

## LabTOPs

### Wissenswertes aus der Laboratoriumsmedizin

**Ausgabe 6 – Juli 2009**

Redaktion Elke Schernikau

#### Labordiagnostik der Lyme-Borreliose

Die Lyme-Borreliose ist die häufigste durch Zecken übertragene Erkrankung in Europa mit einer geschätzten Inzidenz von 16 – 140 Borreliose-Fällen / 100.000 Einwohner (MiQ 2000) und 5000 bis 10.000 Fälle pro Jahr in Baden- Württemberg (Kimmig 2000). Sie wird durch verschiedene Spezies des Genus *Borrelia* verursacht, die zum sogenannten Komplex *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Bbsl) gehören. Vier der insgesamt 12 bisher beschriebenen Spezies des Bbsl- Komplexes sind humanpathogen: *Borrelia* (*B.*) *burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii* und *B. spielmanii*. Etwa 5 – 35% der Zecken sind mit Borrelien befallen, wobei das Landesgesundheitsamt (LGA) Baden-Württemberg für den Großraum Stuttgart eine durchschnittliche Zeckenbefallsrate von 15% erhoben hat: Larven ca. 1%, Nymphen 5 – 10%, Adulte 10 – 40%, lokale Höchstwerte 30 – 40% (z. B. das Waldgebiet in Degerloch um den Fernsehturm herum, das Waldgebiet in der Nähe des Ausflugsziels „Katzenbacher Hof“). Angesichts einer Transmissionsrate von 22,3%, die im LGA an 239 Patienten ermittelt wurde, die von Borrelienpositiven Zecken gestochen worden waren, ist damit in Hochendemiegebieten bei jedem 10. Zeckenstich mit einer Borrelien-Infektion zu rechnen. Die Übertragung erfolgt in Europa durch einen Stich der Schildzecke *Ixodes ricinus* (Holzbock), das Erkrankungsrisiko steigt deutlich mit der Dauer des Saugakts.

#### Klinische Symptomatik

Die Lyme-Borreliose ist eine Multisystemerkrankung, die klinische Symptomatik kann sehr vielgestaltig sein und umfasst insbesondere Symptome an Haut, Nervensystem, Gelenken und Herz. In einer großen prospektiven Studie, die den Raum Würzburg mit 279.000 Einwohnern umfasste, fanden sich für die verschiedenen Manifestationen folgende Häufigkeiten: Erythema migrans als einziges Symptom in 89%, eine frühe Neuroborreliose in 3%, ein Lymphozytom in 2%, eine kardiale Beteiligung in < 1%, eine Lyme-Arthritis in 5% und eine Acrodermatitis in 1%. Die sehr seltene chronische Neuroborreliose wurde bei dieser Studie nicht nachgewiesen.

Eine ausführliche Darstellung der klassischen drei Stadien der Lyme-Borreliose würde den Rahmen dieses Beitrags sprengen, zudem wird die Stadieneinteilung zunehmend als zu künstlich empfunden. Für die klinische Klassifizierung wird die Einteilung in Frühmanifestation (lokalisiert: Erythema migrans; disseminiert: z. B. akute

## Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. Eberhard Wieland

Neuroborreliose) und Spätmanifestation (Arthritis, Acrodermatitis und chronische Neuroborreliose) vorgezogen (RKI-Ratgeber-Infektionskrankheiten Lyme-Borreliose, April 2007).

### Labordiagnostik

Die Lyme-Borreliose ist primär eine klinische Verdachtsdiagnose, die durch die Anamnese und die Labordiagnostik gestützt wird. In der Labordiagnostik steht der Nachweis spezifischer Antikörper im Serum und im Liquor an erster Stelle. Bei der Serodiagnostik soll nach dem Prinzip der Stufendiagnostik verfahren werden. Als 1. Stufe wird als Suchtest der ELISA, der IgG und IgM differenziert, empfohlen. Der Immunoblot darf erst in der 2. Stufe eingesetzt werden, falls der Test der 1. Stufe positiv ist. Die Serologie soll bei klinischem Verdacht auf eine Infektion durch *Borrelia burgdorferi sensu lato* umgehend durchgeführt werden. Bei negativem oder mehrdeutigem Ergebnis und persistierendem klinischen Verdacht soll sie nach drei Wochen wiederholt werden. Bei klinisch eindeutigem Erythema migrans sollte auf eine Serologie verzichtet werden, weil hier die antibiotische Behandlung unabhängig vom Laborbefund indiziert ist. Eine negative Serologie schließt eine Lyme-Borreliose nicht aus. Das Erythema migrans ist sogar in etwa 50% der Fälle seronegativ. Andererseits können hohe Antikörper-Titer (IgM und IgG) nach einer früheren, möglicherweise klinisch inapparenten Infektion über Jahre persistieren. Außerdem besteht die Möglichkeit des Auftretens falsch-positiver Reaktionen auch bei anderen Krankheiten (z. B. Autoimmunerkrankungen, Syphilis, Epstein-Barr- und andere Herpesvirus-Infektionen). Zu Beginn der neurologischen Symptomatik sind demgegenüber in über 90% der Fälle borrelienspezifische IgM-Antikörper oder IgG-Antikörper im Serum auffindbar. Die Serologie besitzt nur im Zusammenhang mit entsprechenden klinischen Symptomen eine hohe diagnostische Spezifität. Die Untersuchung des Liquors ergibt bei der Neuroborreliose eine Pleozytose, wobei die Lymphozyten dominieren. Die Eiweißkonzentration ist oft auf 100 mg/dl und mehr erhöht. Der klinische V. a. eine Neuroborreliose wird durch den Nachweis der Liquorpleozytose und intrathekal gebildeter spezifischer Antikörper (Antikörper-Index) bestätigt. Der Borrelien-Antikörper-spezifitäts-Index (ASI) wird für IgG und IgM berechnet. Ein pathologischer Borrelien-ASI ist kennzeichnend für eine bestehende oder abgelaufene Neuroborreliose, kann in frühen Phasen aber noch negativ sein. Kriterium für die Aktivität des Entzündungsprozesses im ZNS ist die Liquorpleozytose. Wiederholte Kontrollen der spezifischen Antikörpertiter im Serum bzw. des Liquor/Serum-ASI liefern keine valide Auskunft zur Aktivität der Erkrankung oder zur Therapiekontrolle.

Erregernachweis: Der direkte mikroskopische Nachweis ist für Patientenproben ungeeignet. Die Kultivierung von *Borrelia burgdorferi sensu lato* aus Körperflüssigkeiten ist ätiologisch beweisend. Sie ist jedoch ein zeit- und arbeitsaufwendiges Verfahren, das nur in besonders erfahrenen Speziallaboratorien (z. B. im Nationalen Referenzzentrum für Borrelien) durchgeführt wird. Häufig lassen sich Erreger erst nach mehrwöchiger Bebrütung und mehrfacher Blindpassage nachweisen. Für die Anzucht geeignete Untersuchungsmaterialien sind Liquor- und Biopsiematerial (vor allem Hautbiopsien). Die Indikationen für den Erregernachweis sollten auf besondere Fälle beschränkt werden, wie z. B. Hautmanifestationen mit atypischer

## Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. Eberhard Wieland

Symptomatik nach Zeckenstich (Hautbiopsie), V. a. akute Neuroborreliose bei negativer Serologie, V. a. Lyme- Arthritis (PCR von Gelenkpunktat oder Synoviabiopsie). Die Sensitivität der Polymerase-Kettentreaktion (PCR) entspricht etwa der der Kultur. Eine wichtige Spezialindikation für die PCR ist die Untersuchung von Gelenkpunktaten (besser noch Synoviabiopsien). Hier ist die PCR der Kultur deutlich überlegen. Die PCR aus Blut und Urin kann nach dem derzeitigen Wissensstand nicht für die Diagnostik empfohlen werden.

Mittels Immunfluoreszenz oder DNA-Nachweis via PCR können Borrelien in der Zecke nachgewiesen werden, z. B. für wissenschaftliche Fragestellungen wie Durchseuchungsraten von Zecken mit Borrelien. Der Erregernachweis in Zecken von Patienten mit dem Ziel, daraus therapeutische Konsequenzen zu ziehen, wird nicht empfohlen. Die angeführten mikrobiologischen Untersuchungen können eine umfangreiche klinische Differentialdiagnose nicht ersetzen.

### **Retikulozyten-Hämoglobin - frühester Marker bei funktionellen Eisenmangel**

Der **Retikulozyten-Hämoglobingehalt (CHr)** gibt den durchschnittlichen Hämoglobingehalt der Retikulozyten an und stellt einen Marker zur Indikation des Eisenbedarfs der Erythropoese dar. Er stammt aus der Hämoglobin-Messung der Einzelretikulozyten und ist als Maß für die Hämoglobinisation der Retikulozyten im Knochenmark zu verstehen. Die Retikulozyten sind als jüngste normalerweise im Blut vorkommende Entwicklungsvorstufen der reifen Erythrozyten höchstens 5 Tage alt. Die Analyse des CHr gibt daher eine Aussage über die letzten fünf Tage. Aufgrund der langen Überlebenszeit der Erythrozyten von ca. 120 Tagen zeigen sich Veränderungen der erythrozytären Indices erst nach 2 – 3 Monaten. Die Bestimmung des Hämoglobingehalts der Retikulozyten (CHr) ermöglicht deshalb, frühzeitig Veränderungen der erythrozytären Indices zu erfassen. Der CHr berechnet sich nach der Formel  $CHr = MCVr \times CHCMr$ .

CHr ist der früheste Marker zur Erkennung einer eisendefizitären Erythropoese und reagiert auch als schnellster Marker einer erfolgreichen Eisensupplementation. Er reagiert innerhalb von 2 – 3 Tagen sensitiv auf Eisenversorgungsdefizite und ebenso schnell auf eine erfolgte Eisensupplementation durch Messung des CHr-Anstiegs innerhalb der gleichen Zeitspanne. Zu dem Prozentanteil hypochromer Erythrozyten (% Hypo) stellt der CHr somit eine sinnvolle Ergänzung dar. Die Dignität der Aussage des CHr liegt in der Betrachtung der Erythropoese der letzten 3 – 4 Tage, während die hypochromen Erythrozyten (% Hypo) als direkter Indikator der eisendefizitären Erythropoese die Veränderungen in der Erythropoese der letzten 70 Tage anzeigt. Beide Parameter liefern damit eine schnelle und aktuelle Information über sehr kurzfristige wie auch längerfristige Veränderungen der Erythropoese.

Der **Referenzbereich des CHr** liegt bei **28 – 35 pg**. Ein Wert von < 28 pg zeigt einen funktionellen Eisenmangel an, was bedeutet, dass der Eisenbedarf der Erythropoese größer ist als das Angebot. Der Hb-Gehalt der Retikulozyten ist vermindert. Bei

## Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. Eberhard Wieland

vermindertem Angebot oder erhöhtem Bedarf nimmt der CHr-Wert in 48 – 72 Std. ab. Andere Marker des Eisenstoffwechsels wie Ferritin und Transferrinsättigung hingegen zeigen frühestens nach 10 – 20 Tagen Veränderungen, MCV und MCH erst nach Wochen.

Die frühe Erkennung eines Eisenmangels, bevor es zur Entwicklung einer mikrozytären hypochromen Anämie kommt, ist wichtig zur Vermeidung systemischer Komplikationen des Eisenmangels. Klassische biochemische Parameter zur frühen Erkennung des Eisenmangels sind die Bestimmung des Ferritins und des löslichen Transferrin-Rezeptors (sTfR) im Serum. Bei Kindern, menstruierenden Frauen, Ausdauersportlern und Mehrfachblutspendern kann jedoch der Ferritinwert als Indikator eines Eisenmangels kritisch sein, da diese Personen niedrige Werte trotz einer noch ausreichenden Eisenversorgung haben. Bei gesunden Personen, die mit rekombinantem Erythropoietin (rHuEPO) behandelt wurden, konnte gezeigt werden, dass die Abnahme des CHr ein früher Indikator eines Eisenmangels der Erythropoese ist. Schon 3 – 5 Tage nach Beginn der rHuEPO-Therapie kommt es zu einem signifikanten Abfall des Retikulozytenhämoglobins. Der Anteil hypochromer Retikulozyten mit einer Hb-Konzentration der Retikulozyten (CHCMr) von  $< 27$  g/dl, der normalerweise bei  $< 25\%$  liegt, ist ein früher Indikator einer mangelnden Eisenversorgung der Erythropoese. Mit Progression des Eisenmangels nimmt der CHr ab und der Anteil hypochromer Retikulozyten zu.

### Der **Funktionseisenmangel** kommt vor:

- unter rHu-EPO-Therapie,
- bei Tumorpatienten durch Blutung, Hämolyse und zytostatische Therapie, bei der Anemia of chronic disorders (ACD). Ausgelöst durch eine Entzündung induziert IL-6 in den Hepatozyten die Synthese des Peptids Hepcidin, das eine verstärkte Eisenretention in den Makrophagen und eine verminderte intestinale Eisenabsorption bewirkt. Dadurch wird der Eisenturnover vermindert mit der Folge eines funktionellen Eisenmangels der Erythropoese. Etwa 20% der ACD-Patienten entwickeln einen Funktionseisenmangel mit mikrozytärer hypochromer Anämie.

### Ein **Funktionseisenmangel** besteht, wenn:

- CHr  $< 28$  pg
- bei Patienten mit V. a. Eisenmangel der CHr kleiner ist als der MCH-Wert der Erythrozyten

Bei der **Sichelzellanämie** ist die Hämoglobin-Konzentration des einzelnen Retikulozyten (CHCMr) erhöht und in der Regel  $> 38$  g/dl. Unter Hydroxyharnstoff-Therapie kommt es in den ersten zwei Wochen zu einem Abfall der CHCMr aufgrund einer verbesserten Hydratisierung der Sichelzellen, die dadurch nicht mehr so stark zur Sichelzellbildung neigen. Patienten mit Sichelzellanämie haben im Vergleich zu Gesunden einen 2 - 3fach höheren CHr-Anteil und eine Verminderung des Erythrozyten-Hämoglobinanteils.

## **Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin**

Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. Eberhard Wieland

Die Bestimmung des Retikulozyten-Hämoglobins (CHr) aus EDTA-Blut wird im Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Klinikum Stuttgart durchgeführt und kann dort angefordert werden.

### **Kontakt:**

Klinikum Stuttgart  
Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin  
Katharinenhospital  
Kriegsbergstraße 60  
70174 Stuttgart  
Telefon: 0711 278-34801