildzecke *Ixodes dammini* entdeckt (BURGDORFER et al. 1982), von A. Barbour in einem flüssigen Kulturmedium angezüchtet (BARBOUR et al. 1983) und als Antigen für serologische Untersuchungen aufbereitet (WILKINSON 1984). In kurzer Zeit wurde die extreme Verbreitung der Lyme-Borreliose über ganz Nordamerika sowie über Europa bis hin nach Ostsibirien erkannt (STANEK et al. 1986).

Eine wesentliche Diagnosehilfe ist der Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* in Serum und Liquor von Patienten. Der Wert der serologischen Diagnose bei den einzelnen Stadien der Lyme-Borreliose wird in dieser Studie erläutert.

## Material und Methoden

Seren:

Es wurde 191 Seren von Patienten mit Erythema chronicum migrans (ECM, 72 Seren), Meningopolyneuritis (MPN, 69 Seren) und Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA, 50 Seren) aus Serumproben, die zur serologischen Routinediagnostik im Jahr 1985 an das Hygiene-Institut der Universität Wien eingesandt worden waren, ausgewählt. Die Seren wurden vor der Antikörper-Bestimmung mit dem Reiter-Treponemen-Absorbens „Sorbens“ (bio-Mérieux) absorbiert.

Bestimmung von Antikörpern der IgG- und IgM-Klasse:

IIFT (Indirekter Immunfluoreszenztest):

Der IIFT wurde mit dem Äthanol-inaktivierten Stamm von *B. burgdorferi* B 31 durchgeführt. Als Konjugate dienen FITC-gekoppeltes Antihuman-IgG und IgM (bio-Mérieux bzw. Atlantic Antibodies).

ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay):

Als Antigen wurde ebenfalls der Stamm *B. burgdorferi* B 31 verwendet. Die Bakterienzellen wurden mittels Ultraschall aufgetrennt, das Sonikat dialysiert und das gelöste Antigen in einer Konzentration von 10 bis 20 µg Protein/ml im Test eingesetzt. Der ELISA wurde analog zu dem an anderer Stelle beschriebenen Verfahren durchgeführt (STANEK et al. 1983).

Auswertung der serologischen Tests:

In Voruntersuchen wurden an Seren von Patienten mit verschiedenen dermatologischen und neurologischen Erkrankungen sowie von gesunden Personen die Schwellenwerte (2 Standardabweichungen über dem Mittelwert der Antikörpertiter der entsprechenden Kontrollseren) für IgG- und IgM-Antikörpertiter festgelegt.

Für den IIFT sind diese 1:128 und 1:64 für IgG- bzw. IgM-Antikörper.

Zur Auswertung der ELISA-Meßwerte wurde die von F. Ambrosch und Mitarbeitern beschriebene Methode herangezogen (AMBROSCH et al. 1984). Hiezu wurden die Titrationskurven im einfachen logarithmischen System dargestellt. Im Bereich eines linearen und parallelen Kurvenverlaufs wurde willkürlich ein „cut off“ bei einer Extinktion von 0,2 (492 nm) festgelegt (Abbildung 1). Die Schwellenwerte für ELISA-IgG und -IgM sind bei Verdünnungsstufen von  $\log_2 7,5+10$  bzw.  $6,5+10$  ermittelt worden.

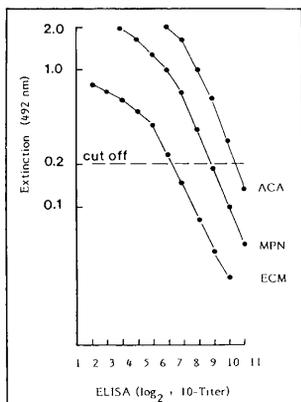


Abb. 1:  
ELISA-Titrationskurven zur Ermittlung der  $\log_2$ -Titer

Antikörpertiter im zeitlichen Verlauf von ECM und MPN:

Die über 16 bzw. mehr als 20 Wochen nach dem Beginn von ECM und MPN bestehenden Antikörpertiter der IgG- und IgM-Klasse wurden ermittelt.

Vergleich von IIFT und ELISA:

IIFT- und ELISA-IgG-Antikörpertiter wurden miteinander verglichen und die Korrelationskoeffizienten errechnet. Aufgrund der unterschiedlichen Auswertung der Tests wurden die errechneten Schwellenwerte als Bezugspunkte des Vergleichs verwendet.

## Ergebnisse und Diskussion

IIFT-Ergebnisse:

Tabelle 2 zeigt die mit dem IIFT erzielten Ergebnisse. In Seren von Patienten mit ECM sind über den Schwellenwert erhöhte IgG- und IgM-Antikörpertiter 17 bzw. 2 mal nachzuweisen. Bei MPN-Seren werden diese in 65 bzw. 8 Seren festgestellt. Alle Seren von Patienten mit ACA weisen positive IgG-, jedoch keine IgM-Antikörpertiter auf.

TABELLE 2: Ergebnis der Antikörpertiterbestimmung mittels IIFT an 191 Seren

reziproker IIFT-Titer	ECM (n = 72)		MPN (n = 69)		ACA (n = 50)	
	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
> 256	1		16		25	
256	8		26		23	
128	8		23	4	2	
64	9	2	3	4		
32	26	22	1	27		3
16	11	25		24		42
< 16	9	23		10		5

Veränderungen der Antikörpertiter im zeitlichen Verlauf von ECM und MPN zeigt Abbildung 2. Erst 13 bis 16 Wochen nach Erkrankungsbeginn ist bei ECM- sowie bei MPN-Seren ein signifikanter Abfall der IgM-Titer festzustellen. Beim ECM liegt eine IgM-Titerbewegung praktisch ausschließlich unter dem Schwellenwert vor. IgG-Titer liegen beim ECM ebenfalls in der Mehrzahl unter dem Schwellenwert, während bei MPN ab der 5. Woche nach Erkrankungsbeginn IgG-Titer nur noch über dem Schwellenwert gefunden werden.

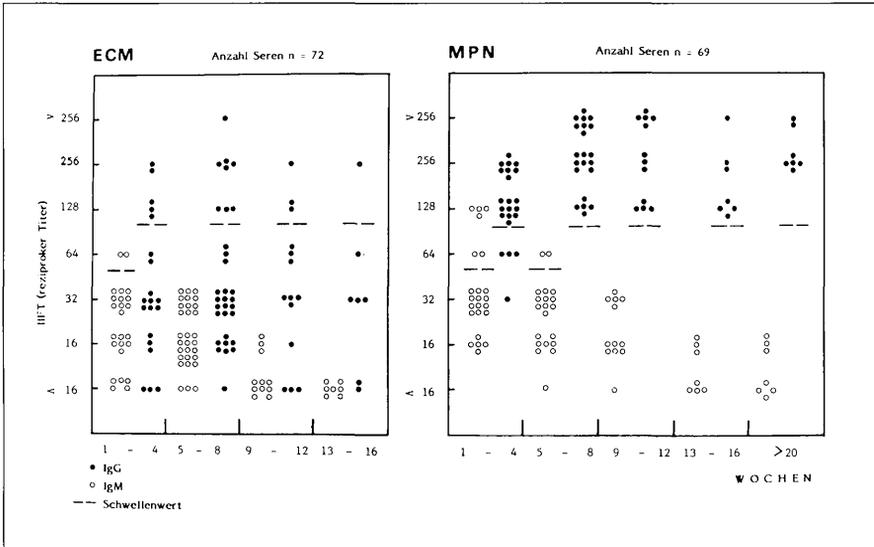


Abb. 2: IIFT-IgG- und IgM-Antikörpertiter im zeitlichen Verlauf von ECM und MPN

Vergleich von IIFT- und ELISA-Ergebnissen:

Abbildung 3 zeigt die Korrelation von IIFT- und ELISA-IgG-Titern. Die Korrelationskoeffizienten für ECM-, MPN- und ACA-Seren sind  $r = 0,85, 0,89$  bzw.  $0,65$ . Unterschiede in der Bewertung positiv oder negativ mittels beider Tests sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Der prozentuelle Anteil positiver Ergebnisse mittels IIFT und ELISA zeigt weitgehend übereinstimmende Werte.

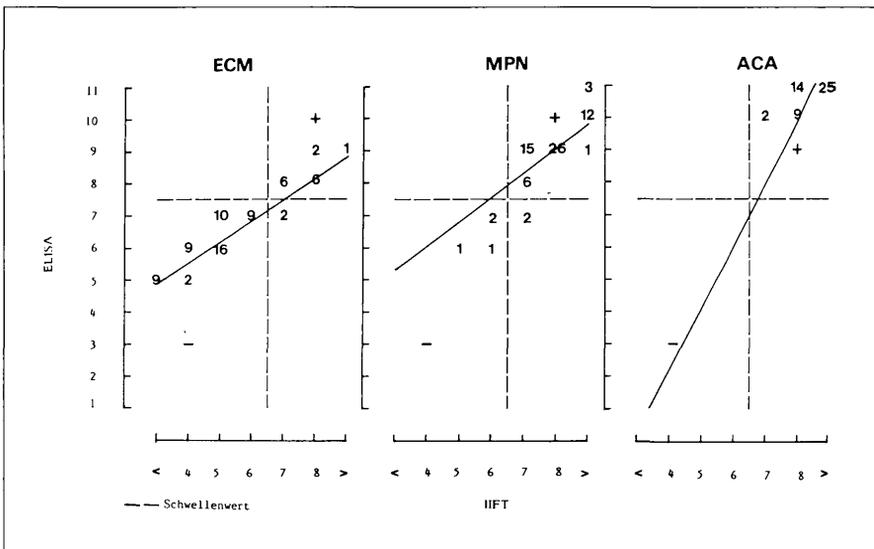


Abb. 3: Korrelation von IIFT und ELISA ( $\log_2$ -Titer)

**TABELLE 3: Anzahl (%) positiver serologischer Ergebnisse durch IIFT und ELISA**

Erkrankung	Anzahl Patienten	n (%) mit positivem Test			
		IIFT		ELISA	
		IgG	IgM	IgG	IgM
ECM	72	17 (23,6)	1 (1,4)	15 (20,8)	0 (0)
MPN	69	65 (94,2)	8 (11,6)	63 (91,3)	10 (14,3)
ACA	50	50 (100)	0 (0)	50 (100)	3 (6)

Der IIFT sowie der ELISA mit *B. burgdorferi* als Antigen erweisen sich für die serologische Diagnose der Lyme-Borreliose als geeignete Tests. Die serologische Bestätigung der Diagnose hängt allerdings vom Stadium der Erkrankung ab. Nur in 23,6% (IIFT) und 20,8% (ELISA) der 72 Seren von Patienten mit ECM wurden über den Schwellenwert erhöhte IgG-Titer gefunden.

Bei Seren von Patienten mit neurologischen Komplikationen wurden positive IgG-Titer bereits in 94,2% (IIFT) und 91,3% (ELISA) nachgewiesen. In allen Seren von Patienten mit ACA wurden mit beiden Tests positive IgG-Titer ermittelt.

Da Titerbewegungen bei neurologischen Manifestationen und ACA nur sehr langsam erfolgen, sollten nach einer geeigneten Therapie serologische Verlaufsuntersuchungen im Abstand von 8 und 24 Wochen durchgeführt werden.

### Zusammenfassung

Mit einem Indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) und einem ELISA wurden Antikörpertiter der IgG- und IgM-Klasse gegenüber *Borrelia burgdorferi* in 191 Seren von Patienten mit verschiedenen Manifestationen der Lyme-Borreliose bestimmt. Die Ergebnisse mit beiden Tests zeigten keine signifikanten Unterschiede. In Abhängigkeit vom Stadium der Erkrankung wurden über einen kalkulierten Schwellenwert erhöhte IgG-Titer in 23,6 und 20% (IIFT bzw. ELISA) bei Erythema chronicum migrans, in 94,2 und 91,3% bei neurologischen Manifestationen und in 100% bei Acrodermatitis chronica atrophicans bestimmt.

### Summary

#### IFA and ELISA for the serological diagnosis of Lyme Borreliosis

Antibodies of the IgG- and IgM-class have been measured by Indirect Immunofluorescence Test (IFA) and ELISA on 191 sera of patients with various manifestations of Lyme Borreliosis. The results of both tests did not show any relevant differences.

IgG-titers above a calculated threshold-level could be determined by IFA and ELISA in sera of patients with Erythema chronicum migrans, in some neurological manifestations and in Acrodermatitis chronica atrophicans in 23.6% and 20.8%, 94.2% and 91.3% and 100%, respectively.

## Literatur

- AMROSCH, F., WIEDERMANN, G., MÜLLER, H. (1984): Eine neue Mikromethode zur Bestimmung der Tetanus-Antikörper. *Zbl. Bakt. Hyg. A* 258, 173–182.
- BARBOUR, A. G., BURGDORFER, W., HAYES, S. F., PETER, O., AESCHLIMANN, A. (1983): Isolation of a cultivable spirochete from ixodes ricinus ticks of Switzerland. *Current Microbiology* 8, 123–126.
- BURGDORFER, W., BARBOUR, A. G., HAYES, S. F., BENACH, J. L., GRUNWALD, E., DAVIS, J. P. (1982): Lyme disease – A tick-borne spirochetosis? *Science* 216, 1317–1319.
- JOHNSON, R., SCHMID, G. P., HYDE, F. W., STEIGERWALDT, A. C., BRENNER, D. J. (1984): *Borrelia burgdorferi* sp.nov.: Etiologic agent of lyme disease. *Int. J. Syst. Bact.* 34, 496–497.
- STANEK, G., BARBOUR, A. G., BURGDORFER, W., FLAMM, H. (1986): Lyme Borreliosis. 1. Auflage, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart/New York, (im Druck).
- STANEK, G., HIRSCHL, A., LESSKY, E., WEWALKA, F., RUCKDESCHEL, G., WEWALKA, G. (1983): Indirect immunofluorescence assay (IFA), microagglutination test (MA) and enzyme-linked-immunosorbent-assay (ELISA) in diagnosis of legionellosis. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A* 255, 108–114.
- WILKINSON, H. W. (1984): Immundiagnostic test for lyme disease. *Yale J. Biol. Med.* 57, 567–572.

## KORRESPONDENZADRESSE:

Dr. med. Gerold Stanek  
Hygiene-Institut der Universität  
Kinderspitalgasse 15  
A-1095 Wien

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1986

Band/Volume: [8](#)

Autor(en)/Author(s): Stanek Gerold, Hirschl A., Kristoferitsch Wolfgang

Artikel/Article: [IIFTund ELISA in der serologischen Diagnose der Lyme-Borreliose. 1-6](#)