

Aus der Klinik für Neurologie
(Prof. Dr. med. M. Bähr)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Prospektive Untersuchung, liquoranalytische Aspekte
und Evaluation präanalytischer Bedingungen der
CXCL13-Analytik bei Patienten mit akuter
Neuroborreliose**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Ioanna Giotaki

aus

Athen, Griechenland

Göttingen 2023

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück

Referent*in: PD Dr. med. A. Spreer

Ko-Referent*in: Prof. Dr. med. R. Nau

Drittreferent*in:

Datum der mündlichen Prüfung: 22.11.2023

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Prospektive Untersuchung, liquoranalytische Aspekte und Evaluation präanalytischer Bedingungen der CXCL13-Analytik bei Patienten mit akuter Neuroborreliose" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den (Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1 Einleitung.....	1
1.1 Epidemiologie, Übertragung, Prophylaxe.....	1
1.2 Stadien der Neuroborreliose	2
1.3 Diagnostik	3
1.4 Diagnostische Kriterien der Neuroborreliose	4
1.5 Klinisches Netzwerk für Neuroborreliose (KNN).....	5
1.6 Ziel dieser Arbeit.....	7
2 Material und Methoden	8
2.1 Patienten	8
2.2 Klinisches Netzwerk für Neuroborreliose (KNN)	9
2.3 Laboranalytische Tests	11
2.3.1 Spezifischer Antikörperindexwert	11
2.3.1.a Spezifischer Antikörperindexwert-Testverfahren.....	13
2.3.1.b Spezifischer Antikörperindexwert-Berechnung.....	15
2.3.1.c Spezifischer Antikörperindexwert-Analytische Fallstricke.....	15
2.3.2 Bestimmung von CXCL13	16
2.3.2.a CXCL13-Testdurchführung.....	16
2.3.2.b CXCL13-Testauswertung.....	18
2.3.2.c Präanalytische Versuche zur Stabilität von CXCL13.....	18
2.3.2.d Prüfung der Spezifität von CXCL13.....	19
2.3.3 Bestimmung weiterer Liquorparameter: Leukozytenzahl, Gesamteiweiß, Laktat.....	19
2.3.4 Isoelektrische Fokussierung (IEF)	20
2.3.4.a Isoelektrische Fokussierung-Testverfahren	20
2.3.4.b Isoelektrische Fokussierung-Interpretation	22
2.4 Bestimmung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion und der IgG-/IgA-/IgM-Quotienten ..	23
2.5 Statistische Analyse	24
3 Ergebnisse.....	26
3.1 Borrelien-Serologie und Borrelien-PCR im Liquor	27
3.2 Liquorparameter.....	28
3.3 Symptome.....	33
3.4 Verlauf der akuten Neuroborreliose.....	41

3.5	CXCL13	42
3.5.1	Präanalytische Evaluation der CXCL13-Bestimmung	46
3.5.2	CXCL13 bei anderen neurologischen Erkrankungen	50
4	Diskussion	52
4.1	Kriterien	52
4.2	Zeckenstich und Erythema migrans	53
4.3	Borrelien-Serologie und Borrelien-PCR im Liquor	54
4.4	Liquorparameter.....	55
4.4.1	Pleozytose und Laktat	55
4.4.2	Borrelien-Antikörper-Index.....	56
4.4.3	Oligoklonale Banden und lokale Synthese im Reiber/Felgenhauer-Diagramm	57
4.5	Symptome und Bildgebung	59
4.6	Reaktivierung von Viren	62
4.7	Neuroborreliose und Schlaganfall.....	63
4.8	CXCL13	64
4.8.1	CXCL13 und andere ZNS-Erkrankungen	67
4.8.2	CXCL13-Präanalytik.....	68
4.9	Therapie und Verlauf	69
4.10	Limitationen	70
5	Zusammenfassung	71
6	Anhang.....	72
6.1	Einverständniserklärung für Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf Neuroborreliose	72
6.2	Einverständniserklärung für Kontrollpatientinnen und Kontrollpatienten	74
6.3	Informationsschrift für Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf Neuroborreliose..	76
6.4	Typischer Liquorbefund eines Patienten aus der Neurologischen Abteilung der UMG mit akuter Neuroborreliose	82
7	Literaturverzeichnis	83

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Beispiel einer Korrektur des QIgGpath. mit lokaler IgG-Synthese auf den höchsten, noch normalen QIgG für den entsprechenden QAlb, den QIgGlim	12
Abbildung 2: Plattenschema für die AI-Wert-Bestimmung	14
Abbildung 3: Pipettierschema	17
Abbildung 4: Oligoklonale Banden vom Typ 2 eines Patienten mit akuter Neuroborreliose.....	22
Abbildung 5: Liquor/Serum-Quotientendiagramm (als Beispiel IgG) nach Reiber	24
Abbildung 6: Darstellung der Zellzahl im Liquor bei seriellen Lumbalpunktionen bei 31 erwachsenen Patienten in Relation zu der Zeit zwischen den verschiedenen Lumbalpunktionen.....	39
Abbildung 7: Darstellung des Laktats im Liquor bei seriellen Lumbalpunktionen bei 31 er- wachsenen Patienten	40
Abbildung 8: Darstellung des Gesamteiweißes im Liquor bei seriellen Lumbalpunktionen bei 31 erwachsenen Patienten	41
Abbildung 9: Relation der Zellzahl mit der Liquorkonzentration von CXCL13-Wert.....	43
Abbildung 10: Verlauf der CXCL13-Konzentration im Liquor bei seriellen Lumbalpunktionen bei 17 erwachsenen Patienten mit akuter Neuroborreliose in Relation zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion.....	44
Abbildung 11: Vergleich des CXCL13-Wertes zwischen zentrifugierten und nicht zentrifugierten Proben.....	47
Abbildung 12: Serielle Messungen von CXCL13 jeweils in der gleichen Liquorprobe, wenn sie bis zu 15 Tage bei Raumtemperatur gelagert wurde	48
Abbildung 13: Stabilität von CXCL13, wenn die zentrifugierten Liquorproben eingefroren wurden (bis zu 2-mal) und wieder aufgetaut wurden	49
Abbildung 14: Stabilität von CXCL13, wenn die nicht zentrifugierten Liquorproben eingefroren wurden (bis zu 2-mal) und wieder aufgetaut wurden	49
Abbildung 15: Darstellung von CXCL13 in seriellen Lumbalpunktionen bei Patienten mit bakterieller Meningitis	50

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stadien der Neuroborreliose.....	2
Tabelle 2: Verdünnungen von Kontrollen und Patientenproben	14
Tabelle 3: Referenzwerte für CXCL13	18
Tabelle 4: Altersabhängige Referenzbereiche für L-Laktat im lumbalen Liquor.....	20
Tabelle 5: Referenzbereiche des Albuminquotienten für Kinder unter 5 Jahren.....	23
Tabelle 6: Patientenkollektiv	26
Tabelle 7: Zeckenstich und Erythema migrans.....	26
Tabelle 8: Zellzahl im Liquor	29
Tabelle 9: Positive Borrelien-AI-Werte ($AI > 1,5$) zum Zeitpunkt der ersten Lumbalpunktion bei Kindern und Erwachsenen mit gesicherter Neuroborreliose	29
Tabelle 10: Schrankenfunktionsstörung, Q_{Alb} , Gesamteiweiß, Laktat im Liquor und oligoklonales IgG bei Kindern und Erwachsenen	30
Tabelle 11: Lokale Immunglobulin-Synthese im Liquor ermittelt anhand der Reiber-Felgen- hauer-Quotientendiagramme bei Kindern und Erwachsenen mit gesicherter Neuro- borreliose.....	32
Tabelle 12: Symptome der Patienten mit gesicherter Neuroborreliose.....	33
Tabelle 13: Vergleich der Liquorparameter Zellzahl, GEW und Laktat bei erwachsenen Patienten und Kindern mit gesicherter Neuroborreliose nach Symptomkategorien..	35
Tabelle 14: Vergleich der Laborparameter ‚positive oligoklonale Banden‘, ‚positiver Borrelien-AI vom Typ IgG‘ und ‚positiver Borrelien-AI vom Typ IgM‘ zwischen erwachsenen Patienten mit unterschiedlichen Symptomen bei gesicherter Neuro- borreliose.....	36
Tabelle 15: Vergleich der Laborparameter ‚positive oligoklonale Banden‘, ‚positiver Borrelien-AI vom Typ IgG‘ und ‚positiver Borrelien-AI vom Typ IgM‘ zwischen Kindern mit unterschiedlichen Symptomen bei akuter Neuroborreliose	36
Tabelle 16: Erwachsene mit gesicherter Neuroborreliose-Vergleich der Zellzahl und der unterschiedlichen Symptom-Kategorien mit der lokalen Synthese	37
Tabelle 17: Kinder mit gesicherter Neuroborreliose-Vergleich der Zellzahl und der unterschiedlichen Symptom-Kategorien mit der lokalen Synthese	38
Tabelle 18: Relation der Zellzahl mit dem CXCL13-Wert	42
Tabelle 19: CXCL13 in Relation zu den unterschiedlichen Symptomkategorien	45
Tabelle 20: CXCL13 bei Kindern und Erwachsenen mit gesicherter Neuroborreliose	46
Tabelle 21: CXCL13 bei erwachsenen Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen außer akuter Neuroborreliose	51

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AI	Antikörper-Index
Alb	Albumin
Ak	Antikörper
Bb	<i>Borrelia burgdorferi</i>
Bbsl	<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>
bzw.	beziehungsweise
CRP	C-reaktives Protein
CSF	<i>cerebrospinal fluid (= Liquor cerebrospinalis)</i>
CT-A	Computertomographische Angiographie
°C	Grad Celsius
DGLN	Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie
DGN	Deutsche Gesellschaft für Neurologie
EFNS	<i>European Federation of Neurological Societies</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ggfs.	gegebenfalls
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GEW	Gesamteiweiß
HHV6	Humanes Herpesvirus 6
HSV	Herpes-simplex-Virus
ICD	<i>International Classification of Diseases</i>
IDSA	<i>Infectious Diseases Society of America</i>
IEF	Isoelektrische Fokussierung
IFS	Institut für anwendungsorientierte Forschung und klinische Studien
Ig_G/A/M	Immunglobulin_G/A/M
IL	Interleukin
iv	intravenös

KNN	Klinisches Netzwerk für Neuroborreliose
Ko.	Kontrolle
LGL	Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
LNB	Lyme-Neuroborreliose
LP	Lumbalpunktion
LTT	Lymphozyten-Transformationstest
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
N.	Nervus
NB	Neuroborreliose
OD	Optische Dichte
OKB	Oligoklonale Banden
Pat.	Patient
path.	pathologisch
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PG	Prostaglandine
PTLDS	<i>Post-Treatment Lyme Disease Syndrome</i>
Q	Quotient
Qlim	Limes Quotient
Ser.	Serum
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF	Tumornekrosefaktor
UMG	Universitätsmedizin Göttingen
U/min	Umdrehungen pro Minute
VE	Viretech Einheiten
VlsE	<i>Variable major protein like sequence Expressed</i>
VP	Verdünnungspuffer
ZNS	Zentrales Nervensystem

Einleitung

1 Einleitung

Die Lyme-Borreliose ist eine Infektionskrankheit, die durch den Stich von Zecken übertragen wird. Insbesondere entsteht sie durch eine Infektion mit der Spirochäte *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Bbsl) (Leitlinie Neuroborreliose 2018). *Borrelia burgdorferi sensu lato* ist ein Gram-negatives spiralförmiges Bakterium, welches in Deutschland regionsabhängig in etwa 5 % bis 35 % der Zecken zu finden ist (Nau et al. 2009). Neurologische Manifestationen treten bei circa 2,8 % aller Borreliosen auf (Huppertz et al. 1999) und können sich als Polyradikulitis, Meningitis und in seltenen Fällen als Enzephalomyelitis manifestieren (Leitlinie Neuroborreliose 2018).

1.1 Epidemiologie, Übertragung, Prophylaxe

Die klinischen Merkmale der Lyme-Neuroborreliose (LNB) sind vielfältig und unterscheiden sich zum Teil bei europäischen und amerikanischen Patienten. Die Erklärung ist höchstwahrscheinlich das Auftreten von unterschiedlichen *Borrelia*-Spezies in Europa und Nordamerika (Hansen und Lebech 1992). In Nordamerika entsteht die Lyme-Borreliose durch die *Borrelia*-Spezies *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, wobei in Europa zusätzlich *B. afzelii*, *B. bavariensis* und *B. garinii* als humanpathogene Erreger gelten (Leitlinie Neuroborreliose 2018). Des Weiteren wurde neulich die Spezies *Borrelia spielmanii* bei Patienten mit Erythema migrans, jedoch noch nicht bei Patienten mit Neuroborreliose, isoliert (Fingerle et al. 2008). Zur Häufigkeit der LNB-Erkrankungen gibt es aktuell keine verlässlichen Zahlen. Aus unterschiedlichen Studien lässt sich herausfinden, dass die Inzidenz in Deutschland zwischen 60.000 bis > 200.000 Erkrankungen/Jahr liegt (Leitlinie Neuroborreliose 2018). Sekundäre Analysen von Krankenkassendaten aufgrund der International Classification of Diseases (ICD) 10 Kodierung A 69.2 (G) zeigen oft noch höhere Fallzahlen, dabei lassen sich jedoch klinische Fehldiagnosen und Fehlkodierungen nicht ausschließen (Müller et al. 2012). Die Überdiagnose und Übertherapie der Erkrankung stellen ein wesentliches Problem dar, da oft die Persistenz von Antikörpern im Serum oder im Liquor als akute Infektion interpretiert wird (Nau et al. 2009). Kinder zeigen laut der Studie von Berglund et al. (1995) eine höhere Infektionsgefahr für eine Neuroborreliose nach Zeckenstich als Erwachsene. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass bei den Kindern aufgrund ihrer kleinen Größe die Stichstelle häufiger im Kopfbereich ist.

In Tierexperimenten hat sich gezeigt, dass das Infektionsrisiko von der Dauer der Blutmahlzeit der Zecke abhängig ist. Laut Crippa et al. (2002) ist es wahrscheinlich, dass die Infektionsrate speziesabhängig ist. Allerdings scheint die Wahrscheinlichkeit der Übertragung in

Einleitung

den ersten 24 Stunden Saugdauer eher gering zu sein-danach ist sie deutlich höher (Nau et al. 2009). Die Spirochäten sitzen initial im Darmsystem der Zecken und können dann über ihre Speicheldrüse auf den Menschen übertragen werden (RKI Neuroborreliose 2019).

Studien in Deutschland zeigen eine Serokonversion nach einem Zeckenstich bei 2,6–5,6 % der Betroffenen. Allerdings, nur ein kleiner Teil (0,3–1,4 %) davon wird klinische Symptome entwickeln (Heininger et al. 1993; Maiwald et al. 1998).

Aktuell gibt es keine Impfung gegen Borreliose, deshalb ist die Vorbeugung für die Bevölkerung sehr wichtig. Als infektionsvorbeugende Schutzmaßnahmen gelten: geeignete Kleidung (z. B. mit langen Ärmeln und Hosen), möglichst umgehendes Absuchen des Körpers nach Insekten und vorsichtiges Entfernen der Zecken, am besten mit einer speziellen Pinzette (Nau et al. 2009).

Eine antibiotische Therapie als Prophylaxe wird nicht empfohlen, eine sorgfältige Desinfektion der Stichstelle ist jedoch ratsam (RKI Neuroborreliose 2019).

1.2 Stadien der Neuroborreliose

Es werden drei Krankheitsstadien unterschieden (Leitlinie Neuroborreliose 2018; RKI Neuroborreliose 2019):

Tab. 1: Stadien der Neuroborreliose (Leitlinie Neuroborreliose 2018; RKI Neuroborreliose 2019)

Stadien der Neuroborreliose	Krankheitsbild
<u>Frühes lokalisiertes Stadium</u> (Tage bis Wochen nach dem Zeckenstich)	Erythema migrans um die Infektionsstelle. Die Effloreszenz ist schmerzlos, kann jedoch von Juckreiz begleitet werden. Manchmal treten unspezifische Symptome, wie Krankheitsgefühl, Arthralgien, Myalgien und subfebrile Temperaturen auf.
<u>Frühes disseminiertes Stadium</u> (Wochen bis Monate nach dem Zeckenstich)	Meningoradikulitis bzw. Bannwarth-Syndrom, periphere Fazialisparese, Meningitis, Myelitis, Enzephalitis, zerebrale Vaskulitis, multiple Erytheme, Arthritis, Myalgien, Myositis, Beteiligung des Herzens (Myo- oder Perikarditis), Borrelienlymphozytom, Iritis. Bei Kindern sind eine periphere Fazialisparese, die häufig mit einer Pleozytose im Liquor assoziiert ist, oder eine lymphozytäre Meningitis ohne fokal-neurologische Defizite häufig (Christen et al. 1993).
<u>Späte Manifestationen</u> (Monate bis Jahre nach dem Zeckenstich)	Selten kann es nach Monaten bis Jahren nach dem Zeckenstich zu einer chronischen Erkrankung mit Auftreten von entzündlichen Hautläsionen, mit neurologischen Erscheinungen oder mit Gelenkbeschwerden kommen.

Einleitung

Jedes von diesen Stadien kann allerdings im Krankheitsverlauf übersprungen werden. Patienten mit akuter Neuroborreliose berichten oft, dass sie kein Erythema migrans (Stadium I) bemerkt hatten. Eine Ausheilung ohne antibiotische Therapie kann insbesondere in dem frühen lokalisierten, aber auch im frühen disseminierten Stadium beobachtet werden (Nau et al. 2009). Bei den späten Manifestationen wird eine Krankheitsdauer von Monaten bis Jahren nach dem Zeckenstich berichtet. Die sogenannte „chronische Borreliose“ wird sehr kontrovers in den medizinischen Gremien diskutiert und man vermutet, dass sie höchstens in 2 % aller Neuroborreliose-Fälle vorkommt (Huppertz et al. 1999).

In der Diskussion um Langzeitfolgen wurde neben den gesicherten frühen und späten Manifestationen einer Neuroborreliose das sogenannte *Post-Treatment Lyme Disease Syndrome* (PTLDS) vorgeschlagen. Hier handelt es sich um ein Defektsyndrom nach erfolgreicher Therapie, allerdings ist es wissenschaftlich bis jetzt nicht allgemein definiert und aus diesem Grund auch nicht von allen als Syndrom akzeptiert (Wormser et al. 2006). Die wichtigsten Kriterien für die Definition eines PTLDS laut *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) sind: eine stattgehabte, nach den definierten Kriterien gesicherte Borreliose, die sich unter einer einheitlich akzeptierten antibiotischen Therapie gebessert oder zumindest stabilisiert hat, aber trotzdem werden anhaltende subjektive Beschwerden innerhalb von mindestens sechs Monaten nach Diagnose der Borreliose und Abschluss der Antibiotikatherapie berichtet, ohne dass es Hinweise auf eine andere Ursache trotz umfassender Ausschlussdiagnostik gibt (Wormser et al. 2006). In der Studie von Koedel et al. (2015) wurde beschrieben, dass Patienten, die bei einer Lyme-Borreliose eine antibiotische Therapie erhielten, in 0-20 % der Fälle Symptome des oben beschriebenen PTLDS zeigten; nach antibiotischer Behandlung einer Neuroborreliose variierte der entsprechende Prozentanteil zwischen 5 % und 54 %.

1.3 Diagnostik

Die Diagnose der LNB basiert auf einer Kombination aus der Anamnese des Patienten, der klinischen Untersuchung und der labormedizinischen Analyse der cerebrospinalen Flüssigkeit (CSF). Parameter wie Zellzahl, Zelldifferenzierung, Laktat, Gesamteiweiß (GEW), Reiber/Felgenhauer-Quotientendiagramm, oligoklonale Banden und die Antikörper gegen die Spirochäte *Borrelia burgdorferi* (Bb) in CSF und Serum mit Berechnung des Antikörper-Indexes (AI) sollten bestimmt werden. Die Liquoranalytik zeigt typischerweise bei einer akuten Neuroborreliose eine lymphozytäre Pleozytose und eine Schrankenfunktionsstörung sowie eine intrathekale IgM-Synthese.

Einleitung

Entsprechend der Kriterien der Europäischen Föderation Neurologischer Gesellschaften (EFNS) erfordert die definitive Diagnose einer akuten LNB den Nachweis von Borrelien-Erregern durch Kultur oder Polymerase-Kettenreaktion (PCR) oder den Nachweis der intrathekalen Produktion Borrelien-spezifischer Antikörper durch einen positiven Antikörperindex (Mygland et al. 2010). Serumantikörper gegen Borrelien sind normalerweise bereits vorhanden, obwohl sie im frühen Stadium der Neuroborreliose (NB) unterhalb der Quantifizierungsgrenze sein können (Kaiser 2000). Darüber hinaus ist es aufgrund der verlängerten intrathekalen Antikörperproduktion oft schwierig, zwischen einer akut vorhandenen und einer durchgemachten LNB zu unterscheiden. Erhöhte AI-Werte, sowohl AI (IgG) als auch AI (IgM), können nach einer älteren und austherapierten LNB noch nach Jahren gemessen werden (Krüger et al. 1989; Hammers-Berggren et al. 1993).

In diesen Fällen kann CXCL13 ein wichtiges ergänzendes Diagnosewerkzeug sein. CXCL13 entsteht von Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen und hat eine besondere Rolle bei der Migration von Lymphozyten in den Liquor cerebrospinalis (Euroimmun_CXCL13 2015). Die CXCL13-Werte steigen im Verlauf der LNB früh an und fallen nach der Behandlung ab (Senel et al. 2010). Die CSF-CXCL13-Erhöhung kann sogar vor der intrathekalen Produktion von Bb-spezifischen Antikörpern nachgewiesen werden, was die Schlüsselrolle dieses Chemokins bei der Migration von B-Zellen in das infizierte zentrale Nervensystem (ZNS) unterstreicht (Tjernberg et al. 2011, Rupprecht et al. 2014, Remy et al. 2017). Darüber hinaus wurde festgestellt, dass CXCL13 auch bei vielen anderen neurologischen Erkrankungen wie Neurosyphilis, eitriger Meningitis, malignen Erkrankungen, chronisch-entzündlichen ZNS-Erkrankungen, wie z. B. bei Multipler Sklerose, im Liquor erhöht sein kann (Bossuyt et al. 2003, van Burgel et al. 2011, Bremell et al. 2013, Hytönen et al. 2014, Dersch et al. 2015, Pícha et al. 2016).

1.4 Diagnostische Kriterien der Neuroborreliose

Laut den aktuellen Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN) kann die Diagnose einer Neuroborreliose in Abhängigkeit von der Konstellation der klinischen und laborchemischen Befunde als möglich, wahrscheinlich oder sicher eingestuft werden (Leitlinie Neuroborreliose 2018):

„Mögliche Neuroborreliose

- *typisches klinisches Bild (Hirnnervenausfälle, Meningitis/Meningoradikulitis, fokale neurologische Ausfälle)*

Einleitung

- *Borrelien-spezifische IgG- und/oder IgM-Antikörper sind im Serum nachweisbar. In sehr frühen Krankheitsstadien kann die Serologie noch negativ sein.*
- *Liquorbefund nicht vorliegend/Liquorpunktion wurde nicht durchgeführt*
- *Abgrenzung anderer Ursachen*

Wahrscheinliche Neuroborreliose

Die Diagnose Wahrscheinliche Neuroborreliose basiert auf den Kriterien, die für die Diagnose Mögliche Neuroborreliose gelten; zusätzlich müssen folgende Nachweise vorliegen:

- *entzündliches Liquorsyndrom mit lymphozytärer Pleozytose, Blut-Liquor-Schrankenstörung und intrathekaler Immunglobulinsynthese*

Gesicherte Neuroborreliose

Die Diagnose Gesicherte Neuroborreliose ist berechtigt, wenn die Indikatoren für die Diagnose Wahrscheinliche Neuroborreliose gegeben sind und zusätzlich folgende Nachweise erbracht werden:

- *intrathekale Synthese Borrelien-spezifischer Antikörper (positiver IgG- und/oder IgM-Antikörper-Index) im Liquor oder*
- *positiver kultureller oder Nukleinsäurenachweis (PCR) im Liquor.“ (Leitlinie Neuroborreliose 2018)*

1.5 Klinisches Netzwerk für Neuroborreliose (KNN)

Aus der Kooperation zwischen klinisch tätigen und Liquoranalytik durchführenden Neurologen, Medizinischen Mikrobiologen und dem Robert-Koch-Institut entstand die Initiative der Etablierung des Klinischen Netzwerks Neuroborreliose. Hierbei handelt es sich um eine Registerstudie mit Aufbau einer klinischen Datenbank und Biomaterialbank. Das klinische Netzwerk soll zur Verbesserung der Versorgung von Neuroborreliose-Patienten beitragen und zur Erforschung epidemiologischer, diagnostischer, therapeutischer und prognostischer Aspekte der Neuroborreliose dienen. Die Durchführung dieses Studienvorhabens erfolgte anfänglich in Zusammenarbeit mit dem Institut für anwendungsorientierte Forschung und klinische Studien (IFS) GmbH der Universitätsmedizin Göttingen (UMG). Es handelt sich um eine nicht-interventionelle Registerstudie. Kooperationspartner sind das Nationale Referenzzentrum für Borrelien am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) in Oberschleißheim, das Robert-Koch-Institut in Berlin sowie die Klinik für

Einleitung

Neurologie der Universitätsmedizin Göttingen und inzwischen die Klinik für Neurologie der Universitätsmedizin Mainz. Für diese Registerstudie werden die Daten klinischer Verläufe und stattgehabter Therapien sowie eine Biomaterialbank aus zu diagnostischen Zwecken entnommenen Proben (Liquor, Serum, Gewebe) von Patienten mit Neuroborreliose etabliert.

Durch den Aufbau eines Netzwerks aus Klinikern, neurologischen Zentren, Laboratorien und niedergelassenen Fachärzten wollen die beteiligten Kooperationspartner die Grundlage schaffen für wesentliche, auch in Folgeprojekten zu klärende Fragestellungen:

- Wie häufig ist die Neuroborreliose?
- Wie schwer verlaufen die verschiedenen Formen der Neuroborreliose?
- Welche diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen sind sinnvoll und notwendig?
- Welche Schwierigkeiten (z. B. Ausschluss von Differentialdiagnosen) treten hierbei auf?
- Wie ist die Prognose der adäquat therapierten Neuroborreliose?

Hierfür wurde eine pseudonymisierte Datenbank etabliert. Zudem wird nicht mehr benötigtes Probenmaterial von Patienten mit der klinischen Verdachtsdiagnose oder der Diagnose einer Neuroborreliose, das zu diagnostischen Zwecken entnommen wurde, asserviert. Für die Datenbank werden u. a. Informationen zum klinischen Verlauf, körperliche Untersuchungsbefunde, Ergebnisse diagnostischer Verfahren, empfohlene und durchgeführte therapeutische Maßnahmen und Ergebnisse von Kontrolluntersuchungen erfragt. Die Patienten werden um Erlaubnis gebeten, die ansonsten zu verwerfenden Reste ihrer medizinischen Proben (Liquor cerebrospinalis, Blut, Gewebe) für Forschungszwecke in dieser Biomaterialbank zu asservieren.

In den Jahren 2014-2019 wurden in der Klinik für Neurologie und in der Pädiatrie der Universitätsmedizin Göttingen 72 Patienten mit wahrscheinlicher oder gesicherter Neuroborreliose diagnostiziert und behandelt. Ihre Daten wurden in die Auswertung im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit einbezogen. Die klinischen Merkmale sowie die Liquorbefunde der Patienten werden detailliert in den nächsten Abschnitten dieser Arbeit beschrieben.

Aktuell herrscht in der Bevölkerung eine große Verunsicherung um das Thema der Neuroborreliose. Viele Patienten sind aufgrund unspezifischer Symptome sehr besorgt, an einer akuten oder chronischen Borreliose zu leiden und ihre Angst wird zusätzlich durch breit

Einleitung

divergierende Meinungsäußerungen in Medien und Internetplattformen geschürt. Die Patienten unterziehen sich deshalb häufig zeitaufwändigen und teuren Therapien. Obwohl die Borreliose diese hohe Aufmerksamkeit in der Bevölkerung, bei praktisch tätigen Ärztinnen und Ärzten und in der Politik erfährt, weist die Datenlage zu Epidemiologie, Diagnostik, Therapie und Prognose Lücken und damit Handlungsspielraum für zweifelhafte Diagnostik- und Therapieempfehlungen auf. Als wesentliche labordiagnostische Probleme wurden fehlende Aktivitäts- und Therapiekontrollparameter sowie suboptimale Sensitivität und Spezifität der serologischen Diagnostik identifiziert. Auch werden viele der in den Leitlinien der deutschen und europäischen Gesellschaften für Neurologie DGN und EFNS (Leitlinie Neuroborreliose 2018; Mygland et al. 2010) explizit nicht empfohlenen diagnostischen Methoden wie der Lymphozyten-Transformationstest (LTT), der Nachweis einer erniedrigten CD57+/CD3-Lymphozytensubpopulation oder der mikroskopische Direktnachweis von Borrelien aus Patientenmaterial ohne valide Studiendaten u. a. als individuelle Gesundheitsleistungen auf Kosten der Patienten durchgeführt.

Daran zeigt sich, dass die diagnostische und therapeutische Unklarheit dieses Krankheitsbildes nicht nur negative Folgen für die Gesundheit der Bevölkerung hat, sondern dass dieser Zustand wirtschaftlich nachweisbare negative Folgen für das Gesundheitssystem hat.

Die tatsächlich für das Gesundheitssystem entstehenden Kosten sind kaum zu beziffern. In einer jüngeren Publikation (Müller et al. 2012) wurden, basierend auf Daten einer Krankenkasse, Kosten allein für die serologische Diagnostik mit 51 Mio. €/Jahr für Deutschland berechnet gegenüber einem tatsächlichen Bedarf von 7 Mio. €/Jahr. Schon aus diesen Daten lässt sich ein erheblicher *Public Health*-relevanter Forschungsbedarf ableiten.

1.6 Ziel dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, die ersten Ergebnisse des Klinischen Netzwerks für Neuroborreliose (KNN) mit dem Ziel der Evaluierung bestehender und neu entwickelter diagnostischer Methoden darzustellen. Durch den Gewinn neuer Kenntnisse soll die Behandlung der Neuroborreliose-Patienten optimiert werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden neben der Darstellung der klinischen und liquoranalytischen Aspekte des prospektiven Göttinger Patientenkollektivs die Präanalytik sowie die Referenzwerte des in der Diagnostik der Neuroborreliose Anwendung findenden Chemokins CXCL13 untersucht.

2 Material und Methoden

2.1 Patienten

Insgesamt wurden für die aktuelle Arbeit die Daten von 72 Patienten ausgewertet, die von Juli 2014 bis August 2019 in der Neurologischen Klinik der UMG und in der Pädiatrie der UMG mit einer akuten Neuroborreliose behandelt wurden. Bei einer Patientin wurde die Diagnose in einem externen Krankenhaus gestellt und dort erfolgte auch die akute Behandlung. Diese Patientin stellte sich im Rahmen der Nachsorge in der Neuroborreliose-Ambulanz der Neurologischen Klinik der UMG vor. Eingeschlossen wurden Patienten, die gemäß den aktuellen Leitlinien der DGN (Leitlinie Neuroborreliose 2018) entweder die Diagnose einer gesicherten Neuroborreliose oder einer wahrscheinlichen Neuroborreliose erhalten hatten. Laut der zum Zeitpunkt des Studienbeginns gültigen DGN-Leitlinie (S1-Leitlinie Neuroborreliose 2012) wird die Neuroborreliose als ‚mögliche‘, ‚wahrscheinliche‘ und ‚gesicherte Neuroborreliose‘ klassifiziert (für die Details siehe Einleitung, Kapitel 1.4), diese Klassifizierung wurde im Wesentlichen in den inzwischen gültigen S3-Leitlinien (Leitlinie Neuroborreliose 2018) beibehalten.

Bei der aktuellen Studie wurden die DGN-Kriterien leicht modifiziert. Insbesondere wurden als ‚gesicherte Neuroborreliose‘ alle Patienten eingegliedert, die eine passende für eine Neuroborreliose Symptomatik, eine Pleozytose, eine intrathekale Immunglobulinsynthese und eine intrathekale Synthese Borrelien-spezifischer Antikörper hatten, auch wenn eine Schrankenfunktionsstörung nicht nachweisbar war. Zusätzlich wurden als ‚wahrscheinliche Neuroborreliose‘ die Patienten mit passender Klinik, positiver Borrelien-Serologie, entzündlichem Liquorsyndrom und positiven Borrelien-AI-Werten eingestuft, die aber keine Pleozytose hatten. Die Diagnose der ‚wahrscheinlichen oder gesicherten Neuroborreliose‘ wurde einerseits durch den erhöhten CXCL13-Wert (wenn er bestimmt wurde) und andererseits durch das positive Ansprechen auf die antibiotische Therapie unterstützt. Ein gründlicher Ausschluss anderer Ursachen für die Symptomatik erfolgte bei allen Patienten.

Eine Altersbegrenzung für die Aufnahme der Patienten in diese Studie gab es nicht.

Die primäre antibiotische Behandlung der Patienten erfolgte im stationären oder teilstationären Bereich der Neurologischen Klinik oder der Neuropädiatrie der UMG. Ausgenommen war die Patientin, bei der die akute Behandlung in einem externen Krankenhaus stattfand. Einige dieser Patienten setzten die antibiotische Therapie nach Besserung ihrer Symptome im ambulanten Bereich fort. Die erwachsenen Patienten wurden nach Beendigung der Therapie in der Neuroborreliose-Ambulanz der UMG nachbeobachtet. Zu den Patienten, die aus

Material und Methoden

persönlichen Gründen für die Nachbeobachtung nicht direkt in unsere Klinik kommen konnten, gab es einen telefonischen Kontakt.

Je nach den klinischen Symptomen wurden die Patienten in folgende fünf Kategorien eingegliedert: 1) Polyradikulitis, 2) Fazialisparese, 3) Meningitis, 4) Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis und 5) Andere Symptome (z. B. Gangunsicherheit, Schwindel, Blasenentleerungsstörung, Borrelien-assoziierte Vaskulitis, u. a.).

2.2 Klinisches Netzwerk für Neuroborreliose (KNN)

Bei dem über diese Doktorarbeit hinausgehenden Forschungsvorhaben handelt es sich um eine nicht-interventionelle Registerstudie. In einem pseudonymisierten Patientenregister werden vielfältige klinische Daten von Patienten mit der klinischen Diagnose Neuroborreliose oder Verdacht auf Neuroborreliose in einer Datenbank erfasst. Insbesondere handelt es sich um Informationen zum klinischen Verlauf, um körperliche Untersuchungsbefunde, um Ergebnisse diagnostischer Verfahren, um Informationen zu empfohlenen und durchgeführten Therapien und um die Ergebnisse von Kontrolluntersuchungen.

In der Evaluation von laboranalytischen Tests werden als Vergleichsgruppe Liquor- und Serumpaare verwendet, welche als Kontrollproben von Patienten stammen, die in der Klinik der Neurologie der UMG aufgrund anderer neurologischer Erkrankungen oder anderer nicht durch eine Neuroborreliose bedingter Symptome behandelt wurden (z. B. Kopfschmerzen anderer Ursachen, neurodegenerative, neurovaskuläre, chronisch-entzündliche oder nicht durch eine Neuroborreliose bedingte akut-entzündliche ZNS-Erkrankungen). Patienten, die in diese Kontrollgruppe eingruppiert wurden, wurden nach mündlicher und schriftlicher Aufklärung gebeten, die Reste ihrer Biomaterialien, welche ansonsten verworfen würden, der KNN-Biobank zur Verfügung zu stellen. Insgesamt erfolgte die Asservierung von Biomaterialien (Liquor cerebrospinalis und Blutserum) von 90 Kontrollpersonen.

In einem Register werden durch die Teilnehmer des KNN für Patienten mit klinisch diagnostizierter Neuroborreliose oder dem klinisch gestellten Verdacht hierauf, strukturiert klinische Informationen erhoben. Die zentrale Patientendatenbank zur Datenerhebung und Datenanalyse wird mittels des EDC-Systems secuTrial® erstellt. Die Datenerfassung erfolgt pseudonymisiert, webbasiert und dezentral durch die teilnehmenden Projektpartner. Es erfolgt vorwiegend ein prospektiver Einschluss von Patienten, jedoch erfolgt in einzelnen teilnehmenden Studienzentren auch eine zusätzliche retrospektive Auswertung der Patientenakten. Diese Auswertung war jedoch nicht Gegenstand dieser Arbeit.

Material und Methoden

Zur Patientencharakterisierung wurden ein Pseudonym, das Alter bei der Diagnosestellung und das Geschlecht erfasst. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung wurden zudem folgende Informationen erfasst: 1) das Datum der Diagnosestellung, 2) die Postleitzahl zur Charakterisierung der Region, in welcher der Zeckenstich mutmaßlich erfolgte, 3) die bis zum Diagnosezeitpunkt eventuell aufgetretenen Symptome oder klinischen Zeichen, 4) die bis zum Diagnosezeitpunkt aufgrund dieser Symptome erfolgten Arztkontakte, Diagnostik und Therapien, 5) die Ergebnisse der Analyse von gewonnenen medizinischen Proben, insbesondere Liquor cerebrospinalis, Blut, ggfs. Gewebe und 6) gegebenenfalls die Ergebnisse anderer Zusatzdiagnostik (z. B. Bildgebung). Des Weiteren wurden zu den Zeitpunkten der Kontrolluntersuchungen folgende Informationen erhoben: 1) die Änderung von Symptomen und klinischen Zeichen seit dem letzten Untersuchungszeitpunkt, 2) die Dauer und Art der durchgeführten Therapie, 3) die Ergebnisse der Analyse des Liquors cerebrospinalis und des Blutes, falls durchgeführt und 4) die Ergebnisse anderer Zusatzdiagnostik, falls durchgeführt.

Die Asservierung der Biomaterialien erfolgte nach Einwilligung der Patienten bei -80 °C in der KNN-Biobank. In dieser Biomaterialbank wurden nach Abschluss der Routinediagnostik die nicht mehr benötigten Reste von Liquor cerebrospinalis, Blutproben oder selten auch Gewebe von Patienten mit Verdacht auf Neuroborreliose oder gesicherter Neuroborreliose in pseudonymisierter Form gelagert.

Die Proben wurden in Kryo-geeigneten Probengefäßen aus Polypropylen aliquotiert, etikettiert und in einem an dem Alarmsystem angeschlossenen Gefrierschrank gelagert. Es wurden neben dem Pseudonym Metadaten zu den Patienten, der jeweiligen Probe und den einzelnen Aliquots erfasst und gespeichert. Jeder Probe wurden dabei die bekannten Angaben zum Entnahmezeitpunkt, präanalytische Angaben und die Ergebnisse der Routineanalytik zugeordnet. Jedem Aliquot wurden zudem Metadaten zugeordnet zu dem Probengefäß, dem Probenvolumen, dem Lagerungsort in der Biobank und zu möglichen Gefrier-Auftau-Zyklen sowie ob und wohin Aliquots zu welchem Zeitpunkt/Zweck weitergegeben wurden.

Die Teilnahme eines Patienten an dieser KNN-Studie beeinflusste nicht das für die Krankenversorgung übliche diagnostische Vorgehen, sondern erlaubte nur die strukturierte zentrale Erfassung der aufgrund des üblichen ärztlichen Vorgehens erhobenen Daten und Proben. Eine Rücknahme der Einwilligung zur Datenerfassung bzw. Probenlagerung war den teilnehmenden Patienten jederzeit möglich und ohne Einfluss auf ihre weitere medizinische Versorgung. Entsprechend dem Widerruf der Zustimmung wurden die personenbezogenen Daten der / des Patientin / Patienten und/ oder ihre/ seine Proben gelöscht und vernichtet.

Material und Methoden

Die Studie wurde von der örtlichen Ethikkommission genehmigt.

2.3 Laboranalytische Tests

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten laboranalytischen Untersuchungen erfolgten im Neurochemischen Labor der Klinik für Neurologie der UMG.

2.3.1 Spezifischer Antikörperindexwert

Die gebräuchlichste Methode zur Bestimmung spezifischer Anti-Bb-IgG- und Anti-Bb-IgM-Antikörper ist der Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Serologische Testverfahren sind breit verfügbare Methoden zur Unterstützung der Diagnose einer Borreliose. Die Bewertung der Ergebnisse der Borrelien-Serologie (entsprechend den Laborstandards des Instituts für Medizinische Mikrobiologie der UMG) erfolgt für den Borrelien-ELISA sowohl für IgM als auch für IgG als positiv, wenn das Ergebnis über 11,0 Virotech Einheiten (VE) liegt (< 9,00: negativ, 9,0-11,0: grenzwertig, > 11,0: positiv, für IgM oder IgG). Im Neurochemischen Labor der UMG erfolgte die AI-Wert-Bestimmung auf der Basis des ELISA-Kits Enzygnost Lyme Link VlsE / IgG und IgM (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH) in Liquor- und Serumproben. Aufgrund der Einstellung des Vertriebs der Enzygnost Diagnostika-Linie bei der Firma Siemens erfolgte ab 2017 ein Wechsel auf die Elisa Kits der Firma Virion/Serion (Borrelia burgdorferi IgG Serion Elisa classic; REF ESR 121 G/ Borrelia burgdorferi IgM Serion Elisa classic; REF ESR 121 M/ SERION ELISA classic - Borrelia burgdorferi| SERION Diagnostics).

Die Bestimmung der absoluten Antikörperkonzentrationen im Serum und im Liquor weist eine hohe Variabilität auf und ist daher für die Fragestellung auf eine zusätzlich intrathekal produzierte Fraktion oft diagnostisch nicht sicher verwertbar. Daher erfolgte die Detektion und Quantifizierung einer spezifischen Erreger-gerichteten Antikörpersynthese im Liquor durch den Erreger-spezifischen Antikörperindex (AI) (Reiber 2005). Der AI beschreibt das Verhältnis der Borrelien-spezifischen Antikörperkonzentration im Liquor zur Borrelien-spezifischen Antikörperkonzentration im Serum dividiert durch den Quotienten der jeweiligen Gesamt-Immunglobulinkonzentration im Liquor zur entsprechenden Gesamt-Immunglobulinkonzentration im Serum.

$$AI = \frac{\frac{Ig_{CSF} Bb}{Ig_{serum} Bb}}{\frac{Ig_{CSF} total}{Ig_{serum} total}}$$

Material und Methoden

Um das Ausmaß analytischer Fehler in der Ermittlung der Quotienten (Q) zu reduzieren, wird in den Leitlinien der Fachgesellschaften empfohlen, dass Liquor und Serum eines Patienten im gleichen Testsystem und möglichst in ähnlichen Konzentrationsbereichen analysiert werden. Entsprechend wird im Neurochemischen Labor der UMG die Befundvorforderung der Höhe des Bezugsquotienten genutzt, um die geeignete Vorverdünnung zur Berechnung des spezifischen Bb AI zu ermitteln. Das heißt, dass bei einem hohen Bezugsquotienten der Liquor höher, bei einem niedrigen Bezugsquotienten der Liquor weniger hoch verdünnt wird. Die Regelverdünnungen sind für Liquor 1:25 und Serum 1:5000, was einem idealen Verdünnungsverhältnis für den Bezugspunkt $Ig-Q5 \cdot 10^3$ entspricht.

Als Bezugsquotient zur Berechnung eines AI-Wertes dient jeweils der Gesamt-Ig-Quotient (hier ist gemeint der Gesamt-Ig-Quotient der jeweils untersuchten Immunglobulin-Klasse), außer wenn im Reiber-Felgenhauer-Nomogramm der Bezugs-Ig-Quotient oberhalb der Diskriminierungslinie liegt. In diesem Fall erfolgte die Berechnung bezogen auf den höchsten noch normalen Ig-Quotienten für den jeweiligen QAlb, den QIim (siehe Abb. 1). Der QIim (Reiber 1994) ist das maximale Verhältnis von Ig_{CSF} gesamt/ Ig_{Serum} gesamt, das bei einem gegebenen CSF/Serum-Albumin-Verhältnis in Abwesenheit einer intrathekalen Immunglobulinsynthese erwartet werden kann.

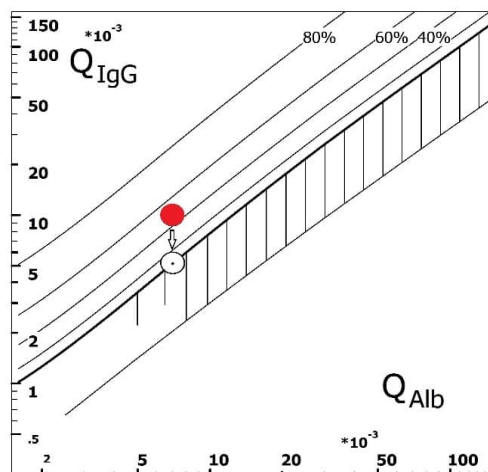


Abb. 1: Beispiel einer Korrektur des $Q_{IgGpath}$. (roter Punkt) mit lokaler IgG-Synthese auf den höchsten, noch normalen Q_{IgG} für den entsprechenden Q_{Alb} , den Q_{IgGlim} (offener Kreis)

AI-Werte größer oder gleich 1,5 deuten auf eine lokale spezifische Antikörpersynthese im Zentralnervensystem hin.

Material und Methoden

Um eine hohe Qualität der AI-Wert-Bestimmung zu erreichen, erfolgt die Testabarbeitung nach einer In-House-Methode. Entgegen der Empfehlung des Herstellers werden die Liquor-Proben deutlich höher verdünnt. Dadurch soll das Risiko eines Matrixfehlers reduziert werden und eine erhebliche Menge an Liquor-Probenvolumen kann eingespart werden, was insbesondere bei Liquorproben aus der Kinderklinik wertvoll ist.

Proben Standardverdünnungen:

<u>Hersteller Empfehlung</u>	<u>In-House</u>
CSF = 1:2/1:8	CSF = 1:25/1:100
Serum = 1:400/1:1600	Serum = 1:5000/1:20000

Diese höhere Nachweisempfindlichkeit der AI-Wert-Bestimmung wird durch Verwendung hochpotenter externer Detektion-Antikörper erreicht, die anstatt dem im ELISA-KIT mitgelieferten Detektion-Antikörper eingesetzt werden (Polyclonal Rabbit Anti-Human IgG/HRP, Dako P0214/ Polyclonal Rabbit Anti-Human IgM/HRP, Dako P0215).

Die Berechnung der AI-Werte erfolgt anhand einer im Testansatz mitgeführten Kalibrationskurve. Hierfür wird ein Pool aus Seren von Patienten mit nachgewiesenen Borrelien-Antikörper-Titern verwendet. Dieser Pool wurde vorverdünnt, aliquotiert und weggefroren und über eine lange Zeit verwendet. Von diesem Aliquot wurde durch eine Verdünnungsreihe (1:2) eine Eichkurve bestehend aus 7 Kalibrationspunkten erstellt. Der höchste Standardpunkt wurde mit 100 willkürlichen Konzentrationseinheiten definiert.

Als Kontrollen wurden Liquor- und Serum-Rest-Probenmaterial von Patienten benutzt, bei denen die Routinediagnostik schon abgeschlossen war. Diese Proben wurden entsprechend einem positiven AI-Wert ($> 1,5$) und einem negativen AI-Wert ($< 1,5$) gepoolt, aliquotiert und weggefroren. Die Kontrollprobenpaare wurden wie ein Patientenprobenpaar im Testansatz eingesetzt. Als zusätzliche Qualitätssicherung diente die Teilnahme an den Ringversuch von INSTAND.

2.3.1.a Spezifischer Antikörperindexwert-Testverfahren

Kontrollen (Liquor/Serum) und Patienten-Proben wurden mit dem Verdünnungspuffer (VP) vom Kit verdünnt.

Tab. 2: Verdünnungen von Kontrollen und Patientenproben

	Liquor	Serum
Kontrolle	1. Verdünnung 1:25 = 30 µl + 720 µl VP	1. Verdünnung 1:100 = 10 µl + 990 µl VP
		2. Verdünnung 1:5000 = 20 µl (von der 1. Verdünnung) + 980 µl VP
Patienten-Proben	1. Verdünnung 1:25 = 30 µl + 720 µl VP	1. Verdünnung 1:100 = 10 µl + 990 µl VP
		2. Verdünnung 1:5000 = 20 µl (von der 1. Verdünnung) + 980 µl VP
	2. Verdünnung 1:100 = 200 µl (von der 1. Verdünnung) + 600 µl VP	3. Verdünnung 1:20000 = 200 µl (von der 2. Verdünnung) + 600 µl VP

Von den Standard-, Kontroll- und Patienten-Verdünnungen wurden jeweils 120 µl / Kavität in die ELISA-Platten pipettiert (siehe Plattenschema).

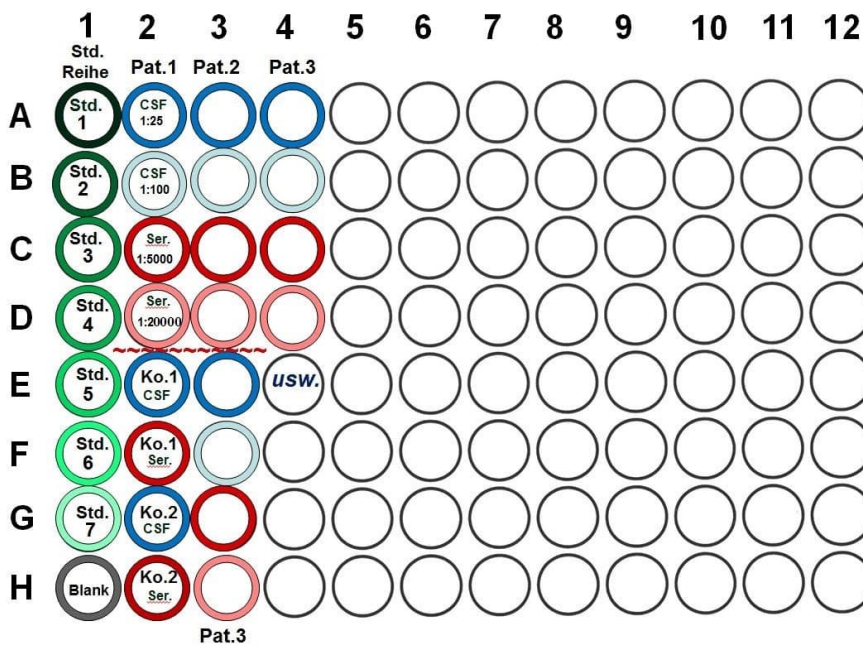


Abb. 2: Plattenschema für die AI-Wert-Bestimmung (Ko. 1 = Kontrolle positiv, Ko. 2 = Kontrolle negativ, Pat. = Patient)

Material und Methoden

Die Probeninkubation betrug 3 Stunden bei 37 °C auf dem Thermo-Shaker (PHMP-4) von der Firma Grant-bio bei 250 RPM.

Nach der 1. Inkubation wurde die ELISA-Platte mit Waschpuffer (Kit) auf dem Elisa Washer (Wellwash Versa, Firma Thermo Scientific) gewaschen (3 Zyklen).

Pro Kavität wurden 120 µl der verdünnten Detektionsantikörperlösung (Antikörper-Verdünnung 1:1000 mit Pufferlösung PBS Dulbecco der Firma Biochrom GmbH + 0,2 % Tween 20 der Firma Serva) aufgetragen.

Die 2. Inkubation betrug 30 Minuten bei 37 °C auf dem Thermo-Shaker.

Nach der 2. Inkubation folgten 4 Waschzyklen mit dem Elisa Washer.

120 µl der frisch angesetzten Substratlösung wurden pro Kavität aufgetragen. Herstellung der Substratlösung: 1 ml einer 1 molaren Lösung o-Phenylenediamine dihydrochloride der Firma Sigma P1526 wurden mit 50 ml Citratpuffer pH 5,5 + 35 µl H₂O₂ 30 % der Firma Merck KGaA gemischt.

Die Substratinkubation betrug 20 Minuten bei Raumtemperatur.

Es folgte das Stoppen der Enzymreaktion mit 0.1n HCL (80 µl / Kavität).

Die Messung der Farbintensität erfolgte bei Messwellenlänge 492 nm, Referenzwellenlänge 620 nm (Mikroplatten-Reader Sunrise, Firma Tecan).

2.3.1.b Spezifischer Antikörperindexwert-Berechnung

Die Auswertung der Testergebnisse erfolgte mit Hilfe der Magellan Software (Tecan). Für den Kurvenfit wurde eine 4-Parameter Logistik verwendet. Die willkürlichen Konzentrationseinheiten von Liquor und Serum wurden aus der Kalibrationskurve ermittelt und mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert.

Die Berechnung der Borrelien-Antikörperindex-Werte erfolgte mithilfe der Laborsoftware CSF-Lab der Firma Lab Solution W. Albaum.

2.3.1.c Spezifischer Antikörperindexwert-Analytische Fallstricke

Punkte, die bei der Bestimmung der AI-Werte mittels ELISA-Test zu beachten sind:

Um Matrixeffekte zu vermeiden, sollte der Liquor zur Analyse mindestens 1:2, besser höher verdünnt, eingesetzt werden (in Abhängigkeit von der Empfindlichkeit der ELISA-Platten).

Für jeden Analyseansatz wurde eine Standardkurve mitgeführt.

Material und Methoden

Die Berechnung der willkürlichen Konzentrationseinheiten wurde aus dieser Standardkurve ermittelt.

Für Neuroborreliose-Patienten mit intrathekaler Synthese sollten im Analyseansatz zusätzliche Verdünnungsschritte für Liquor und Serum mitbestimmt werden.

Die Berechnung des AI erfolgte dann aus den am besten zusammenliegenden OD (Optische Dichte) Werten der jeweiligen Liquor- und Serum-Verdünnungen.

2.3.2 Bestimmung von CXCL13

Der Bestimmung von CXCL13 wird entsprechend der aktuellen Literatur eine zusätzliche diagnostische Bedeutung bei ausgewählten Patientenproben zuerkannt (Schmidt et al. 2011). Das Chemokin CXCL13 ist ein Botenstoff, der von Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen gebildet wird und eine bedeutsame Funktion für die Migration von Lymphozyten in den Liquor hat (Euroimmun_CXCL13 2015). Hohe CXCL13-Konzentrationen wurden bei akuter Neuroborreliose, aber auch bei anderen neurologischen Erkrankungen wie Neurosyphilis, HIV-Meningitis, Toxoplasmose und Multiple Sklerose beobachtet. Während einer erfolgreichen Therapie sinkt der CXCL13-Wert ab, sodass er sich als wichtiger Verlaufparameter darstellt.

Die Quantifizierung des Chemokins CXCL13 im Liquor erfolgt in der Regel mit einem Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Für diese Arbeit wurde der ELISA-Test der Firma Euroimmun benutzt.

Nach den Empfehlungen des Herstellers können die zu untersuchenden Patientenproben bis zu 14 Tage bei + 2 °C bis + 8 °C aufbewahrt werden. Für eine Langzeitlagerung wird eine Aufbewahrung bei - 20 °C empfohlen.

2.3.2.a CXCL13-Testdurchführung

1. Inkubationsschritt: Entsprechend der Angaben des Herstellers wurden je 50 µl Kalibratoren, Kontrollen und unverdünnte Patientenproben und 50 µl Biotin in die einzelnen Kavitäten pipettiert. Die Mikrotiterplatte wurde mit einer Folie abgedeckt. Die Inkubation erfolgte auf einem Mikrotiterplattenschüttler (400 U/min, Thermo-Shaker PHMP-4 von der Firma Grant-bio bei 250 RPM) für 180 Minuten bei Raumtemperatur (+ 18 °C bis 25 °C).

Waschen: Die Mikrotiterplatte wurde mit Waschpuffer (den Waschpuffer davor mit 1:10 entionisiertem, abgekochtem Wasser verdünnen) 3 x mit jeweils 300 µl/Kavität gewaschen.

Material und Methoden

2. Inkubationsschritt: Jeweils 100 µl Enzymkonjugat (Streptavidin-Peroxidase-gebrauchsfertig, vor Gebrauch gründlich durchmischen) wurden in die Mikrotiterplatte pipettiert, mit Folie abgedeckt und 30 Minuten auf einem Mikrotiterplattenschüttler (400 U/min) bei Raumtemperatur (+18 °C bis 25 °C) inkubiert.

Waschen: Waschen wie oben.

3. Inkubationsschritt: Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Chromogen/Substratlösung wurden in die Kavitäten pipettiert. Für die Enzymreaktion wurde die Mikrotiterplatte 15 Minuten bei Raumtemperatur (+ 18 °C bis 25 °C) inkubiert.

Stoppen: Mit jeweils 100 µl Stopplösung (1n H₂SO₄, gebrauchsfertig) wurde die Chromogen/Substratreaktion beendet.

Messen: Die photometrische Auswertung der Farbintensität erfolgte innerhalb von 30 Minuten, bei 450 nm Messwellenlänge und einer Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm.

Beispielhaft wird hier ein Pipettierschema gezeigt.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	K1	P1	P9									
B	K2	P2	P10									
C	K3	P3	P11									
D	K4	P4	P12									
E	K5	P5	P13									
F	K6	P6	P14									
G	Ko.1	P7	P15									
H	Ko.2	P8	P16									

Abb. 3: Pipettierschema

Das für die Mikrotiterstreifen 1 bis 3 angegebene Pipettierschema illustriert die quantitative Analyse von 16 Patientenproben (P1 bis P16). Die Kalibratoren (K1 bis K6), Kontrolle 1 (Ko. 1) und Kontrolle 2 (Ko. 2) sowie Patientenproben wurden jeweils in Einzelbestimmung

Material und Methoden

eingesetzt. Die Kontrollen dienten als interne Prüfung für die Zuverlässigkeit des Testverlaufs und wurden bei jedem Testdurchlauf verwendet.

2.3.2.b CXCL13-Testauswertung

Nach Auftragen der gemessenen Extinktionen für die 6 Kalibratoren gegen die entsprechenden Konzentrationen (pg/ml) wurde eine Standardkurve (graphische Darstellung linear/log) erstellt. Anhand der Standardkurve wurde die CXCL13-Konzentration der Proben errechnet. Zur computergesteuerten Berechnung der Standardkurve erfolgte die Auswertung mithilfe der Magellan-Software der Firma Tecan. Für den Kurvenfit wurde die 4-Parameter-Logistik-Auswertung benutzt.

Vom Hersteller wurden folgende Referenzwerte für die CXCL13-Werte zur klinischen Interpretation angegeben:

Tab. 3: Referenzwerte für CXCL13 (Euroimmun_CXCL13 2015)

Referenzwerte für CXCL13	Interpretation
< 20 pg/ml	Normalbereich-Ausschluss einer Neuroborreliose
20-30 pg/ml	Grenzwertbereich
30-100 pg/ml	Erhöht
> 100 pg/ml	Stark erhöht-bei entsprechenden Symptomen Verdacht auf akute Neuroborreliose

2.3.2.c Präanalytische Versuche zur Stabilität von CXCL13

Zur Ermittlung optimaler präanalytischer Bedingungen bzw. präanalytischer Einflüsse auf die Quantifizierung von CXCL13 im Liquor wurden folgende Versuche durchgeführt:

Liquorproben von fünf Patienten mit Pleozytose bei Meningitis (unterschiedliche Erreger) mit erhöhtem CXCL13 wurden bei Raumtemperatur gelagert und im Verlauf analysiert. Die Volumina betragen 200 µl und es wurden Polypropylen-Röhrchen (Eppendorf-Cups) benutzt. Die Analysen erfolgten am Tag 1, 2, 3, 6 und 7 und bei zwei von diesen Patienten erfolgte eine weitere Analyse am Tag 14 nach Lumbalpunktion.

Material und Methoden

Des Weiteren wurde Liquor von Patienten mit unterschiedlichen ZNS-Erkrankungen in Aliquots zu je mindestens 200 µl in Polypropylen-Röhrchen unterteilt und bei -80 °C eingefroren. Es erfolgte die Analyse der frischen nach der Lumbalpunktion und noch nicht eingefrorenen Proben, der einmal und der zweimal aufgetauten Proben.

Zudem erfolgten Vergleichsmessungen vom zellhaltigen und nach Zentrifugation zellfreien Liquor derselben Punktion im gleichen Testansatz. Für das vorsichtige Abzentrifugieren der Liquorzellen wurden folgende Zentrifugationsbedingungen gewählt: Die Liquorproben wurden 10 Minuten bei Raumtemperatur mit einer Geschwindigkeit von 700 Umdrehungen entsprechend 105 g zentrifugiert (Omnifuge 2.0 ORS der Firma Thermo Scientific).

2.3.2.d Prüfung der Spezifität von CXCL13

Zur Prüfung der Spezifität des Chemokins wurde zusätzlich zu den LNB-Patienten der CXCL13-Wert bei anderen neurologischen Erkrankungen bestimmt. Insbesondere wurde das CXCL13 bei 20 Patienten mit bakterieller Meningitis, bei 14 Patienten mit viraler Meningitis bzw. Meningoenzephalitis, bei zwei Patienten mit Neurotuberkulose, bei sechs Patienten mit autoimmunen ZNS-Erkrankungen, inklusive Multipler Sklerose (MS) und bei sieben Patienten mit anderen neurologischen Erkrankungen (Meningeosis carcinomatosa, Migräne, Neurosarkoidose und neurodegenerativen Erkrankungen) untersucht. Der Liquor dieser Patienten wurde in Aliquots zu je 200 µl in Polypropylen-Röhrchen (Eppendorf-Cups) unterteilt. Die Messung von CXCL13 erfolgte bei zellfreien Proben.

2.3.3 Bestimmung weiterer Liquorparameter: Leukozytenzahl, Gesamteiweiß, Laktat

Aus jeder Liquorprobe wurden die Leukozyten- und Erythrozytenzahl, die Gesamteiweißkonzentration und das Laktat im Liquor bestimmt.

Die Liquor-Zellzählung erfolgte nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie (DGLN) mikroskopisch in der Fuchs-Rosenthal-Zellkammer. Die Fuchs-Rosenthal-Zellkammer ist aufgeteilt in 4 x 4 Großquadrate und jedes Großquadrat besteht aus 16 Kleinstquadraten, insgesamt gibt es somit 256 Kleinstquadrate. Die frisch abgenommene Liquorprobe wurde vorsichtig durchgemischt, um eine homogene Zellverteilung zu gewährleisten. 90 µl davon wurden mit einer 10 µl Färbelösung (32 ml Karbofuchsinlösung + 5 ml Eisessig + 100 ml Aqua ad iniectabilia) mit einer Pipette vorsichtig gemischt, damit die Kerne der Leukozyten gefärbt werden können. Ein Tropfen von dieser Mischung wurde in die Zählkammer gefüllt. Damit die Zellen auf die Sichtebe-

Material und Methoden

sedimentieren, wurde einige Minuten gewartet, danach wurde die Zellzahl in allen Quadranten unter dem Mikroskop ausgezählt. Der Kammerinhalt beträgt 3,2 µl. Bei einer Verdünnung der Liquorprobe von 9:1 ist das Volumen der Zählkammer $3,2 \times 0,9 = 2,88$ µl. Die Anzahl der Zellen pro µl ergibt sich, indem man die Anzahl der unter dem Mikroskop gezählten Zellen durch 2,88 (etwa 3) teilt (Wildemann et al. 2006). Von einer Pleozytose im lumbalen Liquor spricht man ab einer Zellzahl von mehr als 4 Zellen/µl.

Gesamtprotein und Laktat wurden mit Hilfe des Geräts Respons 910 Analyser der Firma DiaSys Diagnostic Systems GmbH bestimmt mittels vollautomatischer, quantitativer Bestimmung.

Die Referenzwerte für L-Laktat im Liquor sind altersabhängig (Kleine et al. 1979).

Tab. 4: Altersabhängige Referenzbereiche für L-Laktat im lumbalen Liquor

0-15 Jahre	1,1-1,8 mmol/l (9,9-16,2 mg/dl)
16-50 Jahre	1,5-2,1 mmol/l (13,5-18,9 mg/dl)
> 51 Jahre	1,7-2,6 mmol/l (15,3-23,4 mg/dl)

(Umrechnung: mg/dl x 0,11= mmol/l) (Wildemann et al. 2006)

2.3.4 Isoelektrische Fokussierung (IEF)

Die isoelektrische Fokussierung (IEF) wird in der Liquordiagnostik zum Nachweis einer intrathekalen IgG-Synthese verwendet. Die IEF beruht auf dem Prinzip einer Trennung nach dem isoelektrischen Punkt. Dazu wird im elektrischen Feld ein pH-Gradient erzeugt. Eine Trennung kann ausschließlich mit amphoteren Substanzen wie Peptiden oder Proteinen erfolgen. Benutzt wurden dazu selbstgegossene Agarosegele, in denen sich durch Zumischen von Polyelektrolyten im elektrischen Feld ein pH-Gradient bildet. Aufgetragene Proteinmoleküle wandern aufgrund ihrer Gesamtnettoladung am Auftragspunkt des Trenngels in Richtung Anode oder Kathode, bis sie im pH-Gradienten zu dem pH-Wert kommen, bei dem ihre Gesamtnettoladung +/- 0 ist. Dieser pH-Wert entspricht dann ihrem ‚isoelektrischen Punkt‘. Lassen sie sich durch Diffusion von dieser Stelle entfernen, wandern sie in dem elektrischen Feld zurück zu dem Punkt, an dem alle Ladungen ausgeglichen sind. Dadurch ergibt sich ein Konzentrierungs- und Fokussierungseffekt (Wildemann et al. 2006).

2.3.4.a Isoelektrische Fokussierung-Testverfahren

Gießen der Gele: Die Gel-Bond-Folie der Firma Lonza wurde auf einer gleich großen angefeuchteten Glasplatte mit Hilfe eines Fotorollenquetschers luftblasenfrei aufgewalzt. Die

Material und Methoden

Gießrahmen wurden bei 60 °C mit Föhn vorgewärmt und die ganze Gießplatte wurde bei 60-65 °C erwärmt. Anschließend wurde die Platte bei 4 °C in feuchter Kammer aufbewahrt (verwendbar erst nach 24 Stunden).

Probenvorbereitung: Die Liquor-, Serum- und Kontrollproben wurden mit 0,9 % NaCl-Lösung verdünnt, sodass alle eine Konzentration von 35 mg/L IgG hatten. Bei niedrigeren Konzentrationen (< 35 mg/L) wurden die Liquorproben mit Zentrifugalfiltern Centricon 50 (Amicon Nr. 4209) in der Labofuge 200 (30 Minuten bei 5000 U/min, Thermo Scientific™ Heraeus) entsprechend konzentriert.

Fokussierung: Die Kühlplatte der Elektrophoresekammer (HPE BlueHorizon der Firma Serva) wurde auf 10 °C vorgekühlt. Die feuchte Geloberfläche wurde vorsichtig mit einem Feinfilter (Macherey-Nagel MN 713) abgetrocknet. Um einen guten Kontakt zur Kühlplatte zu gewährleisten, wurden einige ml Petroleumbenzin auf die Kühlplatte aufgebracht und das Gel wurde luftblasenfrei aufgelegt (Gelrand rechts an Rasterposition 14). Das Proben-Auftragsband wurde bei der Position 11 im Raster gerade aufgelegt und die mit Elektrodenlösung getränkten Elektrodenstrips an die Ränder des Geles gebracht (links: Kathodenflüssigkeit 1 molare NaOH, rechts: Anodenflüssigkeit 0,05 molare H₂SO₄). Damit die Elektrodenstrips während der Fokussierung trocken gehalten werden, wurde ein Soakpapier rechts und links an die Strips angelegt. Die Patientenproben (Liquor/Serum-Paare), die internen Kontrollen (eine oligoklonal positive und eine oligoklonal negative Liquorprobe) und die Hb-Kontrollen (Farbkontrolle für den Lauf) je 7 µl wurden in die Vertiefungen des Auftragsbandes pipettiert. Die Fokussierungsdauer betrug 105 Minuten bei 10 °C und einer Spannung 1500 V bei einer Leistung von 150 mA und 10 W.

Blot (= Übertragung von großen Molekülen auf die Oberfläche einer Zielmembran): Nach der Fokussierung wurde das Gel auf eine Glasplatte gelegt und die Elektrodenstrips entfernt. Ein kurzer Präblot wurde mit einer trockenen NC-Folie durchgeführt. Dazu wurde diese Folie am Auftragsband aufgelegt und nach 5 Sekunden verworfen. Durch das Auflegen einer neuen trockenen NC-Folie auf das Gel erfolgte der Kontaktblot. Dazu wurden auf die Blotfolie zusätzlich 1 Feinfilterpapier, 3 Grobfilterpapiere und eine Glasplatte aufgelegt und mit 1 Kilogramm Gewicht beschwert. Nach 30 Minuten wurde die NC-Folie vom Gel entfernt und in eine Glasschale mit Blockierreagenz A (2 g von Magermilchpuffer in 100 ml 0,9 % NaCl) gelegt. Die NC-Folie wurde in dieser Lösung über 30 Minuten in Bewegung auf einem Taumler GFL 3011 gewaschen. Es folgte das kurze Waschen (x 3) in H₂O und das Waschen über 5 Minuten in 0,9 % NaCl. Der Detektionsantikörperschritt erfolgte, indem die NC-Folie

Material und Methoden

mit 50 ml Blockierreagenz B (5 ml Blockierreagenz A + 45 ml 0,9 % NaCl) und 200 µl Anti-human IgG Peroxidase-Konjugat (DAKO Nr. PO 214) über 30 Minuten in Bewegung inkubiert wurde. Es folgte erneut ein kurzes Waschen (x 3) in H₂O, ein Waschen über 5 Minuten in 0,9 % NaCl und anschließend ein Waschen in H₂O. Die Färbelösung bestand aus 40 ml Natriumacetat-Puffer (0,05 molar, pH 5,1, Firma Merck Nr. 106267), 50 µl H₂O₂ und 10 ml 3-Amino-9-ethylcarbazol-Lösung (25 mg in 10 ml Methanol, Firma Merck Nr. 1.07298). Die Blotfolie wurde mit dieser Färbelösung über 20 Minuten inkubiert und wurde dann mit H₂O (1 Minute) gestoppt. Das Trocknen der NC-Folie erfolgte mit einem Föhn. Die Folien wurden in Polypropylen-Flachbeuteln aufbewahrt.

2.3.4.b Isoelektrische Fokussierung-Interpretation

Nach internationalem Konsensus erfolgt die Klassifikation in folgende 5 Typen (Andersson et al. 1994):

„Typ 1: keine Banden im Liquor oder Serum; Interpretation: Normalbefund.

Typ 2: oligoklonale IgG-Banden (OKB) im Liquor, nicht im Serum; Interpretation: intrathekale IgG-Synthese.

Typ 3: oligoklonale IgG-Banden im Liquor (wie Typ 2) und zusätzlich identische oligoklonale Banden im Serum und Liquor (wie Typ 4); Interpretation: intrathekale IgG-Synthese und zusätzliche systemische Immunantwort.

Typ 4: Identisches Muster von OKB in CSF und Serum; Interpretation: keine intrathekale IgG-Synthese, Hinweis auf eine systemische Immunantwort.

Typ 5: Monoklonales Bandenmuster in CSF und Serum; Interpretation: systemische Paraproteinämie.“

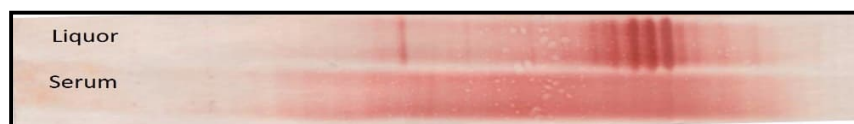


Abb. 4: Oligoklonale Banden vom Typ 2 eines Patienten mit akuter Neuroborreliose

Die Bestimmung der OKB ist eine hochempfindliche qualitative Nachweismethode für eine intrathekale Gesamt IgG-Synthese. Ein Anteil von 2 % lokaler IgG-Produktion bezogen auf die aus dem Serum stammende IgG Fraktion genügt, um in der isoelektrischen Fokussierung den Nachweis oligoklonaler Banden zu ergeben.

2.4 Bestimmung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion und der IgG-/IgA-/IgM-Quotienten

Die Blut-Hirn-Schranke ist eine morphologisch definierte Struktur und dient zum kontrollierten Substanztransport zwischen Blut und ZNS. Sie besteht aus dem Endothel der Kapillaren zusammen mit der Basalmembran und den perivaskulären Astrozyten. Durch die *Tight Junctions* wird zwar an mehreren Stellen eine parazelluläre Barriere gebildet, die Hirnkapillaren sind jedoch an anderen Stellen offen (Wildemann et al. 2006).

Die Bestimmung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion ist ein relevanter Parameter der Liquoranalytik. Sie wird hergeleitet aus dem Verhältnis der Proteinkonzentrationen in Liquor und venösem Blut. Der Konzentrationsquotient eines Proteins zwischen Liquor und Blut wird bestimmt durch:

- die Liquorflussgeschwindigkeit und
- die Diffusion, die von der Molekülgröße (hydrodynamischen Radius) und der Lipophilie des Moleküls abhängt (Wildemann et al. 2006). Grundsätzlich gilt: je größer der hydrodynamische Radius, desto steiler der Gradient zum Liquorraum.

Albumin wird in der Leber und nicht im Gehirn produziert und gilt somit als geeigneter Parameter, um die Passage eines Proteins vom Blut in den Liquor zu beurteilen. Letztendlich hat sich der Liquor/Serum-Albuminquotient, also der Quotient aus Albumin im Liquor, Alb (CSF), zu Albumin im Serum, Alb (Ser), als das Beurteilungsmaß für die Blut-Liquor-Schrankenfunktion bewährt (Wildemann et al. 2006).

$$Q_{\text{Alb}} = \text{Alb (CSF)} / \text{Alb (Ser)}$$

Die Referenzbereiche des Albuminquotienten sind altersabhängig. Für Menschen ab einem Alter > 5 Jahre wird folgende Formel angewendet (Trendelenburg 1994):

$$Q_{\text{Alb}} = (4 + \text{Alter}/15) \times 10^{-3}$$

Tab. 5: Referenzbereiche des Albuminquotienten für Kinder unter 5 Jahren (Wildemann et al. 2006)

Alter	Geburt	1 Monat	2 Monate	3 Monate	4 Monate bis 5 Jahre
$Q_{\text{Alb}} \times 10^{-3}$	8-28	5-15	3-10	2-5	0,5-4,0

Material und Methoden

Die Bestimmung des Albumins und der Immunglobuline IgG, IgA und IgM erfolgt routinemäßig im Neurochemischen Labor der UMG. Für die Bestimmung der entsprechenden Quotienten (Q_{Alb} , Q_{IgG} , Q_{IgA} , Q_{IgM}) wird zusätzlich das zeitnah abgenommene Serum benötigt. Der Immage 800 (Beckman Coulter) erlaubt eine vollautomatische, quantitative Bestimmung von Proteinen mittels Nephelometrie. Indem die Liquor/Serum-Konzentrationsquotienten ($Q_{\text{IgG}}/Q_{\text{IgA}}/Q_{\text{IgM}}$) auf den Albumin-Quotienten als Beurteilungsmaß der Schrankenfunktion bezogen werden, ergibt sich die Möglichkeit, den Anteil einer intrathekalen Proteinproduktion neben dem Anteil einer blutstammenden Proteinfraction im Liquor zu erkennen.

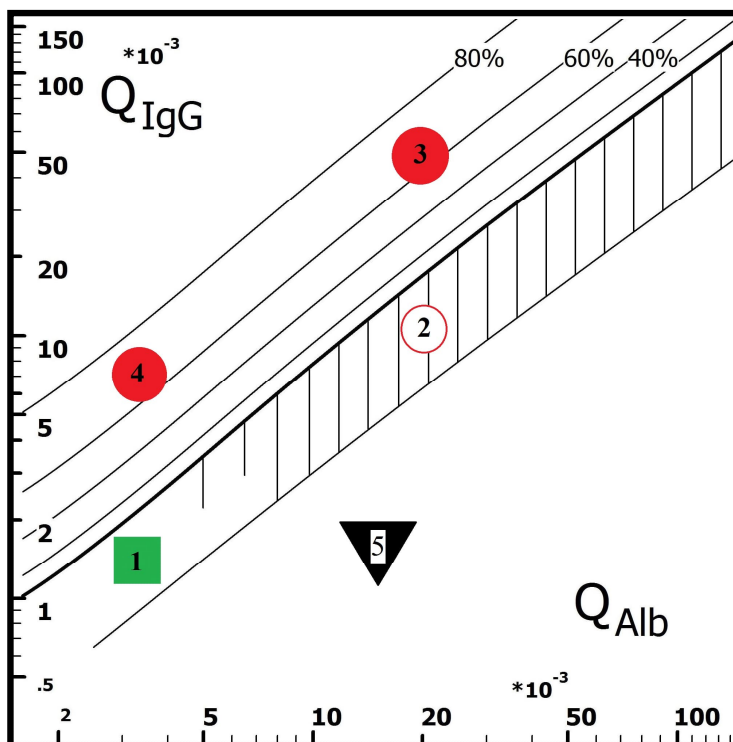


Abb. 5: Liquor/Serum-Quotientendiagramm (als Beispiel IgG) nach Reiber (Reiber 1994)

Die Abb. 5 beschreibt fünf Bereiche: 1) Normalbereich, 2) Störung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion, 3) intrathekale IgG-Synthese mit einer Schrankenfunktionsstörung, 4) intrathekale IgG-Synthese ohne Schrankenfunktionsstörung und 5) nicht plausible Lage des Quotienten im Diagramm (präanalytischer oder analytischer Fehler).

2.5 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung sowie die graphische Darstellung der Daten erfolgte unter Anwendung der Software *GraphPad Prism* 8.4.2. Die Verteilung der Daten wurde durch die visuelle Beurteilung von Quantil-Quantil-Diagrammen sowie durch die Anwendung des *Shapiro-Wilk-Tests* für Normalverteilungen geprüft. Für kategoriale Gruppenvergleiche

Material und Methoden

wurde der Chi-Quadrat-Test bzw. der Exakte Fisher-Test verwendet. Quantitative Gruppenvergleiche wurden folgend mit dem nicht-parametrischen *Mann-Whitney-U-Test* (Vergleich von zwei Gruppen) bzw. dem nicht-parametrischen *Kruskal-Wallis-Test* (Vergleich von mehreren Gruppen und ggf. mit zusätzlicher Korrektur über *Post-hoc-Dunn's-Test*) getestet. Gepaarte Stichproben wurden mit dem *Wilcoxon matched-pairs signed rank test* untersucht und für den gepaarten Vergleich mehrerer Kategorien wurde das *Mixed Effects Model* angewandt. Zusammenhänge zwischen zwei Variablen wurden mit der Spearman-Korrelation geprüft. Das Signifikanzniveau wurde für alle Analysen mit $p = 0,05$ festgelegt.

3 Ergebnisse

Für die vorliegende Arbeit wurden die Daten von 72 Patienten ausgewertet, die von Juli 2014 bis August 2019 mit den Diagnosen einer liquoranalytisch gesicherten oder wahrscheinlichen Neuroborreliose in den Kliniken für Neurologie und Pädiatrie der Universitätsmedizin Göttingen diagnostiziert und / oder behandelt wurden. Acht Patienten davon waren Kinder. Die 64 erwachsenen Patienten wurden bei Bedarf bzw. bei residueller Symptomatik nach der akuten Behandlung in der Neuroborreliose-Ambulanz der UMG weiterbetreut. Bei einigen, die nach der Therapie in die Ambulanz aus persönlichen Gründen nicht kommen konnten, erfolgte ein telefonischer Kontakt. Die Patienten bzw. die Eltern der Kinder willigten schriftlich ein, dass ihre klinischen Daten sowie Blut- und Liquorreste in pseudonymisierter Form für wissenschaftliche Zwecke verwendet werden durften. Ein unvollständiger Einschluss der in diesem Zeitraum in der UMG behandelten Kinder mit akuter Neuroborreliose ist anzunehmen, zum einen aufgrund einer nicht vollständigen Kenntnisnahme der Studienärzte bzgl. der Diagnosestellung, zum anderen konnten nicht alle Eltern für die Einholung der Einwilligung erreicht werden.

Tab. 6: Patientenkollektiv

	Erwachsene	Kinder
Männlich	38	4
Weiblich	26	4
n	64	8

Die erwachsenen Patienten waren zum Zeitpunkt der Diagnose im Durchschnitt 55 Jahre alt, der Median (Min; Max) lag bei 58,5 (18 Jahre; 81 Jahre). Bei den Kindern lag das durchschnittliche Alter bei 7,1 Jahren und der Median (Min, Max) bei 6 (5 Jahre; 13 Jahre).

Tab. 7: Zeckenstich und Erythema migrans

	Zeckenstich erinnerlich	Erythema migrans
Ja	21	16
nein bzw. nicht erinnerlich	51	56

Von den Patienten aus der Universitätsmedizin Göttingen konnten sich nur 29,2 % an einen Zeckenstich und nur 22,2 % an ein Erythema migrans erinnern. Von den 72 Patienten hatten

Ergebnisse

38 (52,7 %) mindestens einen Arztkontakt, bevor sie in die Neurologische Klinik der UMG kamen. In den meisten Fällen war die Kontaktperson der Hausarzt bzw. der Pädiater; mindestens 12 Patienten (16,7 %) hatten aufgrund radikulärer Schmerzen einen Orthopäden oder Neurochirurgen aufgesucht. Diese multiplen Arztvorstellungen führten zu einer Verzögerung der Diagnosestellung.

3.1 Borrelien-Serologie und Borrelien-PCR im Liquor

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung wurde die Borrelien-Serologie bei 68 Patienten (94,4 %) bestimmt. Von diesen zeigten 61 Patienten (89,7 %) eine positive Borrelien-Serologie für IgG im ELISA, in der Bestätigungsreaktion mittels Immunoblot ergab sich bei 11 dieser Patienten ein negatives Blotergebnis, bei 20 Patienten war der Befund grenzwertig im Immunoblot. Sieben Patienten hatten bei der Erstuntersuchung in der UMG einen negativen Test für Borrelien-IgG im ELISA. Im Hinblick auf die IgM-Antikörper (IgM-Ak) im ELISA fand sich bei 44 Patienten (64,7 %) ein positives Ergebnis im ELISA für IgM-Ak, in der Bestätigungsreaktion mittels Immunoblot ergaben sich bei 23 davon negative und bei 7 Patienten davon nur grenzwertige Befunde im Immunoblot. Vier der Patienten hatten weder Borrelien-IgG-Ak noch Borrelien-IgM-Ak in der Serologie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Bei zwei von diesen vier Patienten blieb die Serologie auch bei dem weiteren Beobachtungsverlauf (mehrere Wochen bis 10 Monate nach der Diagnose) negativ. Bei einem Patienten gab es jedoch 17 Tage nach der Erstuntersuchung eine Serokonversion. Der vierte Patient wurde serologisch nicht nachuntersucht. Trotz der negativen Serologie wurden diese Patienten bei typischer für Neuroborreliose Symptomatik, Pleozytose, Schrankenfunktionsstörung, positivem Borrelien-Antikörper-Index, hohem CXCL13-Wert und deutlich positivem Ansprechen auf die antibiotische Therapie als gesicherte Neuroborreliose klassifiziert. Bei frühem Stadium kann die Borrelien-Serologie bei einigen Fällen noch negativ sein (Fingerle et al. 2017) und der rechtzeitige Beginn der antibiotischen Therapie kann die Entwicklung einer Antikörperantwort unterdrücken. Der Mittelwert des positiven oder grenzwertigen Ergebnisses für ELISA-IgM lag bei 22.7 VE und für ELISA-IgG lag bei 36.9 VE bei den Patienten dieser Studie.

Die Borrelien-PCR im Liquor wurde nur bei 16 Patienten durchgeführt (22,2 %), in keinem der Fälle gelang der Nukleinsäurenachweis.

3.2 Liquorparameter

Wie im Kapitel 1.4 beschrieben, wurde die Neuroborreliose laut den Leitlinien der DGN (Leitlinie Neuroborreliose 2018) als ‚möglich‘, ‚wahrscheinlich‘ und ‚gesichert‘ klassifiziert. Für die ‚mögliche Neuroborreliose‘ ist ein typisches klinisches Bild, eine positive Borrelien-Serologie (mit der Vermerkung, dass in sehr frühen Stadien die Serologie noch negativ sein kann) und die Abgrenzung anderer Ursachen erforderlich. Bei der ‚möglichen Neuroborreliose‘ liegt keine LP vor. Für die Diagnose der ‚wahrscheinlichen Neuroborreliose‘ wird zusätzlich zu den Voraussetzungen für die ‚mögliche Neuroborreliose‘ ein entzündliches Liquorsyndrom mit lymphozytärer Pleozytose, Schrankenfunktionsstörung und intrathekaler Immunglobulinsynthese benötigt. Als ‚gesicherte Neuroborreliose‘ werden diese Fälle eingestuft, die die Kriterien für die ‚wahrscheinliche Neuroborreliose‘ erfüllen und zusätzlich eine intrathekale Synthese Borrelien-spezifischer Antikörper oder eine positive Borrelien-Kultur oder positive Borrelien-PCR im Liquor nachweisen.

Bei der aktuellen Arbeit wurden als ‚gesicherte Neuroborreliose‘ alle Patienten mit passender Klinik, Pleozytose, intrathekaler Immunglobulinsynthese und intrathekaler Synthese Borrelien-spezifischer Antikörper nach gründlichem Ausschluss anderer Ursachen eingestuft, auch wenn diese keine Schrankenfunktionsstörung hatten. Zusätzlich wurden als ‚gesicherte Neuroborreliose‘ auch die vier Patienten mit der negativen Borrelien-Serologie (bei einem kam es später zu einer Serokonversion) bezeichnet, da sie alle anderen Voraussetzungen für die ‚gesicherte Neuroborreliose‘ erfüllten. Die negative Borrelien-Serologie wurde, wie in den DGN-Leitlinien explizit beschrieben, im Rahmen des frühen Krankheitsstadiums bewertet. Des Weiteren wurden als ‚wahrscheinliche Neuroborreliose‘ alle Patienten mit passender Klinik, positiver Borrelien-Serologie, entzündlichem Liquorsyndrom bzw. intrathekaler Immunglobulinsynthese und positiven Borrelien-AI-Werten klassifiziert, die keine Pleozytose hatten. Die Diagnose der ‚wahrscheinlichen oder gesicherten Neuroborreliose‘ wurde zusätzlich durch das positive Ansprechen auf die Therapie unterstützt.

Gemäß den modifizierten DGN-Leitlinien hatten von den 64 erwachsenen Patienten der Studie drei davon eine wahrscheinliche Neuroborreliose, alle anderen hatten eine gesicherte Neuroborreliose. Alle Kinder hatten eine gesicherte Neuroborreliose. Die drei Fälle mit wahrscheinlicher Neuroborreliose werden separat beschrieben.

Tab. 8: Zellzahl im Liquor

Neuroborreliose (n = 72)	Zellzahl/ μ l im Liquor, Median (Min; Max)	
	Kinder (n = 8)	Erwachsene (n = 64)
wahrscheinliche (n = 3)	-	1 (0; 1)
gesicherte (n = 69)	156 (17; 533)	129 (6; 680)

Zwischen der Zellzahl im Liquor der Kinder und der Zellzahl der Erwachsenen mit gesicherter Neuroborreliose konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,528$).

Die drei Patienten mit der Diagnose ‚wahrscheinliche Neuroborreliose‘ waren Männer mit einem Durchschnittsalter von 46,3 Jahren (26; 60 Jahre alt). Alle drei Patienten hatten eine positive Borrelien-Serologie (IgG) und polyradikulitische Symptome, die sich subakut entwickelt hatten. Keiner dieser Patienten hatte eine Zellzahlerhöhung (siehe Tabelle 8), bei allen lagen das Laktat und das Gesamteiweiß im Normbereich. Eine Schrankenfunktionsstörung wurde nicht festgestellt. Alle drei hatten erhöhte Borrelien-Antikörper-Index-Werte für IgG und zwei Patienten hatten zusätzlich eine lokale IgM-Synthese im Quotientendiagramm nach Reiber-Felgenhauer sowie positive oligoklonale IgG-Banden im Liquor vom Typ 2. Eine ausführliche Abklärung der radikulären Symptome erfolgte in unserer Klinik und es fanden sich keine anderen Ursachen. Die Diagnose der ‚wahrscheinlichen Neuroborreliose‘ wurde durch die rasche und deutliche Besserung der Symptomatik nach Einleitung einer antibiotischen Therapie (entweder 14 Tage Ceftriaxon iv oder 21 Tage Doxycyclin oral) unterstützt.

Im weiteren Verlauf dieser Darstellung der ‚Ergebnisse‘ werden sich alle Werte und Abbildungen nur auf die Patienten mit der Diagnose ‚gesicherte Neuroborreliose‘ beziehen (Gesamtzahl: 69 Patienten; acht Kinder und 61 Erwachsene).

Tab. 9: Positive Borrelien-AI-Werte ($AI > 1,5$) zum Zeitpunkt der ersten Lumbalpunktion bei Kindern und Erwachsenen mit gesicherter Neuroborreliose

	Borrelien-AI (IgM)	Borrelien-AI (IgG)
Kinder (n = 8)	8	8
Erwachsene (n = 61)	33	56

Ergebnisse

Aus der Tabelle 8 wird ersichtlich, dass der Median der Zellzahl im Liquor bei erwachsenen Patienten mit gesicherter Neuroborreliose bei 129 Zellen/ μl und bei den Kindern bei 156 Zellen/ μl lag. Bei allen Kindern fanden sich sowohl positive Borrelien-IgM- als auch positive Borrelien-IgG-AI-Werte. Die Erwachsenen hatten zu 54,1 % einen positiven Borrelien-IgM-AI und zu 91,8 % einen positiven Borrelien-IgG-AI. Von den erwachsenen Patienten zeigten 31 (50,8 %) sowohl positive Borrelien-IgM- als auch positive Borrelien-IgG-AI-Werte. Drei der erwachsenen Patienten hatten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung noch keinen erhöhten Borrelien-Antikörperindex. Zwei davon wurden erneut lumbal punktiert. In der zweiten Lumbalpunktion entwickelte einer einen positiven Borrelien-AI-IgG und ein anderer einen positiven Borrelien-IgG und -IgM-AI. Der dritte Patient wurde bei typischer für Neuroborreliose klinischer Symptomatik (periphere Fazialisparese) mit positiver Borrelien-Serologie, Pleozytose, deutlich erhöhtem CXCL13-Wert und vor allem raschem und gutem Ansprechen auf die antibiotische Therapie nicht erneut lumbal punktiert. Ein AI-Wert ist keine Konzentrationsangabe, sondern spiegelt nur das Verhältnis Liquor/Serum wider, deshalb kann die absolute Höhe eines positiven AI-Wertes für die klinische Beurteilung nicht gewertet werden. Auf die Beschreibung der genauen Werte wurde hier deshalb verzichtet.

Tab. 10: Schrankenfunktionsstörung, Q_{Aib} , Gesamteiweiß (GEW), Laktat im Liquor und oligoklonales IgG bei Kindern und Erwachsenen [Angabe von Median (Min; Max)]

		Kinder (n = 8)	Erwachsene (n = 61)
Schrankenfunktionsstörung*		5 (= 62,5 %)	52 (= 85,2 %)
Q_{Aib} (Median) $\times 10^3$		11,1 (2,8; 30,6)	16,8 (4,2; 62,2)
GEW (Median) in mg/L		768 (248; 1729)	1037 (309; 3672)
Erhöhtes Laktat im Liquor**		4 (= 50 %)	10 (= 16,4 %)
Laktat (Median) in mmol/L		1,9 (1,2; 3,6)	2,1 (1,2; 3,6)
Oligoklonales IgG	Typ 1	4	16
	Typ 2	3	38
	Typ 3	0	7
	nicht bestimmt	1	0

* Schrankenfunktionsstörung, wie im Kapitel 2.4 beschrieben

Ergebnisse

** Erhöhtes Laktat, wie in der Tabelle 4 beschrieben

Ein erhöhtes Laktat kam bei Kindern häufiger als bei Erwachsenen vor (Chi-Quadrat-Test, statistisch signifikanter Unterschied bei $p = 0,026$). Andererseits war eine Schrankenfunktionsstörung häufiger bei Erwachsenen anzutreffen, als bei den Kindern (jedoch nicht statistisch signifikant, Chi-Quadrat-Test, $p = 0,111$). Das könnte jedoch mit anderen Erkrankungen bei älteren Leuten, wie z. B. degenerative Erkrankungen der Wirbelsäule, zusammenhängen und nicht unbedingt mit der aktuellen Neuroinfektion. Diese Komorbidität ist häufiger bei Erwachsenen als bei Kindern. Das Gesamteiweiß lag im Median niedriger bei den Kindern als bei den Erwachsenen (nicht statistisch signifikant, *Mann-Whitney-U-Test*, $p = 0,079$).

Der Nachweis von oligoklonalen Banden (OKB) erfolgte wie im Kapitel 2.3.4 beschrieben. Als positive OKB (im Sinner einer intrathekalen IgG-Synthese) wurden der Typ 2 und 3 definiert. Insgesamt ließen sich bei 73,8 % der erwachsenen Patienten positive OKB im Liquor nachweisen, im Vergleich dazu nur bei 37,5 % der Kinder (statistisch signifikanter Unterschied, Chi-Quadrat-Test, $p = 0,036$).

Des Weiteren wurde bei den meisten dieser Patienten die Körpertemperatur und das C-reaktive Protein (CRP) zum Zeitpunkt der Erstvorstellung bzw. zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bestimmt. Der CRP-Wert (Normalwert: $\text{CRP} < 5 \text{ mg/l}$) war bei 14 Patienten (13 Erwachsene, ein Kind) erhöht, der höchste dokumentierte CRP-Wert lag bei 26,4 mg/l. Eine erhöhte Körpertemperatur ($T > 38,0 \text{ }^\circ\text{C}$) hatten nur zwei Patienten (ein Erwachsener, ein Kind).

Tab. 11: Lokale Immunglobulin-Synthese im Liquor ermittelt anhand der Reiber-Felgenhauer-Quotientendiagramme bei Kindern und Erwachsenen mit gesicherter Neuroborreliose

		Kinder (n = 8)	Erwachsene (n = 61)
Lokale Synthese im Liquor im Reiber/Felgen- hauer- Diagramm	Keine lokale Synthese	2	14
	Isolierte lokale IgG-Synthese	0	0
	Isolierte lokale IgA-Synthese	0	0
	Isolierte lokale IgM-Synthese	3	21
	IgG- u. IgM- u. IgA-Synthese	1	9
	Lokale IgA- und IgM-Synthese	2	4
	Lokale IgG- und IgA-Synthese	0	2
	Lokale IgG- und IgM-Synthese	0	11

Diese Ergebnisse zeigen, dass die isolierte lokale IgM-Synthese sowohl unter den Kindern als auch unter den Erwachsenen des ausgewerteten Patientenkollektivs mit gesicherter Neuroborreliose das häufigste Muster im Quotienten-Diagramm war. 25 % der Kinder und 22,9 % der erwachsenen Patienten zeigten keine lokale Synthese im Quotienten-Diagramm. 12,5 % der Kinder und 14,7 % der Erwachsenen hatten eine 3-Klassen-Reaktion im Quotienten-Diagramm. Des Weiteren ist dargestellt, wie viele Patienten eine kombinierte lokale Synthese (2-Klassen-Reaktion) aufwiesen. Es fällt anhand der Daten in der Tabelle 11 auf, dass bei den Kindern keine lokale IgG-Synthese im Reiber/Felgenhauer-Diagramm weder als 1-Klasse- noch als 2-Klassen-Reaktion zu beobachten war. Unter den Erwachsenen mit gesicherter Neuroborreliose war die häufigste Form (nach der isolierten IgM-Synthese) eine kombinierte lokale Synthese von IgG und IgM im Quotienten-Diagramm (18 %).

3.3 Symptome

Die Symptome unserer Patienten wurden in 5 Kategorien eingeteilt:

Tab. 12: Symptome der Patienten mit gesicherter Neuroborreliose

	<u>Symptome</u>				
	Polyradi- kulitis	Fazialis- parese	Meningitis	Enzephalitis bzw. Meningo- enzephalitis	Andere
Kinder (n = 8)	0	5	2	1	0
Erwachsene (n = 61)	29	12	6	7	7

Die Tabelle 12 zeigt, dass das häufigste Symptom bei den Kindern die periphere Fazialisparese war (62,5 % der untersuchten Kinder). Bei den Erwachsenen erschienen am häufigsten die Polyradikulitis und die isolierte Fazialisparese als zweithäufigstes Symptom. Fünf erwachsene Patienten hatten eine bilaterale Fazialisparese, entweder isoliert oder im Rahmen einer Polyradikuloneuritis. Zu der Kategorie ‚andere Symptome‘ gehörten die Symptome Gangunsicherheit, Schwindel, Blasenentleerungsstörung, u. a. sowie auch zwei Patienten mit Borrelien-assoziierte Vaskulitis mit zerebralen Ischämien. Neben der Parese des Nervus (N.) facialis waren auch andere Hirnnerven bei den erwachsenen Patienten betroffen, wie der N. abducens (zweithäufigste Hirnnervenparese), der N. trigeminus, der N. oculomotorius (mit Ptosis) und der N. hypoglossus.

Besonders schwierig war die Diagnosestellung bei den Patienten, die mit Verwirrtheit oder epileptischen Anfällen im Sinne einer Meningoenzephalitis oder mit den Symptomen der fünften Kategorie in die Notaufnahme kamen. Bei diesen Fällen war die Verdachtsdiagnose meistens nicht eine Neuroinfektion, sodass die Durchführung einer Lumbalpunktion und damit auch die Einleitung einer entsprechenden Therapie verzögert wurde. Insbesondere bei drei erwachsenen Patienten, die mit kognitiven Defiziten und Gangunsicherheit mit breitbasigem Gangbild vorstellig waren, wurde zuerst der Verdacht auf einen Normaldruckhydrozephalus geäußert, da die typische Symptom-Trias mit Gangstörung, Harninkontinenz und Gedächtnisstörungen bzw. Verwirrtheit vorlag. Die Zellzahlerhöhung in der Liquorpunktion kam dann überraschend.

Ergebnisse

Auch Patienten mit einer Polyradikulopathie wurden oft zunächst fehldiagnostiziert. Die häufigste Fehldiagnose war der Bandscheibenvorfall und diese Patienten wurden zuerst hierauf behandelt, so dass die Durchführung weiterer Untersuchungen sowie die Gabe von unterschiedlichen Schmerztherapeutika (u. a. von Opioiden) erfolgte, bevor eine neurologische Mitbeurteilung stattfand. Zwei Patienten wurden mit Symptomen eines Delirs erstmals psychiatrisch behandelt. Eine 52-jährige Patientin wurde über Monate mit intermittierenden wechselhaften Kopfschmerzen sowohl beim Hausarzt als auch bei einem niedergelassenen Neurologen behandelt. Fünf Monate nach Symptombeginn verursachte diese Patientin einen Autounfall. Aufgrund dieses Unfalls wurde sie in die UMG eingeliefert und ohne schwere Verletzungen zur weiteren Beobachtung stationär aufgenommen. Da sie während des stationären Aufenthaltes die Schläuche des Infusionssystems mit einer Schere durchtrennte, wurde sie für die weitere Behandlung auf eine geschützte psychiatrische Station verlegt. Dort erfolgte zum ersten Mal eine Lumbalpunktion, die einen für Neuroborreliose typischen Befund zeigte und die Ursache ihres Verhaltens und der Kopfschmerzen aufdeckte.

In der Tabelle 13 wird demonstriert, dass der höchste Zellzahl-Median bei den Erwachsenen bei Patienten mit einer Meningitis beobachtet wurde, jedoch gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Symptomkategorien (*Kruskal-Wallis-Test* mit zusätzlicher Korrektur über *Post-hoc-Dunn's-Test*, statistisch nicht signifikanter Unterschied, $p > 0,05$). Bei Laktat und GEW gab es ebenso keine statistisch signifikanten Unterschiede (*Kruskal-Wallis-Test* mit zusätzlicher Korrektur über *Post-hoc-Dunn's-Test*, $p > 0,05$).

Ergebnisse

Tab. 13: Vergleich der Liquorparameter Zellzahl, GEW und Laktat bei erwachsenen Patienten und Kindern mit gesicherter Neuroborreliose nach Symptomkategorien, Angabe von Median (Min; Max)

Parameter	Zellzahl (Zellen/ μ l)		GEW (mg/L)		Laktat (mmol/L)	
	Kinder	Erwachsene	Kinder	Erwachsene	Kinder	Erwachsene
Polyradikulitis	-	99 (8; 570)	-	1008 (402; 2481)	-	2,1 (1,2; 2,9)
Fazialisparese	138 (30; 197)	152,5 (16; 355)	704 (248; 938)	1124,5 (606; 3505)	1,8 (1,4; 2,2)	2 (1,5; 3)
Meningitis	275 (17; 533)	188 (17; 464)	749,5 (301; 1198)	806 (645; 1422)	1,8 (1,2; 2,4)	1,85 (1,4; 3,3)
Enzephalitis bzw. Meningo- enzephalitis	520	184 (8; 680)	1729	1125 (851; 3672)	3,6	2,6 (1,6; 3,3)
Andere	-	9 (6; 184)	-	511 (309; 3389)	-	1,95 (1,2; 3,6)

In den folgenden Tabellen (Tab. 14 und 15) wird dargestellt, wie häufig positive Borrelien-AI-Werte und oligoklonale Banden (Typ 2 oder 3) bei den unterschiedlichen Symptomgruppen vorkamen. Am häufigsten war der Nachweis oligoklonaler Banden vom Typ 2 (Nachweis einer intrathekalen IgG-Synthese durch Nachweis von oligoklonalem IgG im Liquor, kein Nachweis im Serum), wobei in den Kategorien ‚Polyradikulitis‘ bei fünf Patienten, ‚Fazialisparese‘ bei einem Patienten und ‚Meningoenzephalitis‘ ebenso bei einem Patienten oligoklonale Banden vom Typ 3 (Nachweis einer intrathekalen IgG-Synthese durch Nachweis oligoklonaler Banden im Liquor und zusätzlich identischer oligoklonaler Banden in Liquor und Serum) zu finden waren. Die Kinder hatten positive oligoklonale Banden nur vom Typ 2. Bei erwachsenen Patienten fand sich häufiger der Nachweis positiver oligoklonaler Banden als bei Kindern (73,8 % der Erwachsenen versus 37,5 % der Kinder, Chi-Quadrat-Test, $p = 0,036$). Zwischen den Symptomkategorien gab es bei den Erwachsenen keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich des Nachweises positiver OKB (Chi-Quadrat-Test, $p = 0,077$). Bei allen Kindern fand sich im Liquor sowohl positiver Borrelien-AI (IgM) als auch Borrelien-AI (IgG). Bei Erwachsenen fand sich häufiger positiver Borrelien-AI vom Typ IgG (91,8 %) als vom Typ IgM (54,1 %). Entsprechend der Sensitivität der laboranalytischen Verfahren ließ sich bei diesen Neuroborreliose-Patienten als Erregerbedingter Entzündung die intrathekale Immunglobulinsynthese häufiger durch den Antikörper-

Ergebnisse

Index als durch das Nachweisverfahren der Isoelektischen Fokussierung zum Nachweis oligoklonalen IgG detektieren. 50,8 % der Erwachsenen hatten im Liquor sowohl erhöhten Borrelien-AI vom Typ IgM als auch Borrelien-AI vom Typ IgG und nur zwei erwachsene Patienten (3,2 %) hatten isoliert erhöhten Borrelien-AI vom Typ IgM.

Tab. 14: Vergleich der Laborparameter ‚positive oligoklonale Banden‘, ‚positiver Borrelien-AI vom Typ IgG‘ und ‚positiver Borrelien-AI vom Typ IgM‘ zwischen erwachsenen Patienten mit unterschiedlichen Symptomen bei gesicherter Neuroborreliose

Parameter	Polyradikulitis (n = 29)	Fazialisparese (n = 12)	Meningitis (n = 6)	Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis (n = 7)	Andere (n = 7)
Positive oligoklonale Banden	20	11	2	6	6
Positiver Borrelien-AI (IgG)	27	11	4	7	7
Positiver Borrelien-AI (IgM)	14	8	4	5	2

Tab. 15: Vergleich der Laborparameter ‚positive oligoklonale Banden‘, ‚positiver Borrelien-AI vom Typ IgG‘ und ‚positiver Borrelien-AI vom Typ IgM‘ zwischen Kindern mit unterschiedlichen Symptomen bei akuter Neuroborreliose

Parameter	Fazialisparese (n = 5)	Meningitis (n = 2)	Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis (n = 1)
Positive oligoklonale Banden	1	1	1
Positiver Borrelien-AI (IgG)	5	2	1
Positiver Borrelien-AI (IgM)	5	2	1

Ergebnisse

In der folgenden Tabelle (Tab. 16) wird dargestellt, wie die lokale IgA-, IgG- bzw. IgM-Synthese im Reiber/Felgenhauer-Diagramm zu der Zellzahl im Liquor und zu den unterschiedlichen Symptomen in Beziehung steht. Eine isolierte IgG- oder IgA-Synthese im Quotientendiagramm zeigte sich bei keinem der Patienten. Der höchste Median-Wert der Zellzahl fand sich bei Erwachsenen in der Gruppe mit einer isolierten lokalen IgM-Synthese im Reiber/Felgenhauer-Diagramm. Im Quotienten-Diagramm fand sich bei den meisten Patienten mit Polyradikulitis entweder keine lokale Synthese oder eine isolierte lokale IgM-Synthese. Bei den Patienten mit Fazialisparese oder Meningitis zeigte sich am häufigsten eine isolierte IgM-Synthese. In der letzten Kategorie („Andere“) dominierte eine 2-Klassen-Reaktion im Sinne eines Nachweises einer lokalen Synthese (nachgewiesen in den Quotientendiagrammen) von 2 Ig-Klassen. In Tabelle 17 sind die entsprechenden Werte bei den Kindern dargestellt. Die geringe Zahl der Patienten erlaubte keine Subklassifizierung. Insgesamt fand sich bei 53 von 69 Patienten (76,8 %) mit gesicherter Neuroborreliose (Kinder und Erwachsene) der Nachweis einer lokalen Immunglobulinsynthese in den Quotientendiagrammen.

Tab. 16: Erwachsene mit gesicherter Neuroborreliose-Vergleich der Zellzahl und der unterschiedlichen Symptom-Kategorien mit der lokalen Synthese

	Keine lokale Synthese (n = 14)	Lokale IgM- Synthese (n = 21)	2-Klassen- Reaktion (n = 17)	3-Klassen- Reaktion (n = 9)
Zellzahl/μl, Median	25 (4; 168)	205 (16; 570)	119 (6; 680)	92 (17; 237)
Polyradikulitis (n = 29)	9	9	6	5
Fazialisparese (n = 12)	1	6	4	1
Meningitis (n = 6)	1	4	0	1
Enzephalitis bzw. Me- ningoenzephalitis (n = 7)	1	1	3	2
Andere (n = 7)	2	1	4	0

Ergebnisse

Hinweis: Als 2-Klassen-Reaktion wird entweder die lokale IgG- und IgM-Synthese oder die lokale IgG- und IgA-Synthese oder die lokale IgM- und IgA-Synthese im Quotientendiagramm bezeichnet. Für die Zellzahl wurde der Median berechnet, in Klammern werden zusätzlich die Min- und Max-Werte genannt.

Tab. 17: Kinder mit gesicherter Neuroborreliose-Vergleich der Zellzahl und der unterschiedlichen Symptom-Kategorien mit der lokalen Synthese

	Keine lokale Synthese (n = 2)	Lokale IgM- Synthese (n = 3)	2-Klassen- Reaktion (n = 2)	3-Klassen- Reaktion (n = 1)
Zellzahl/μl, Median	114 (31; 197)	30 (17; 138)	353,5 (174; 533)	520
Fazialisparese (n = 5)	2	2	1	0
Meningitis (n = 2)	0	1	1	0
Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis (n = 1)	0	0	0	1

Hinweis: Als 2-Klassen-Reaktion wird entweder die lokale IgG- und IgM-Synthese oder die lokale IgG- und IgA-Synthese oder die lokale IgM- und IgA-Synthese im Quotientendiagramm bezeichnet. Für die Zellzahl wurde der Median berechnet, in Klammern werden zusätzlich die Min- und Max-Werte genannt.

Von den erwachsenen Patienten wurden 31 nach Beginn der antibiotischen Therapie erneut diagnostisch lumbal punktiert. Die Gründe dafür waren entweder, um die Diagnose zu sichern (wenn z. B. der Borrelien-AI initial negativ war) oder, um das Ansprechen auf die Therapie zu beurteilen oder, weil einige Patienten in den ersten Tagen eine sekundäre klinische Verschlechterung gezeigt hatten. In der folgenden Grafik wird der Verlauf der Zellzahl im Laufe der antibiotischen Behandlung dargestellt. Das Intervall zwischen der ersten und der zweiten Lumbalpunktion variierte in Abhängigkeit der klinischen Situation bzw. der Indikation zur Liquoranalytik (Minimum: 3 Tage; Maximum: 132 Tage; Median: 11 Tage). Einige der Patienten wurden Monate oder Jahre danach aufgrund erneuter Symptomatik mit dem Verdacht auf eine erneute akute Neuroborreliose (in einem Fall bestätigt) oder mit dem Verdacht auf andere Diagnosen noch einmal punktiert. Diese Fälle wurden hier nicht dargestellt. Bei den meisten Patienten (n = 27) gab es eine starke Abnahme der Zellzahl bei der

Ergebnisse

zweiten Lumbalpunktion nach dem Beginn der antibiotischen Therapie. Bei vier von den unten dargestellten Patienten sah man jedoch eine höhere Zellzahl in der zweiten Lumbalpunktion im Vergleich zu der ersten. Dafür gab es unterschiedliche Gründe:

a) Bei zwei Patienten gab es im Verlauf den Nachweis von Viren, einmal von Humanem Herpesvirus 6 (HHV6) und einmal von Herpes-simplex-Virus (HSV), sodass man eine Aktivierung dieser Viren unter der akuten Neuroborreliose vermutete und die Patienten zusätzlich auch antiviral (Ganciclovir und Aciclovir entsprechend) behandelte.

b) Zwei Patienten wurden in einem kurzen Intervall erneut punktiert (10 Tage und 6 Tage nach der ersten Lumbalpunktion und während der antibiotischen Therapie). Die Interpretation des Anstieges der Zellzahl bei diesen Fällen war, dass die Entzündungsreaktion zum ersten LP-Zeitpunkt wahrscheinlich das Maximum noch nicht erreicht hatte. Eine dritte Lumbalpunktion nach dem Ende der antibiotischen Therapie erbrachte eine normale Zellzahl. Bei der Betrachtung dieser Fälle fiel auf, dass die Schrankenfunktionsstörung bei der zweiten Lumbalpunktion und auch die klinische Symptomatik zu dem Zeitpunkt der zweiten Liquordiagnostik trotz der höheren Zellzahl rückläufig waren.

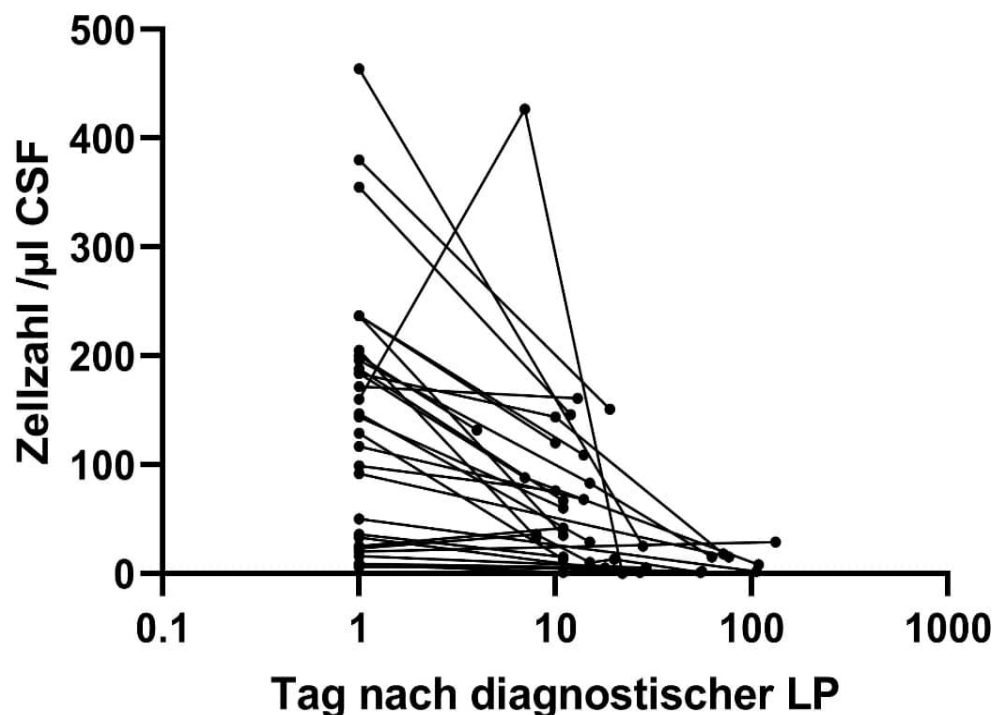


Abb. 6: Darstellung der Zellzahl im Liquor bei seriellen Lumbalpunktionen bei 31 erwachsenen Patienten in Relation zu der Zeit zwischen den verschiedenen Lumbalpunktionen

Ergebnisse

In den folgenden zwei Abbildungen sieht man, wie sich die Werte von Laktat und Gesamteiweiß von 31 Patienten in seriellen Lumbalpunktionen entwickelten.

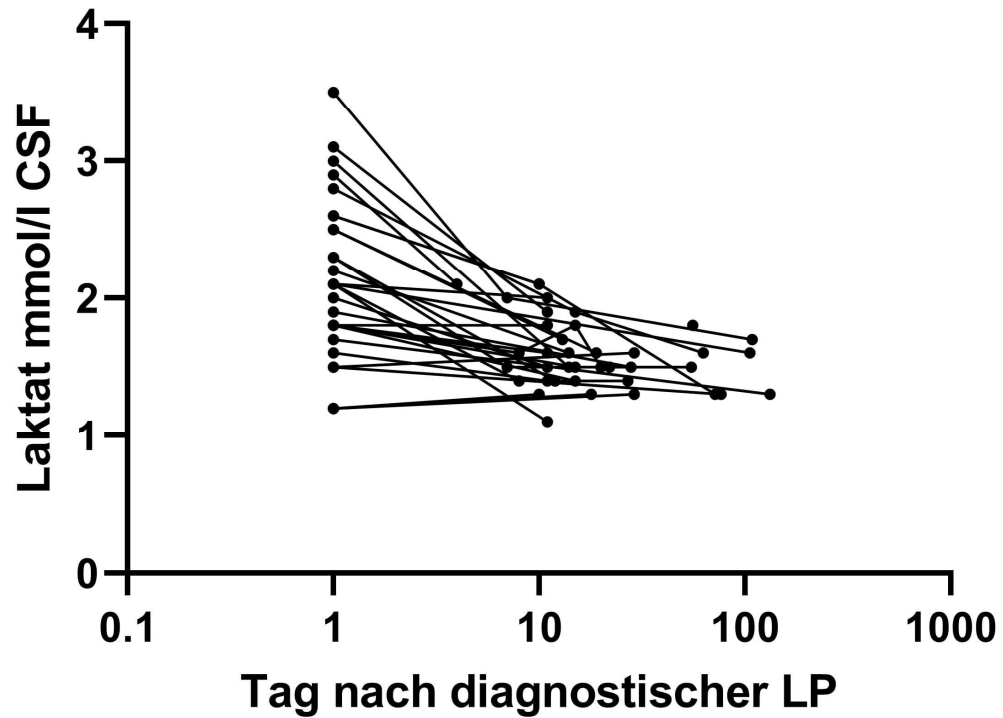


Abb. 7: Darstellung des Laktats im Liquor bei seriellen Lumbalpunktionen bei 31 erwachsenen Patienten

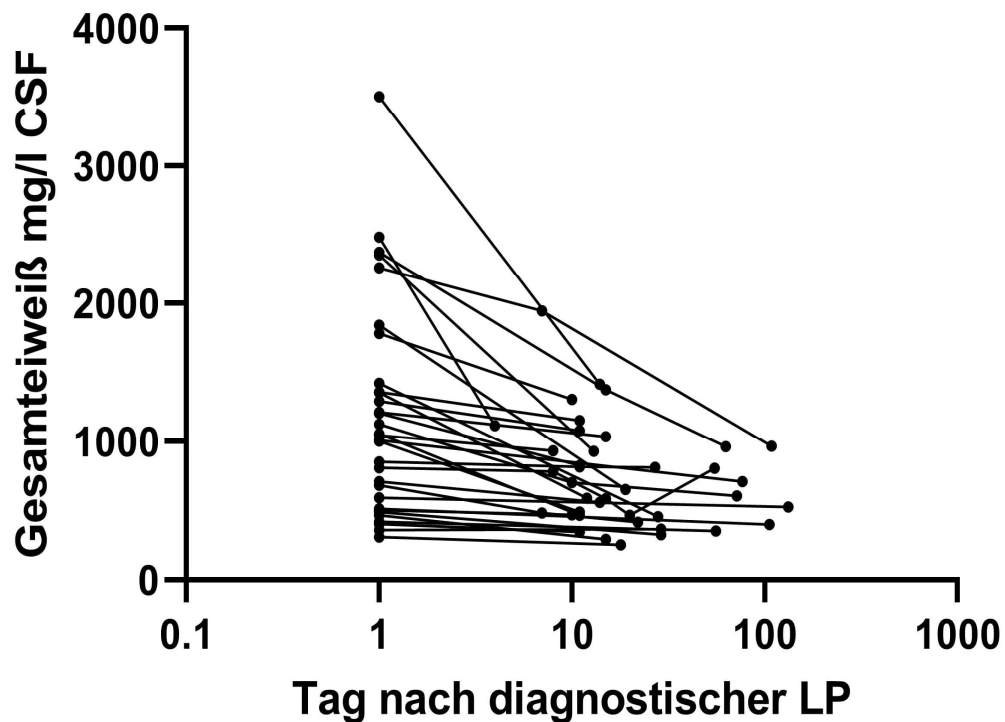


Abb. 8: Darstellung des Gesamteiweißes im Liquor bei seriellen Lumbalpunktionen bei 31 erwachsenen Patienten

3.4 Verlauf der akuten Neuroborreliose

Alle erwachsenen Patienten wurden 14 oder 21 Tage mit Ceftriaxon 2 g/Tag intravenös (iv) und alle Kinder mit Cefotaxim iv (gewichtadaptierte Dosis) über 14 Tage behandelt. Alle Patienten wiesen unter der Therapie eine Besserung der Symptome auf. 40 Patienten hatten eine komplette Rückbildung der Symptomatik. Bei 32 Patienten ergab die neurologische Verlaufsuntersuchung innerhalb von 6 Monaten milde residuelle Symptome. Diese Residualsymptomatik bestand vor allem in Form von Fatigue-Syndrom, chronischen Schmerzen, Dysästhesien, leichtgradigen Gedächtnisstörungen oder leichter Gangunsicherheit. Alle Patienten der Kategorie ‚Andere‘ hatten milde Residualsymptome im Gegensatz zu der Kategorie ‚Meningitis‘, in welcher alle Patienten eine komplette Rückbildung ihrer Symptome angaben. 37,5 % der Patienten mit Polyradikulitis, 88,2 % der Patienten mit Fazialisparese und 62,5 % der Patienten der Kategorie ‚Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis‘ gaben innerhalb der ersten 6 Monate nach der Diagnosestellung und der Therapie eine komplette Rückbildung ihrer Symptome an. Eine Patientin hatte innerhalb von zwei Jahren zweimal eine akute Neuroborreliose erlitten. Die Symptomatik war ähnlich bei beiden Fällen (Polyradikulitis) und laut den Angaben der Patientin war beim ersten Mal die Symptomatik unter ausreichender antibiotischer Therapie größtenteils rückläufig.

3.5 CXCL13

Erhöhte CXCL13-Werte findet man entsprechend den Literaturangaben bei akuter Neuroborreliose und daher wird die Erhöhung von CXCL13 als Parameter für die Beurteilung des Verlaufs einer akuten Neuroborreliose verwendet. Auch wenn die Bestimmung von CXCL13 bisher keine in den Leitlinien empfohlene Labordiagnostik darstellt, wird es verbreitet als vielversprechender Parameter für das Ansprechen auf eine antibiotische Therapie eingeschätzt. In unserer Kohorte wurde CXCL13 bei 49 der oben genannten Patienten (Erwachsene und Kinder mit gesicherter Neuroborreliose) bestimmt. Die Liquorproben der anderen Patienten wurden mit dieser Methode aus technischen Gründen nicht getestet (z. B. zu wenig Material). Der CXCL13-Wert variierte stark: von 19 pg/ml bis 71909,5 pg/ml. Der CXCL13 bei nicht antibiotisch vorbehandelten Patienten lag im Mittelwert bei 5586,2 pg/ml, im Median bei 1593 pg/ml. In Übereinstimmung mit anderen Studien ergaben sich in unseren Messungen bei akuter Neuroborreliose CXCL13-Werte, die oft höher als die vom Hersteller angegebenen 100 pg/ml lagen (van Burgel et al. 2011).

Des Weiteren wurde die Relation der Zellzahl zu dem entsprechenden CXCL13 dargestellt.

Tab. 18: Relation der Zellzahl mit dem CXCL13-Wert (Es wurden der Median-Wert sowie auch die Min- und Max-Werte bei jeder Kategorie berechnet.)

Zellzahl	CXCL13 (Median-Wert)
Zellzahl $\leq 100/\mu\text{l}$ (n = 21)	527,7 (19; 15968,8)
$100/\mu\text{l} < \text{Zellzahl} \leq 200/\mu\text{l}$ (n = 14)	2718,7 (75,6; 19135)
Zellzahl $> 200/\mu\text{l}$ (n = 14)	6360,55 (37,7; 71909,5)

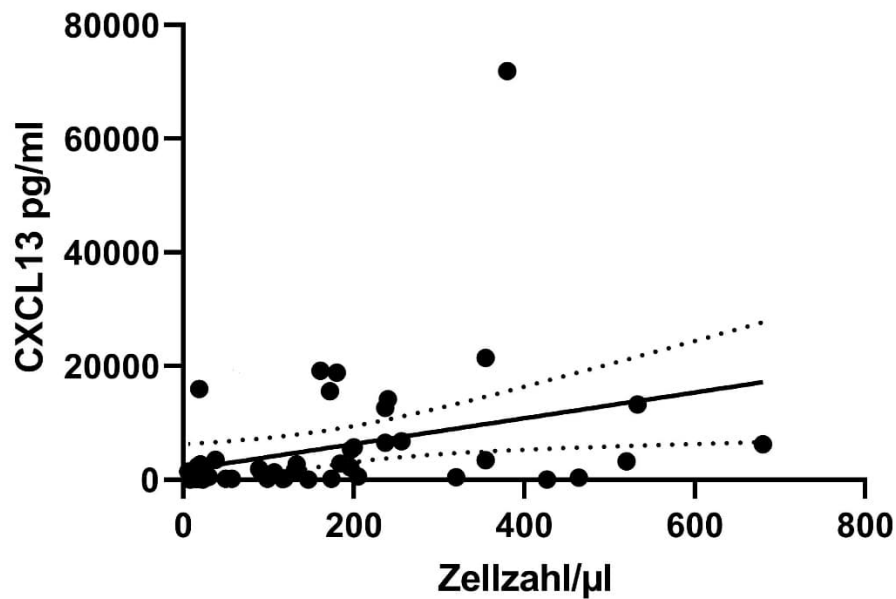


Abb. 9: Relation der Zellzahl mit der Liquorkonzentration von CXCL13-Wert

In der Abbildung 9 wird eine Korrelation aus Höhe der Zellzahl und Höhe des CXCL13-Wertes deutlich (Spearman-Korrelation, $p = 0,0026$, $R = 0,43$). Es fanden sich jedoch Ausnahmen: Zum Beispiel hatte ein Patient eine grenzwertig erhöhte Zellzahl (6 Zellen/ μl), aber einen deutlich erhöhten CXCL13-Wert von 1404 pg/ml, was Einfluss auf die Diagnosestellung hatte. Auf der anderen Seite zeigte eine Patientin typische Symptome einer Meningitis mit deutlich erhöhter Zellzahl von 160/ μl , einen erhöhten Borrelien-AI aber einen CXCL13-Wert von weniger als 15 pg/ml. Interessanterweise fand sich bei dieser Patientin in der zweiten Liquoranalytik, die nach einem 6-Tage-Intervall erfolgte, ein deutlicher Anstieg des CXCL13-Wertes (und auch der Zellzahl). Diese Beobachtung ließ vermuten, dass bei einer früh im Krankheitsverlauf durchgeführten Lumbalpunktion auch der CXCL13-Wert noch normal sein kann und erst im Verlauf steigt.

Einige der Patienten ($n = 17$) wurden zur Verlaufskontrolle erneut lumbal punktiert und der CXCL13-Wert konnte bestimmt werden. In der folgenden Abbildung ist dargestellt, wie dieser Wert unter Therapie abfällt, da CXCL13 in der Literatur auch als Verlaufsparemeter diskutiert wird. In den meisten der hier analysierten Fälle war ein deutlicher Abfall nachweisbar. Der Abfall hing auch vom Stadium der Krankheit zu dem Zeitpunkt der Lumbalpunktionen und der Dauer des Intervalls zwischen den zwei Lumbalpunktionen ab. Bei den genannten 17 Patienten betrug das Zeitintervall zwischen den Lumbalpunktionen ca. 14

Ergebnisse

Tage. Bei drei von diesen Patienten lag jedoch das Intervall zwischen den Lumbalpunktionen deutlich länger (bis zu 211 Tage). Diese Liquorentnahmen erfolgten im Rahmen klinischer Verlaufskontrolle nach mehreren Wochen/Monaten bei Patienten, die Residualsymptome aufwiesen (Median-Wert zwischen der 1. und 2. LP: 14 Tage, Minimum: 6 Tage, Maximum: 211 Tage).

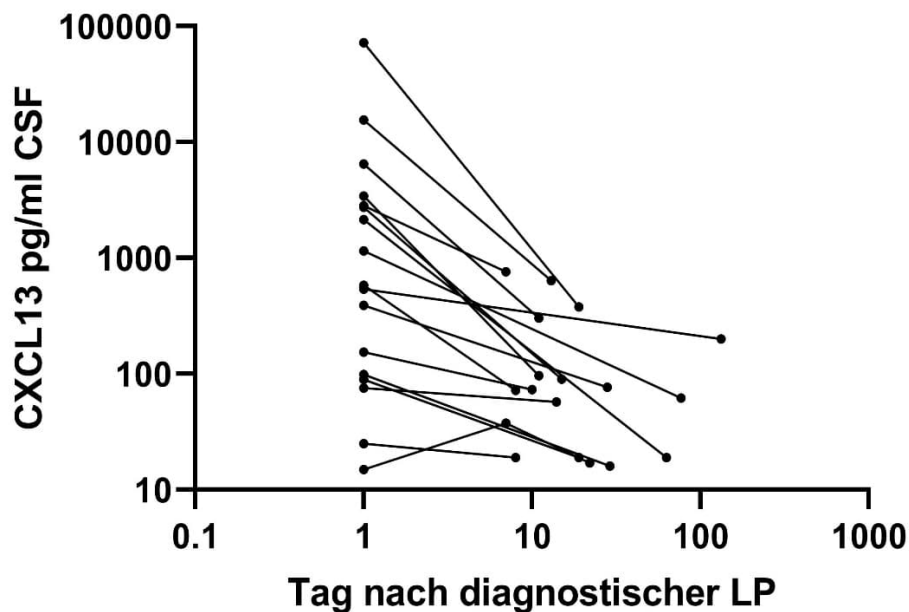


Abb. 10: Verlauf der CXCL13-Konzentration (pg/ml) im Liquor bei seriellen Lumbalpunktionen bei 17 erwachsenen Patienten mit akuter Neuroborreliose in Relation zum Zeitpunkt der Lumbalpunktion (Tag 1 = diagnostische LP)

Es wurde der CXCL13-Wert in Relation zu der Symptomatik der Patienten dargestellt. Die Symptome wurden -wie im Kapitel 2.1 beschrieben- in fünf Kategorien unterteilt: Polyradikulitis, Fazialisparese, Meningitis, Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis und Andere (z. B. Borrelien-assoziierte Vaskulitis, Gangverschlechterung, Blasenentleerungsstörungen, u. a.).

Tab. 19: CXCL13 (pg/ml) in Relation zu den unterschiedlichen Symptomkategorien

Kategorien	CXCL13 (pg/ml), Median
Polyradikulitis (n = 20)	1669 (25,1; 71909,5)
Fazialisparese (n = 12)	2516,5 (188; 21435)
Meningitis (n = 7)	742,41 (37,7; 13262)
Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis (n = 4)	4723,7 (2149; 6473,7)
Andere (n = 6)	308 (19; 2827,8)

(Es wurde der Median-Wert berechnet und in Klammern wurden die Min- und Max-Werte jeder Kategorie genannt)

Wie in der Tabelle 19 dargestellt, fanden sich die höchsten Werte im Median von CXCL13 in der Kategorie ‚Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis‘ (*Kruskal-Wallis-Test*, $p = 0,067$). Der zweitgrößte CXCL13-Median-Wert zeigte sich bei Patienten mit Fazialisparese. Der höchste quantifizierbare Einzelwert in dem untersuchten Kollektiv fand sich mit einem CXCL13-Wert von 71909,5 pg/ml bei einer Patientin mit beidseitiger Fazialisparese und polyradikulären thorakalen Schmerzen.

Die oben dargestellten Werte stammten aus dem Gesamtkollektiv und umfassten sowohl Kinder als auch Erwachsene mit gesicherter Neuroborreliose. Insgesamt wurde der CXCL13-Wert bei 6 Kindern und 43 Erwachsenen gemessen (Tab. 20). In der Darstellung fiel auf, dass bei den Kindern der CXCL13-Median-Wert höher lag als bei den Erwachsenen (*Mann-Whitney-U-Test*, $p = 0,226$). Das korrelierte mit der erhöhten Zellzahl bei den Kindern (siehe auch Tabelle 8).

Tab. 20: CXCL13 (pg/ml) bei Kindern und Erwachsenen mit gesicherter Neuroborreliose

Patienten	CXCL13 (pg/ml), Median
Kinder (n = 6)	2790 (188; 13262)
Erwachsene (n = 43)	1425,1 (18,77; 71909,5)

(Es wurde der Median berechnet und in Klammern wurden die Min- und Max-Werte jeder Kategorie genannt)

3.5.1 Präanalytische Evaluation der CXCL13-Bestimmung

Ein analytisch wichtiger Aspekt dieser Arbeit war die Untersuchung der präanalytischen Voraussetzungen für die Quantifizierung von CXCL13.

Zunächst wurde der Einfluss einer präanalytischen Separation der Liquorzellen untersucht. Es wurde bestimmt, wie sich der CXCL13-Wert verhält, wenn die Probe zentrifugiert (Entfernung des Großteils der Zellen) oder nicht zentrifugiert (mit Zellen) mit ELISA untersucht wird. Hierfür wurden 42 Proben von Patienten mit verschiedenen Erkrankungen mit und ohne Zellen untersucht. Der Median-CXCL13-Wert lag bei den zentrifugierten Proben (ohne Zellen) bei 88,6 pg/ml im Vergleich zu 143,2 pg/ml bei den nicht zentrifugierten Proben (mit Zellen). Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war statistisch signifikant (*Wilcoxon matched-pairs signed rank test*, $p = 0,0008$). Diese Daten wurden durch wiederholte Messungen bestätigt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Grafik dargestellt.

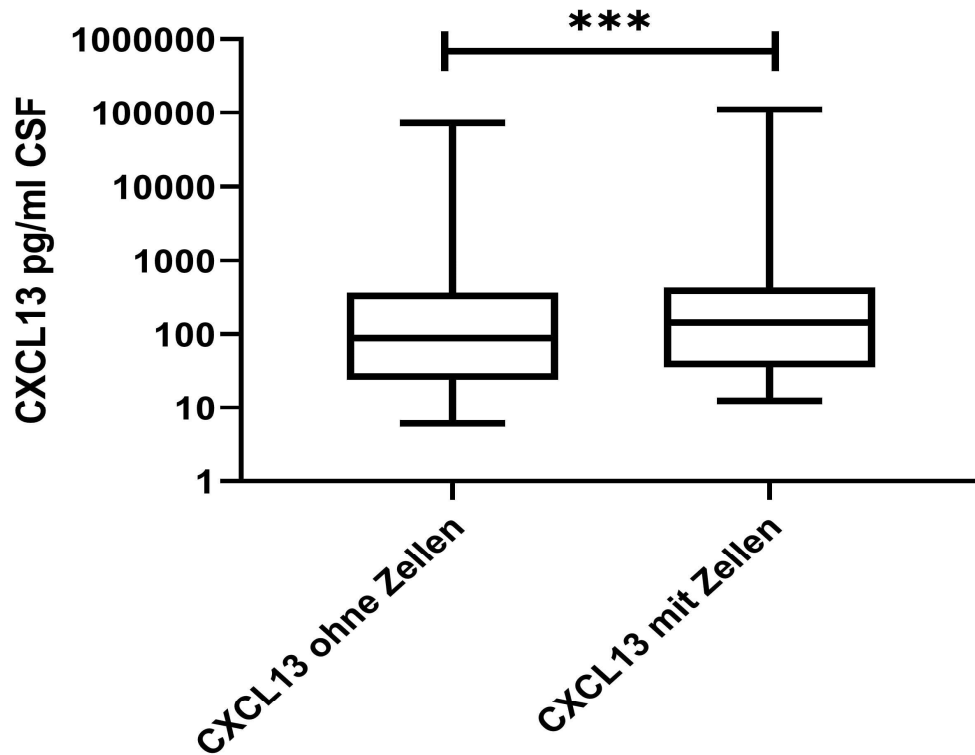


Abb. 11: Vergleich des CXCL13-Wertes (pg/ml) zwischen zentrifugierten und nicht zentrifugierten Proben

Als weiterer präanalytischer Einflussfaktor wurde die Stabilität von CXCL13 untersucht, wenn die Proben bis zu 15 Tagen in Raumtemperatur gelagert wurden. Dabei verwendeten wir die Proben von fünf Patienten, bei denen bereits bekannt war, dass das CXCL13 erhöht war (> 60 pg/ml). Die Proben stammten von Patienten mit der Diagnose einer bakteriellen Meningitis (durch unterschiedliche Erreger) und nicht einer akuten Neuroborreliose. Bei den vier von den fünf Patienten wurde die Stabilität von CXCL13 sowohl bei zentrifugiertem (ohne Zellen) als auch bei nicht zentrifugiertem Liquor (mit Zellen) beurteilt. In der folgenden Grafik wird das Verhältnis von CXCL13 bei seriellen Messungen der gleichen Liquorprobe zu unterschiedlichen Zeitpunkten von Tag 1 bis Tag 15 dargestellt.

Ergebnisse

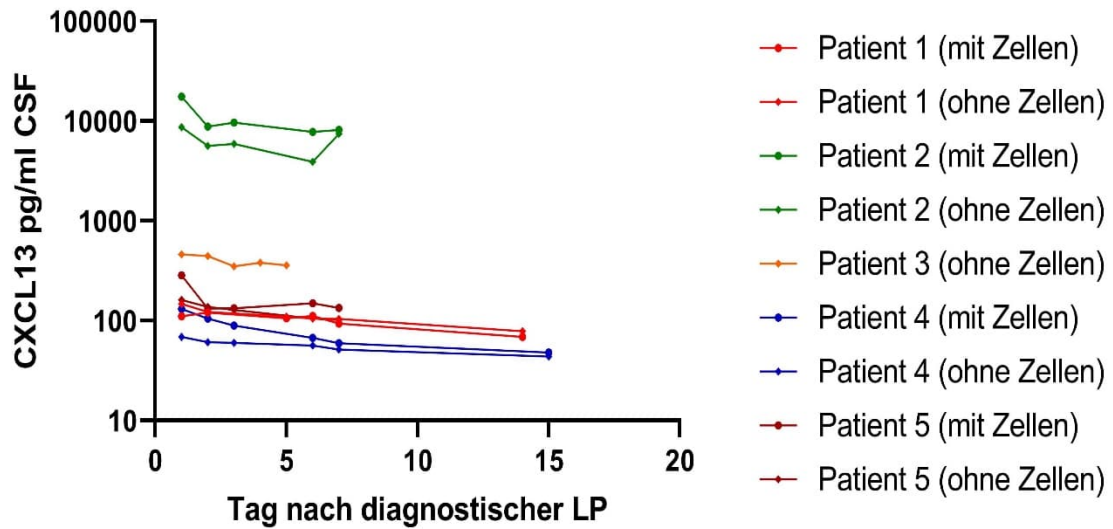


Abb. 12: Serielle Messungen von CXCL13 (pg/ml) jeweils in der gleichen Liquorprobe, wenn sie bis zu 15 Tage bei Raumtemperatur gelagert wurde

Ferner wurde die Stabilität von CXCL13 in Proben in Abhängigkeit von einer zwischenzeitlichen Lagerung im Gefrierschrank und die Abhängigkeit von Gefrier-Auftau-Zyklen untersucht. Hierfür wurde CXCL13 in Liquorproben bestimmt, die ohne Einfrieren analysiert wurden (frisch entnommener Liquor), einmal eingefroren und für den Test einmal aufgetaut wurden und zweimal eingefroren und aufgetaut wurden. Nach dem Auftauen erfolgte der Assay jeweils am selben Tag. Das Einfrieren erfolgte bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Diese Untersuchungen wurden sowohl mit zentrifugierten als auch mit nicht zentrifugierten Liquorproben durchgeführt. Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Kategorien waren statistisch nicht signifikant. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 13 und 14 dargestellt.

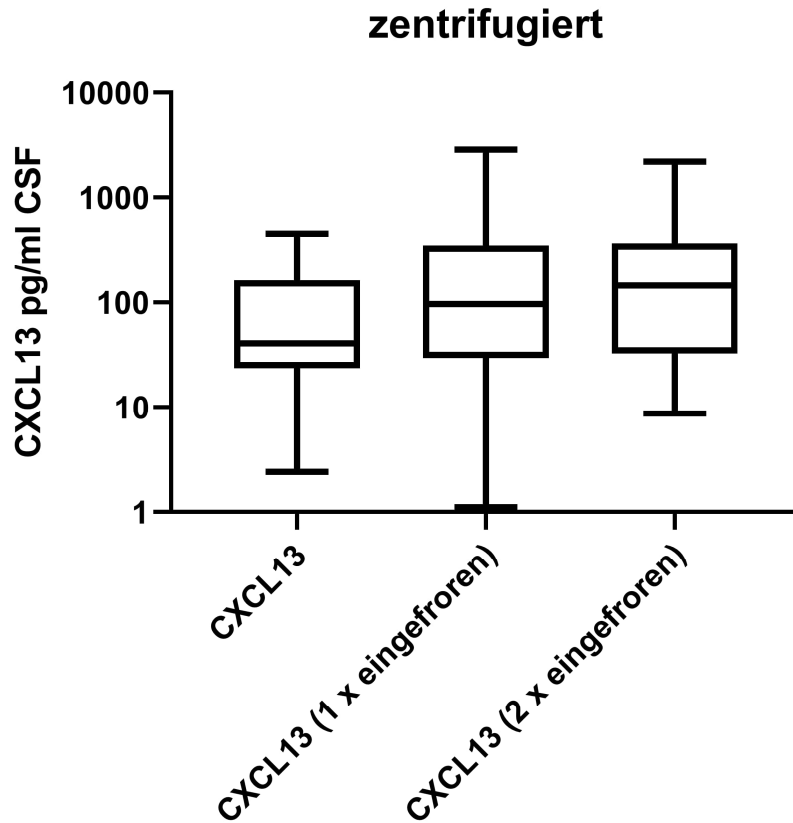


Abb. 13: Stabilität von CXCL13 (pg/ml), wenn die zentrifugierten Liquorproben eingefroren wurden (bis zu 2-mal) und wieder aufgetaut wurden (*Mixed effect model*, $p > 0,05$)

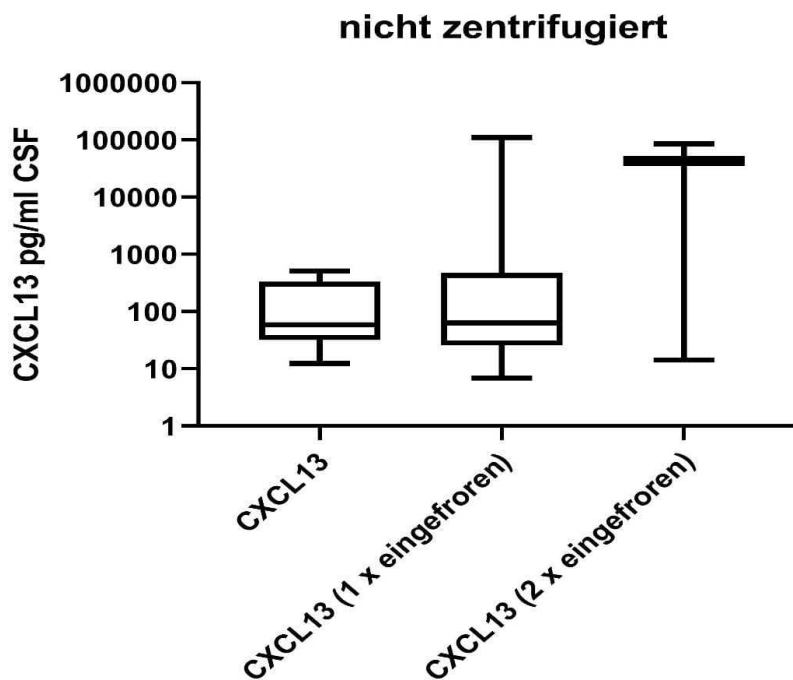


Abb. 14: Stabilität von CXCL13 (pg/ml), wenn die nicht zentrifugierten Liquorproben eingefroren wurden (bis zu 2-mal) und wieder aufgetaut wurden (*Mixed effect model*, $p > 0,05$)

Ergebnisse

3.5.2 CXCL13 bei anderen neurologischen Erkrankungen

Des Weiteren wurde der CXCL13-Wert in seriellen Lumbalpunktionen bei sechs Patienten mit bakterieller Meningitis (durch unterschiedliche Erreger) bestimmt. Die Daten sind in der folgenden Abbildung dargestellt. In diesem Patientenkollektiv ergab sich im Gegensatz zu den Patienten mit Neuroborreliose, dass der CXCL13-Wert trotz antibiotischer Behandlung und Abnahme der Zellzahl (diese ist hier nicht dargestellt) in der zweiten Lumbalpunktion höher war als in der ersten Lumbalpunktion.

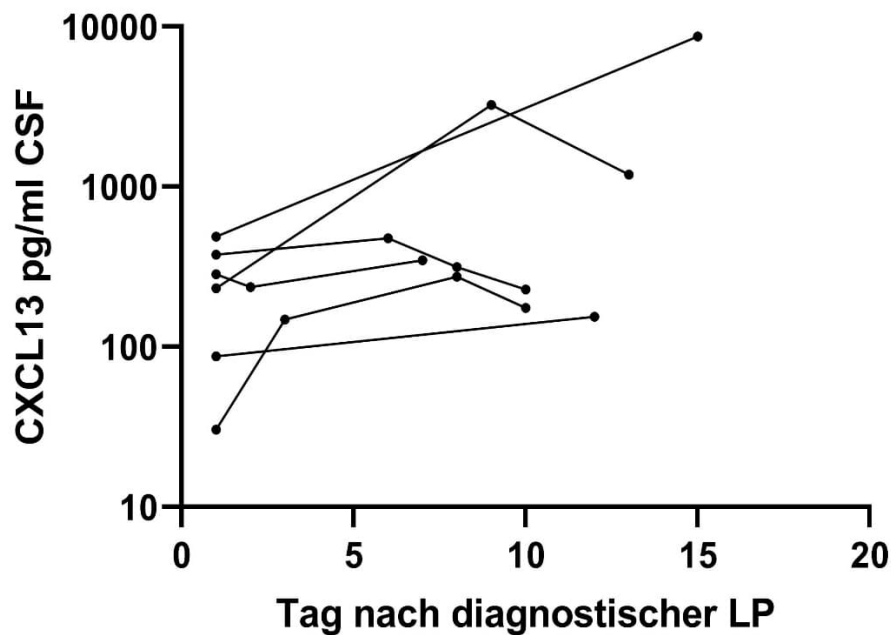


Abb. 15: Darstellung von CXCL13 (pg/ml) in seriellen Lumbalpunktionen bei Patienten mit bakterieller Meningitis

Ferner wurde der CXCL13-Wert in Liquor von Patienten bestimmt, die eine andere Diagnose außer akuter Neuroborreliose hatten. Die Diagnosen wurden in fünf Kategorien eingeteilt: bakterielle Meningitis, virale Meningitis bzw. Meningoenzephalitis, Neurotuberkulose, autoimmune ZNS-Erkrankungen inklusive Multiple Sklerose und andere. In die Kategorie ‚andere‘ gehörten Patienten mit Meningeosis carcinomatosa, Neurosarkoidose und neurodegenerativen Erkrankungen. Die Neurotuberkulose wurde hier aufgrund ihrer hohen Werte als eine eigenständige Kategorie dargestellt. Sämtliche dieser Patienten hatten eine Pleozytose. In die folgende Tabelle wurden nur Patienten mit messbarem CXCL13-Wert > 10 pg/ml berücksichtigt.

Ergebnisse

Tab. 21: CXCL13 (pg/ml) bei erwachsenen Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen außer akuter Neuroborreliose, Angabe von Median (Min; Max)

	Bakterielle Meningitis (n = 20)	Virale Meningi- tis bzw. Menin- goenzephalitis (n = 14)	Neurotuber- kulose (n = 2)	Autoimmune ZNS-Er- krankungen inkl. MS (n = 6)	Andere (n = 7)
CXCL13, Median	92,2 (12; 8698,7)	24,8 (10,5; 130,1)	519,9 (491,9; 547,8)	37,9 (23,4; 194)	74 (10,3; 235)

4 Diskussion

Neuroborreliose ist die häufigste durch Zecken übertragene Infektionserkrankung in Europa (Nau et al. 2009). Im Rahmen der Registerstudie ‚Klinisches Netzwerk Neuroborreliose‘ sollen Daten erhoben werden, um die Kenntnis zu epidemiologischen, therapeutischen und prognostischen Aspekten der Neuroborreliose zu erweitern. Diese Arbeit analysierte das Teilkollektiv der Patienten aus dem Zentrum Göttingen und umfasste die Daten von 72 prospektiv eingeschlossenen Patienten (64 Erwachsene, 8 Kinder), die zwischen Juli 2014 und August 2019 mit einer gesicherten oder wahrscheinlichen Neuroborreliose (entsprechend den modifizierten Diagnosekriterien der DGN) diagnostiziert wurden. Das Alter der Patienten lag bei den Erwachsenen im Median bei 58,5 Jahren (Minimum: 18; Maximum: 81) und bei den Kindern im Median bei 6 Jahren (Minimum: 5; Maximum: 13). Bei drei der Erwachsenen wurde eine wahrscheinliche Neuroborreliose diagnostiziert, bei den anderen eine gesicherte.

4.1 Kriterien

Die Diagnosekriterien der Neuroborreliose unterscheiden sich leicht zwischen den Leitlinien der EFNS und der DGN. Grundsätzlich erfordert die Diagnosestellung einer Neuroborreliose eine typische klinische Symptomatik, einen entzündlichen Liquorbefund und den Nachweis der Synthese von gegen Borrelien gerichteten Antikörpern im Serum und der spezifischen Antikörpersynthese intrathekal, also innerhalb der von den Hirnhäuten umgebenen Strukturen des ZNS und Nervenwurzeln. Zudem müssen andere Ursachen für die bestehende neurologische Symptomatik ausgeschlossen sein. Laut Leitlinie Neuroborreliose 2018 wird eine wahrscheinliche Neuroborreliose dann diagnostiziert, wenn ein Patient ein für eine Neuroborreliose typisches Krankheitsbild hat und zusätzlich positive Borrelien-Antikörper im Serum sowie einen entzündlichen Liquor mit Pleozytose, Schrankenfunktionsstörung und intrathekaler Immunglobulinsynthese aufweist. Die gesicherte Neuroborreliose muss sämtliche der oben genannten Charakteristika erfüllen und außerdem einen positiven Borrelien-AI im Liquor oder eine positive Borrelien-Kultur oder eine positive Borrelien-PCR aufweisen. Bei strikter Interpretation der Diagnosekriterien entstehen für die diagnostizierenden Ärzte gewisse Schwierigkeiten, da ein Patient mit einem typischen klinischen Bild (z. B. einer peripheren Fazialisparese), positiver Borrelien-Serologie, positiven Borrelien-AI und Abgrenzung anderer Ursachen nur dann als gesicherte Neuroborreliose klassifiziert werden kann, wenn gleichzeitig eine Pleozytose und eine Schrankenfunktionsstörung vorliegen.

Diskussion

Diese Definition hat zwar das Ziel einer hohen Spezifität, allerdings entgehen einer strengen Auslegung der aktuellen Richtlinien der DGN für die gesicherte Neuroborreliose, mit gleichzeitigem Nachweis von allen drei Parametern des entzündlichen Liquorsyndroms, eine Reihe von Patienten, die nach klinischem Ermessen dennoch ohne Zweifel eine Neuroborreliose erlitten haben. Hingegen klassifizieren die europäischen Leitlinien eine „gesicherte Neuroborreliose“ bei Vorliegen einer Pleozytose, unabhängig von einer Schrankenfunktionsstörung. Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit die Definition der gesicherten Neuroborreliose der Leitlinien Neuroborreliose 2018 leicht modifiziert: Ein Patient mit lymphozytärer Pleozytose und positivem Borrelien-AI wurde als gesicherte akute Neuroborreliose klassifiziert, auch wenn er keine Schrankenfunktionsstörung aufwies. Andere Arbeitsgruppen werteten neben den oben genannten Kriterien (passende Klinik, Pleozytose, Schrankenfunktionsstörung, positive Borrelien-Antikörper im Serum, positiver Borrelien-Antikörperindex) auch das positive Ansprechen auf die antibiotische Therapie als zusätzliche Voraussetzung für die Diagnosestellung einer akuten Neuroborreliose (Cepok et al. 2003). In den europäischen Leitlinien für Neuroborreliose (Mygland et al. 2010) müssen für die Diagnose einer gesicherten Neuroborreliose die folgenden drei Voraussetzungen erfüllt sein: typisches klinisches Bild, Pleozytose und intrathekale Synthese von Borrelien-spezifischen Antikörpern. Wenn zwei dieser drei Kriterien erfüllt werden, spricht man von einer möglichen Neuroborreliose.

4.2 Zeckenstich und Erythema migrans

Basierend auf der modifizierten Klassifikation erfolgte die Auswertung der anamnestischen, klinischen und laborchemischen Parameter des analysierten Patientenkollektivs.

Weniger als ein Drittel der in dieser Studie ausgewerteten Patienten (29,2 %) konnte sich an einen Zeckenstich erinnern und nur 22,2 % hatten ein Erythema migrans. Diese Beobachtung ist im Wesentlichen übereinstimmend mit den Literaturangaben. Nur eins der acht Kinder (12,5 %) hatte ein Erythema migrans und drei (37,5 %) erinnerten sich an einen Zeckenstich. Allerdings war unsere Kinderpopulation (8 Kinder) zu klein, um sichere Schlussfolgerungen daraus ziehen zu können. Bei Backman und Skogman (2018) hatten 37 von 103 Kindern (36 %) mit Neuroborreliose ein Erythema migrans. Obwohl es zwischen diesen Kindern keine signifikanten Unterschiede gab (das Alter, Geschlecht und klinische Charakteristika betreffend), war die Fazialisparese häufiger bei denen, die ein Erythema migrans am Kopf- und im Nackenbereich hatten. Zusätzlich war in dieser Studie der Zeckenstich bei 60 % der Kin-

Diskussion

der mit gesicherter Neuroborreliose erinnerlich, also deutlich höher als in der aktuellen Arbeit. In einer überregionalen dänischen Studie (Nordberg et al. 2020) hatten 39 % der erwachsenen Patienten einen Zeckenstich und 25 % ein Erythema migrans.

4.3 Borrelien-Serologie und Borrelien-PCR im Liquor

Ein wichtiger Punkt hinsichtlich der Diagnose einer Neuroborreliose ist die Borrelien-Serologie.

Die eigenständige diagnostische Spezifität von Serumantikörpertests wird aufgrund der hohen Seropositivität in der Normalbevölkerung von regional abhängigen 5 % bis > 20 % als gering eingeschätzt. Andere diagnostische Methoden, wie die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von Bb-DNA oder der mikroskopische Nachweis von Bb in CSF-Kulturen, werden aufgrund ihrer geringen Empfindlichkeit nur im Rahmen spezieller Fragestellungen empfohlen. Sie können jedoch bei sehr früher LNB mit negativem Antikörperindex oder bei Patienten mit Immunschwäche nützlich sein.

In der aktuellen Arbeit hatten 61 Patienten eine positive Borrelien-Serologie für IgG im ELISA und 44 Patienten hatten Borrelien-IgM-Serum-Antikörper im ELISA. Interessant ist, dass zum Zeitpunkt der Diagnosestellung vier der von uns aufgrund des klinischen Verlaufs als gesicherte Neuroborreliose klassifizierten Patienten negativ sowohl für Borrelien-IgM- als auch für Borrelien-IgG-Antikörper im ELISA waren und zwei davon negativ auch im weiteren Verlauf blieben.

Entsprechend verfügbaren Publikationen wird berichtet, dass in den ersten Wochen die serologischen ELISA-Tests negativ sein können. In einem frühen Stadium einer Borreliose (bei einem Erythema migrans) wiesen nur 20-50 % der Patienten positive IgM-Antikörper auf (Steere et al. 2008). Steere et al. 2016 beschrieben, dass 70-80 % der Patienten positive Borrelien-Antikörper, meistens IgM-Antikörper, am Ende der zwei-/drei-wöchigen antibiotischen Therapie bei einem Erythema migrans aufwiesen. Nach 4-8 Wochen unbehandelter Infektion entwickelten nahezu alle Patienten IgG-Antikörper. Eine wichtige Einschränkung der serologischen Tests wird darin gesehen, dass IgG- und sogar IgM-Antikörper gegen *B. burgdorferi* Monate oder Jahre nach erfolgreicher antibiotischer Therapie persistieren können (Kalish et al. 2001). Nach stattgehabter antibiotischer Behandlung verbleiben zudem positive IgM-Antikörper im Serum, sodass im klinischen Alltag eine Unsicherheit in der Interpretation auftritt, mit der Frage, ob eine frische Borreliose vorliege. Daher können serologische Tests nicht verwendet werden, um eine aktive oder neue Infektion zu diagnostizieren oder um das Ansprechen auf die antibiotische Therapie zu überprüfen.

Diskussion

Darüber hinaus kommt es nach einer Erregerübertragung, welche zu einer Antikörperproduktion des Infizierten mit positiver Serologie führt, regelhaft zu einem asymptomatischen spontanen Ausheilen der Infektion. So erinnerten sich in einer schwedischen Studie (Gustafson et al. 1992) mehr als 50 % der Personen, die im ELISA positiv für *B. burgdorferi* waren, nicht an Symptome einer Lyme Borreliose. Auch Fingerle et al. (2017) zeigten, dass bei frühen Infektionen die Borrelien-Antikörper negativ sein könnten und zudem, dass die Borrelien-spezifischen-IgM-Antikörper bei einer Reinfektion abwesend sein könnten. Dass zwei der ausgewerteten Patienten der aktuellen Studie auch im weiteren Verlauf negativ hinsichtlich der Borrelien-Serologie blieben, spricht dafür, dass sie entweder frühzeitig diagnostiziert wurden und/oder dass sie erfolgreich behandelt wurden, bevor es zu einer humoralen Immunreaktion kam. Ergänzend erscheint wichtig, dass in der Studie von Kalish et al. 2001 der Nachweis von IgG- oder auch IgM-Antikörper für 10-20 Jahre im Blut von Patienten gelang, ohne dass sie auf eine aktive (Neuro-) Borreliose hinwiesen.

Ein sicherer Nachweis einer Borrelieninfektion gelingt durch direkten Erregernachweis mittels Nukleinsäurenachweis. Allerdings beschrieben Studien (Fingerle et al. 2017) eine geringe Sensitivität der Borrelien-PCR im Liquor mit 10-30 %. Zudem muss sie in Zusammenhang mit der Serologie und den klinischen Befunden interpretiert werden, da sie oft falsch positiv sein kann. In dem Patientenkollektiv dieser Arbeit erfolgte in 16 Patienten eine PCR, allerdings sämtlich mit negativem Ergebnis.

4.4 Liquorparameter

Die Auswertung der Liquorparameter ergab folgende Befunde:

4.4.1 Pleozytose und Laktat

Von den ausgewerteten Patienten wurden gemäß den modifizierten DGN-Kriterien (s. Abschnitt 2.1) drei als wahrscheinliche Neuroborreliose klassifiziert. Bei den restlichen 69 Patienten, die als gesicherte Neuroborreliose klassifiziert wurden, lag der Median-Wert der Zellzahl bei 129 Zellen/ μ l (Minimum: 6; Maximum: 680) bei den Erwachsenen und bei 156 Zellen/ μ l (Minimum: 17; Maximum: 533) bei den Kindern. Djukic et al. (2012) zeigten in ihrer Arbeit, dass der Median der Zellzahl bei 118 erwachsenen Patienten mit einer frühen Neuroborreliose bei 170,5 Zellen/ μ l (Minimum: 57; Maximum: 369) lag. Appelgren et al. (2019) untersuchten 28 Kinder mit Neuroborreliose, hier fanden sich Werte im Median von 157 Zellen/ μ l (20-486). In der selben Arbeit lag der Median der Zellzahl von 32 erwachsenen Patienten bei 43 Zellen/ μ l (6-390). Krawczuk et al. (2020) verglichen die Daten zwischen Erwachsenen und Kindern in einer Studie und kamen zu dem Ergebnis, dass zum Zeitpunkt

Diskussion

der Diagnosestellung die Kinder eine höhere Zellzahl als die Erwachsenen hatten. Das Gesamteiweiß war jedoch bei den Kindern niedriger als bei den Erwachsenen. Insgesamt ergaben die hier erhobenen Werte vergleichbare Ergebnisse (Gesamteiweiß bei den Erwachsenen 1037 mg/L im Vergleich zu 767,5 mg/L bei den Kindern). Entsprechend der Theorie der flussabhängigen Diffusion von Serumproteinen über die Blut-Liquorschranke in den Liquor hinein hängt die Schrankenfunktionsstörung von QAlb ab (Wildemann et al. 2006), der altersabhängig ist. 62,5 % der Kinder und 85,2 % der Erwachsenen wiesen eine Schrankenfunktionsstörung auf, wobei der Unterschied nicht statistisch signifikant war.

Auf der anderen Seite fanden sich leicht erhöhte Laktat-Werte häufiger bei Kindern mit akuter Neuroborreliose. Jedoch war bei den Patientengruppen die mediane Liquor-Laktat-Konzentration nicht erhöht (Median bei Erwachsenen: 2,1 mmol/L/Median bei Kindern: 1,9 mmol/L). Der höchste Wert, der sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen anzutreffen war, lag bei 3,6 mmol/L und der höchste Median fand sich in der Subgruppe der Patienten, die eine Meningoenzephalitis im Rahmen der Neuroborreliose hatten. Djukic et al. (2012) sahen einen Zusammenhang zwischen leicht erhöhtem Laktat bei Patienten mit akuter Neuroborreliose und Fieber bzw. Kopfschmerzen als Begleitsymptomatik, wobei auch in ihrer Arbeit nur 5 von 118 Patienten einen erhöhten Laktat-Wert (Laktat > 3,5 mmol/L) hatten. Hier ist anzumerken, dass die Liquor-Laktat-Konzentration (> 3,5 mmol/L) in der klinischen Praxis ein wichtiges Kriterium in der Unterscheidung einer viralen von einer akuten / eitrigen bakteriellen Meningitis ist (Tunkel et al. 2004; de Almeida et al. 2020).

4.4.2 Borrelien-Antikörper-Index

Von den 69 Patienten mit-gemäß den modifizierten DGN-Kriterien-gesicherter akuter Neuroborreliose hatten zum Zeitpunkt der Diagnose drei erwachsene Patienten keinen erhöhten Borrelien-Antikörperindex. Einer von diesen Patienten hatte eine für Neuroborreliose typische Klinik (periphere Fazialisparese) mit Pleozytose und sehr hohem CXCL13-Wert von 455 pg/ml, sodass die klinische Diagnose einer akuten Neuroborreliose nach Ausschluss anderer Ursachen gestellt wurde. Nach Einleitung einer antibiotischen Therapie mit Ceftriaxon zeigte sich eine rasche Besserung der Symptomatik, sodass der Patient nicht nochmal lumbal punktiert wurde. Die beiden anderen Patienten litten unter einer Polyradikulitis. Zur Bestätigung der Diagnose erfolgte eine zweite Lumbalpunktion im Verlauf, bei der die Patienten nun einen erhöhten Borrelien-Antikörperindex aufwiesen. Bei diesen drei Patienten konnte initial zumindest die Diagnose der gesicherten Neuroborreliose laut Leitlinien der DGN ohne

Diskussion

erhöhten Borrelien-AI oder positive Borrelien-Kultur oder positive Borrelien-PCR nicht gestellt werden. Sämtliche Kinder hatten sowohl positiven Borrelien-AI-IgM als auch positiven Borrelien-AI-IgG. Bei den Erwachsenen fand sich am häufigsten Borrelien-AI-IgG (91,8 %) und bei etwa der Hälfte der erwachsenen Patienten (50,8 %) sowohl Borrelien-AI-IgG als auch Borrelien-AI-IgM. Ljøstad et al. (2007) untersuchten 43 Patienten mit Neuroborreliose vor und nach Antibiose und zeigten, dass die Sensitivität des Borrelien-AI bei 74 % lag, wenn die Symptomatik kürzer als 6 Wochen dauerte, und bei 100 %, wenn die Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung die Symptome länger als 6 Wochen hatten. Drei von den Patienten mit negativem Borrelien-AI hatten in der erneuten Lumbalpunktion nach Beginn der antibiotischen Therapie einen positiven Borrelien-Antikörperindex. In der Arbeit von Tumani et al. (1995) wurde darauf hingewiesen, dass die diagnostische Sensitivität von Borrelien-AI-IgM bei 79 % und die Spezifität bei 96 % lag. Der Borrelien-AI-IgG zeigte eine Sensitivität von 63 % und eine diagnostische Spezifität von 89 %. Eine andere Arbeitsgruppe (Cepok et al. 2003) demonstrierte, dass sich während der antibiotischen Behandlung die Zytokinen schnell normalisierten und die Plasma-Zellen verschwanden. Erst nach Tagen oder Wochen von Behandlung stieg der Prozentsatz von B-Zellen und somit die intrathekale Synthese von Borrelien-Antikörpern. Zusätzlich ist es wichtig zu betonen, dass der Borrelien-AI über Monate oder sogar über Jahre nach einer stattgehabten Neuroborreliose im Liquor der Patienten nachweisbar sein kann (Krüger et al. 1989; Hammers-Berggren et al. 1993) und keine Aussagekraft über den Therapieerfolg hat. Bei zwei unserer Patienten, die wiederholt lumbal punktiert wurden, wurde Absinken der Antikörperproduktion unter die Nachweisgrenze mit dann wieder unauffälligen / nicht pathologischen Borrelien-AI-Werten nach einigen Monaten festgestellt.

4.4.3 Oligoklonale Banden und lokale Synthese im Reiber/Felgenhauer-Diagramm

Zu den Kriterien des entzündlichen Liquorsyndroms in den DGN-Leitlinien gehört auch der Nachweis einer intrathekalen Antikörperproduktion. Prinzipiell wurden folgende diagnostische Methoden etabliert, die eine intrathekale Antikörpersynthese nachweisen: die Quotientendiagramme nach Reiber und Felgenhauer, die Bestimmung oligoklonaler IgG und als sensitivstes Verfahren die spezifischen Antikörperindexwerte (wie oben beschrieben).

In dem Patientenkollektiv der aktuellen Arbeit wurde das Verhältnis der gesicherten akuten Neuroborreliose zu dem positiven Nachweis oligoklonaler Banden untersucht. 37,5 % der Kinder und 73,8 % der Erwachsenen wiesen positive oligoklonale Banden vom Typ 2 oder 3 zum Zeitpunkt der Diagnosestellung als Beleg einer intrathekalen Antikörpersynthese auf

Diskussion

(statistisch signifikanter Unterschied). Zwischen den Symptomkategorien gab es bei den Erwachsenen keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich des Nachweises positiver OKB. Bei 91,6 % der Patienten mit Fazialisparese waren positive OKB zu sehen, gefolgt von Patienten mit Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis (85,7 %) und von Patienten mit anderen Symptomen (85,7 %), wie Gangstörung oder Borrelien-assoziiierter Vaskulitis. In der Arbeit von Djukic et al. (2012) wurden bei 70,3 % der untersuchten Patienten positive oligoklonale Banden gefunden. Dort waren die OKB eher häufiger bei Patienten mit Polyradikulitis (75,5 %) und mit Fazialisparese (74,4 %). In der aktuellen Arbeit hatten 68,9 % der Patienten mit Polyradikulitis positive OKB. In beiden Arbeiten hatten die Patienten mit isolierter Meningitis weniger häufig oligoklonale Banden. Bei den Kindern gab es keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Symptomkategorien.

Zusätzlich zeigten zwei der Kinder und 14 der erwachsenen Patienten mit gesicherter Neuroborreliose keine lokale Synthese im Reiber/Felgenhauer-Diagramm. Jedoch wiesen ca. ein Drittel der Kinder (37,5 %) und der Erwachsenen (34,4 %) eine isolierte lokale IgM-Synthese im Quotientendiagramm auf. 42,6 % der erwachsenen Patienten und 37,5 % der Kinder hatten im Quotienten-Diagramm eine 2- oder 3-Klassen-Reaktion. Entsprechend der unterschiedlichen Sensitivität der Verfahren (am sensitivsten sind die AI-Werte, dann folgen die OKB, am wenigsten sensitiv sind die Quotientendiagramme), fand sich bei den untersuchten Kindern kein Nachweis einer IgG-Synthese (als 1-Klassen- oder 2-Klassen-Reaktion) im Quotienten-Diagramm, hingegen wiesen drei der Kinder positive oligoklonale Banden (IEF) auf. Wie man aus anderen Studien weiß (Andersson et al. 1994), ist die isoelektrische Fokussierung empfindlicher als das Reiber/Felgenhauer-Diagramm zum Nachweis einer intrathekalen IgG-Produktion. In der Studie von Djukic et al. (2012) fand sich eine intrathekale IgM-Synthese im Quotientendiagramm in 70,2 % und eine intrathekale IgG-Synthese in 19,5 % von 118 Patienten, während in der IEF 70,3 % der Patienten eine intrathekale IgG-Synthese aufwiesen. In der Studie von Schwenkenbecher et al. (2017) war eine lokale IgM-Synthese im Reiber/Felgenhauer-Diagramm bei 74 % und eine lokale IgG-Synthese bei 47 % der Patienten zu finden. Fast ein Viertel der Patienten (24 %) zeigte eine kombinierte 3-Klassen-Reaktion im Quotientendiagramm. Unsere Ergebnisse die Häufigkeit der IgM-Synthese betreffend scheinen sich von den zitierten Ergebnissen zu unterscheiden, dem liegt jedoch als Ursache die unterschiedliche statistische Interpretation zu Grunde. In unserer Studie zeigten 34,4 % der Erwachsenen zwar eine isolierte lokale IgM-Synthese, aber insgesamt wurde bei 73,7 % der erwachsenen Patienten eine im Reiber-Diagramm nachgewiesene

Diskussion

IgM-Synthese (als 1-, 2- oder 3-Klassen-Reaktion) beobachtet, was mit anderen Studien vergleichbar ist. Hingegen wurde in der Arbeit von Schwenkenbecher et al. (2017) eine isolierte IgM-Synthese bei keinem Patienten gefunden, was auf Unterschiede der Sensitivität der Untersuchungsmethoden von Labor zu Labor hinweisen kann.

4.5 Symptome und Bildgebung

Die klinischen Merkmale der Neuroborreliose wurden bei den 72 Patienten der aktuellen Arbeit analysiert und demonstriert. Die Liquorparameter wurden erneut im Hinblick auf die klinischen Bilder betrachtet.

Das häufigste Symptom der akuten Neuroborreliose war bei den Kindern die isolierte periphere Fazialisparese (62,5 %), gefolgt von der Meningitis. Der Median der Zellzahl und des Gesamteiweißes war jedoch bei den Kindern mit Fazialisparese niedriger als bei den anderen Kategorien und am höchsten bei Kindern mit ‚Meningoenzephalitis‘. Vier von den fünf Kindern mit Fazialisparese hatten keine oligoklonalen Banden, während zwei davon eine isolierte intrathekale IgM-Synthese im Reiber/Felgenhauer-Diagramm zeigten. Eine isolierte IgG-Synthese im Quotientendiagramm wurde bei keinem von den Kindern beobachtet. Backman und Skogman (2018) zeigten in einer prospektiven Studie, dass die häufigsten Symptome bei Kindern mit gesicherter akuter Neuroborreliose die Fazialisparese (68 %), die Kopfschmerzen (72 %) und das Fatigue-Syndrom (91 %) waren. Zusätzlich wurde eine Assoziation der Fazialisparese mit der Erscheinung eines Erythema migrans im Kopf- und Nackenbereich vermutet, worauf auch andere Studien hindeuteten (Christen et al. 1993). In einer großen schwedischen Studie (Berglund et al. 1995) wurde gezeigt, dass neurologische Symptome häufiger bei Patienten waren, die ein Erythema migrans im Kopf- und Nackenbereich hatten im Vergleich zu Patienten mit einem Exanthem an den Extremitäten. Das würde die Häufigkeit einer Neuroborreliose bei den Kindern erklären, da sie durch ihre kleine Größe häufiger im Vergleich zu den Erwachsenen einen Zeckenstich und somit ein Erythema migrans im oberen Bereich des Körpers bekommen (Backman und Skogman 2018). Es wurde somit die Hypothese formuliert, dass sich die Spirochäten so durch die Haut in die Hirnnerven und das zentrale Nervensystem ausbreiten können.

Als ungewöhnliche Präsentation wurde eins von den Kindern mit Stauungspapillen und Kopfschmerzen notfallmäßig in der Pädiatrischen Abteilung der UMG vorgestellt. In der Liquorpunktion zeigte sich neben einer Pleozytose und positiven Borrelien-AI ein deutlich erhöhter Liquoreröffnungsdruck von 40 cm H₂O. In der Kernspintomographie des Schädels fand sich ein auffälliger *Empty-Sella*-Aspekt mit zusätzlich prominenten Optikusscheiden

Diskussion

und schlanken inneren Liquorräumen, ein Befund passend zu einer idiopathischen intrakraniellen Hypertension. Nach Einleitung einer antibiotischen Therapie bei liquoranalytisch gesicherter Neuroborreliose besserte sich rasch das klinische Bild des Kindes. In einer augenärztlichen Folgeuntersuchung waren die Stauungspapillen nach kurzer Zeit bereits rückläufig. Dieser Fall könnte implizieren, dass ein Krankheitsbild, welches prinzipiell einem Pseudotumor cerebri ähnelt, als sekundäre Folge einer akuten Neuroborreliose auftreten kann. Es gibt nur wenige berichtete Fälle in der Literatur, die einen Pseudotumor cerebri als Komplikation einer Neuroborreliose vorwiegend bei Kindern (Ramgopal et al. 2016; Härtel et al. 2002) aber auch bei Erwachsenen beschreiben (Castaldo et al. 2008; Nord und Karter 2003).

Bei den Erwachsenen der aktuellen Studie war das häufigste Symptom die Polyradikulitis (47,5 %), gefolgt von der isolierten peripheren Fazialisparese (19,7 %). Der höchste Zellzahl-Median war jedoch bei Patienten mit einer Meningitis gefunden, wobei die allerhöchste Zellzahl (680 Zellen/ μ l) in der aktuellen Arbeit bei einem Patienten mit Meningoenzephalitis beobachtet wurde. Des Weiteren hatten die Patienten mit Meningoenzephalitis den höchsten Median für Gesamteiweiß und Laktat im Vergleich zu den anderen Symptomkategorien, es fand sich jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Kategorien. Patienten mit solchen Symptomen (Verwirrtheit, Kopfschmerzen, epileptische Anfälle) werden oft mit Verzögerung als Neuroborreliose identifiziert. So wurde bei einer Patientin der aktuellen Arbeit, die nach Monaten von intermittierenden Kopfschmerzen unter unklaren Bedingungen einen Autounfall verursacht hatte und durch ihr verwirrtes Verhalten von der Unfallchirurgie auf die Psychiatrie der UMG verlegt wurde, nach Analyse einer Lumbalpunktion eine akute Neuroborreliose diagnostiziert. Ferner hatte die überwiegende Mehrheit der erwachsenen Patienten mit Polyradikulitis nicht so häufig oligoklonale Banden im Liquor im Vergleich zu den Patienten mit peripherer Fazialisparese, Meningoenzephalitis und anderen Symptomen, wie Gangunsicherheit und Borrelien-assoziiertes Vasculitis (jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied). Andererseits war eine kombinierte IgG-, IgA- und IgM-Synthese im Reiber/Felgenhauer-Diagramm häufig in der Kategorie ‚Polyradikulitis‘. Eine erklärende Hypothese für dieses Ergebnis wäre, dass eine längere Latenz zwischen Nervensystembeteiligung und Diagnosestellung, welche bei dieser Kategorie oft beobachtet wird, eine längere Zeit für immunologische Reaktion bereitstellt. Dass die Polyradikulitis das häufigste Symptom bei Erwachsenen mit gesicherter Neuroborreliose war, war auch das Ergebnis anderer Studien (Bannwarth 1941). In der Studie von Petersen et al. (2015) hatten 56 von den 69 Patienten mit gesicherter Neuroborreliose Symptome wie radi-

Diskussion

kuläre Schmerzen, Sensibilitätsstörungen und Paresen im Sinne einer Radikuloneuritis. Djukic et al. (2012) zeigten zusätzlich, dass die Polyradikulitis häufiger unter den Erwachsenen über 50 Jahren als bei jüngeren Patienten war.

Ein wichtiges Kapitel ist der Umgang mit Schmerzen bei unbehandelter akuter Neuroborreliose. Schmerzen im Sinne von Kopfschmerzen oder noch häufiger radikulären Schmerzen führten oft zur Einnahme von Opiaten, da die konventionellen Analgetika kaum Linderung erbrachten. Unter Opiateinnahme traten oft mehrere Nebenwirkungen auf, wie Ileus, oder es kam nicht selten zu einem deliranten Zustand. Zusätzlich beschrieben die Patienten einen starken Schlafmangel, bedingt durch die schwer beherrschbaren, nächtlich betonten Schmerzen, der deutlich zu dem Auftreten einer Verwirrtheit beitrug. Bei einer Patientin traten optische Halluzinationen nach starkem Schlafmangel auf. In früheren Studien wurde ein direkter Zusammenhang der Schlafstörungen mit der Neuroborreliose nachgewiesen (Greenberg et al. 1995; Parish 2009). Das häufigste Problem, das bei den Patienten mit radikulären Schmerzen der aktuellen Arbeit festgestellt wurde, war, dass diese Patienten häufig bei Orthopäden oder Neurochirurgen mit dem Verdacht auf einen Bandscheibenvorfall vorstellig waren. Das führte zu einer deutlichen Verzögerung der Diagnose und zur weiteren Entwicklung der Symptomatik. Bei einem Patienten war sogar eine Operation geplant, bis er während des stationären Aufenthaltes weitere neurologische Symptome entwickelte und somit eine weitere Diagnostik eingeleitet wurde.

Bei radikulären Schmerzen sah man nicht selten in der spinalen Magnetresonanztomographie (MRT) eine Kontrastmittelanreicherung entlang der Nervenwurzel oder der Leptomeningen, was dem radiologischen Bild eines Guillain-Barré-Syndroms ähnlich wäre. Auch ein Lymphombefall käme aus neuroradiologischer Sicht in Frage. Die neuroradiologischen Befunde sind für eine Neuroborreliose unspezifisch. Sie weisen oft auf andere neurologische Erkrankungen (Lindland et al. 2018) mit völlig anderer Therapie und Prognose hin und können ohne Liquordiagnostik den Kliniker desorientieren.

Fünf (8,2 %) der erwachsenen Patienten hatten eine bilaterale Fazialisparese. In einer großen Studie von Gaudin et al. (2016) wurden innerhalb von 13 Jahren 68 Patienten mit beidseitiger Fazialisparese identifiziert. Die häufigste Ursache war eine vermutete Bell-Lähmung (35 %) und die zweithäufigste Ursache war die Neuroborreliose (15 %), gefolgt von Möbius-Syndrom, Neurofibromatose Typ 2, Hirntumor, Guillain-Barré-Syndrom, u. a. Bei unseren Patienten waren der N. abducens (zweithäufigste betroffene Hirnnervenparese), der N. trigeminus, der N. oculomotorius und der N. hypoglossus die anderen betroffenen Hirnnerven.

Diskussion

Mit Ausnahme von N. olfactorius wurde prinzipiell für alle Hirnnerven im Rahmen einer Neuroborreliose eine Beteiligung beschrieben, wobei in über 80 % der Fälle der N. facialis beteiligt war (Hansen und Lebech 1992). Laut Reik et al. (1979) sowie Oschmann et al. (1998) können auch andere Hirnnerven, jedoch seltener, beteiligt sein. Die unilaterale Fazialisparese stellt eine medizinische Herausforderung dar, da die Patienten häufig nicht lumbal punktiert werden und bei dem Verdacht auf eine idiopathische Fazialisparese mit Steroiden behandelt werden. Von den Patienten in dieser Arbeit fand sich bei fünf Patienten (davon ein Kind) mit uni- oder bei einem Fall bilateraler Fazialisparese im Schädel-MRT ein Kontrastmittel-Enhancement weiterer Hirnnerven. In drei Fällen war das der kontralaterale N. facialis und bei den anderen der N. trigeminus und der N. oculomotorius betroffen, obwohl diese Hirnnerven bei der klinischen Untersuchung unauffällig waren. Dies mag ein Hinweis auf eine ausgedehntere, subklinische Hirnnervenaffektion darstellen, möglicherweise hätte in diesen Fällen die Erkrankung bei ausbleibender Behandlung oder „blinder“ Therapie mit Glukokortikoiden einen klinischen Progress der Symptomatik aufweisen können.

Bei drei erwachsenen Patienten erfolgte die Diagnose einer Neuroborreliose, nachdem initial klinisch der Verdacht auf einen Normaldruckhydrozephalus aufgrund der klassischen Symptom-Trias (Gangstörung, dementielle Entwicklung, Harninkontinenz) vermutet wurde. Die Liquorpunktion, die im Rahmen des Liquorablassversuches durchgeführt wurde, zeigte überraschenderweise eine Pleozytose und änderte somit die Richtung der weiteren Diagnostik und Therapie. Es gibt in der Literatur wenige Berichte über dieses Thema, alle betonen jedoch die Wichtigkeit der schnellen Diagnostik durch Liquoranalyse, da es sich hier um reversible kognitive Defizite handeln kann (Danek et al. 1996, Etienne et al. 2003, Aboul-Enein und Kristoferitsch 2009). Ob die Harninkontinenz mit der Neuroborreliose zusammenhing oder ob sie als ein häufiges Symptom bei älteren Männern eine alternative Ursache aufwies, bleibt ungesichert.

4.6 Reaktivierung von Viren

Bei drei Patienten der aktuellen Studie wurde eine Reaktivierung unterschiedlicher Viren während der stationären Abklärung vermutet. Bei einem Patienten wurde die HSV-Reaktivierung und bei einem anderen die HHV6-Aktivierung bei entsprechenden positiven PCRs vermutet, nachdem die akute Neuroborreliose liquoranalytisch gesichert worden war. Obwohl Zweifel bestanden, ob diese Viren für die Entwicklung der akuten Symptomatik eine Rolle spielten oder ob es sich um einen Zufallsbefund im Rahmen der umfangreichen Ab-

Diskussion

klärung handelte, wurden diese Patienten entsprechend mit Aciclovir und Ganciclovir parallel mit Ceftriaxon behandelt. Bei einer dritten Patientin, die eine leichtgradige sensomotorische Paraparese im Rahmen einer gesicherten Neuroborreliose entwickelt hatte, wurde ca. 4-5 Monate nach der Behandlung der Neuroborreliose und nachdem sich die Paresen zurückgebildet hatten, die Aktivierung einer Zoster-Myelitis bei erneut aufgetretenen Kribbelparästhesien an den unteren Extremitäten vermutet und entsprechend behandelt. Bis jetzt gibt es keinen kausalen Zusammenhang zwischen der Neuroborreliose und der Aktivierung neurotroper Viren. Es gibt Studien (Rasley et al. 2002; Rock et al. 2004), die sich mit der Rolle der Mikrogliazellen bei der Neuroborreliose beschäftigten. Diese zeigten, dass *Borrelia burgdorferi* durch Produktion von Interleukin-6 (IL-6), Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Prostaglandin E₂ (PGE₂) die Mikroglia stimuliert, die als Quelle für die Entstehung unterschiedlicher Entzündungsmediatoren dienen kann. Somit könnte eine mögliche Hypothese beinhalten, dass Neuroborreliose eine temporäre Schwäche des Immunsystems hervorrufen könnte.

4.7 Neuroborreliose und Schlaganfall

Als seltene Ursache von Schlaganfällen zeigte sich in der aktuellen Arbeit ein Fall mit gesicherter Neuroborreliose und ischämischem Schlaganfall. Es zeigte sich im Rahmen der ätiologischen Abklärung einer MR-morphologisch nachgewiesenen Ischämie in der Medulla oblongata liquoranalytisch ein typischer Befund für eine Neuroborreliose. Zwar zeigte eine CT-Angiographie keine Vaskulitis-typischen Veränderungen der Gefäße, somit ließ sich eine Borrelien-induzierte Vaskulitis nicht beweisen, aber aufgrund der Koinzidenz wurde ein Zusammenhang der beiden Erkrankungen vermutet. Es gibt mehrere Berichte in der Literatur, die eine Assoziation zwischen Neuroborreliose und zerebrovaskulären Ereignissen sowohl bei Erwachsenen als auch bei Kindern zeigten (Laroche et al. 1999, Wilke et al. 2000, Schmiedel et al. 2004). Als Mechanismus wurde ein immunologischer Prozess angenommen, der zu Gefäßveränderungen führt (Garcia-Monco 1995; Oksi et al. 1996). Garkowski et al. (2017) beschrieben, dass in 66,7 % der Fälle multiple zerebrale Läsionen in der Kernspintomographie zu erkennen waren und dass am stärksten die großen und mittleren Gefäße betroffen waren. In einigen Fällen konnte man in der Angiographie keine Vaskulitis-typischen Veränderungen entdecken. Back et al. (2013) schätzten, dass die Häufigkeit der Borrelien-assoziierten Vaskulitis bei 0,3 % liegt, wobei Oschmann et al. (1998) diese auf 1 % schätzten. Auf jeden Fall handelt es sich um eine seltene Komplikation der Neuroborreliose, dennoch sollte daran gedacht werden, vor allem dann, wenn die Patienten aus für Borreliose endemischen Ländern kommen.

4.8 CXCL13

Bei dem Chemokin CXCL13 handelt es sich um einen Botenstoff, der eine bedeutsame Rolle beim Anlocken von Lymphozyten in den Liquor spielt (Euroimmun_CXCL13 2015).

Dieses B-Zell-anlockende Chemokin wurde erstmalig im Jahr 2005 als diagnostischer Parameter für die Diagnose der Neuroborreliose vorgeschlagen, da es signifikant erhöht bei dieser Erkrankung war im Vergleich zu anderen infektiösen oder immunologischen Erkrankungen des zentralen Nervensystems (Rupprecht et al. 2005). Die Autoren (Rupprecht et al. 2007 und Rupprecht et al. 2009) zeigten, dass CXCL13 von Monozyten nach Erkennung von Proteinen der äußeren Oberfläche der Borrelien durch den Toll-like-Rezeptor 2 (TLR-2) freigesetzt wird. Frühere Studien beschrieben, dass der Anstieg von CXCL13 früher als die intrathekale Synthese von Borrelien-spezifischen Antikörpern stattfindet (Rupprecht et al. 2008).

In der aktuellen Arbeit wurde der CXCL13-Wert bei 49 von den insgesamt 69 Patienten (Erwachsene und Kinder) mit gesicherter Neuroborreliose bestimmt. Der Median bei nicht antibiotisch vorbehandelten Patienten lag bei 1593 pg/ml. Der höchste beobachtete Wert war bei einer Patientin mit Bannwarth-Syndrom und beidseitiger Fazialisparese und lag bei 71909,5 pg/ml. Dieser extrem hohe Wert wurde in mehreren Wiederholungen des Tests bestätigt. Von den gesicherten Neuroborreliosen gab es nur einen Fall mit sehr niedrigem CXCL13 (19 pg/ml). Bei diesem Patienten stieg dieser Wert (sowie auch die Zellzahl) in der zweiten Lumbalpunktion, die in einem Intervall von 6 Tagen erfolgte, deutlich an. Das könnte darauf hinweisen, dass auch CXCL13 in sehr frühen Stadien der Neuroborreliose noch negativ sein kann und erst im Verlauf steigt. Generell lagen die CXCL13-Liquorkonzentrationen viel höher als die angegebenen Referenzwerte des Testkit-Herstellers Euroimmun (stark erhöht > 100 pg/ml). Rupprecht et al. (2014) schlugen in ihrer Studie als Cut-Off den Wert 250 pg/ml vor, da in dieser Studie 18 Patienten mit gesicherter oder wahrscheinlicher Neuroborreliose einen höheren Wert als 250 pg/ml hatten und der Median bei 3860 pg/ml lag. Der höchste Wert, der dort beobachtet wurde, lag bei 32960 pg/ml. Auf der anderen Seite gab es zwei Patienten mit einem Wert höher als 250 pg/ml, ohne dass sie unter einer Neuroborreliose litten (am ehesten im Rahmen eines Lymphoms). Zusätzlich gab es laut den Autoren zwei Patienten mit typischer Klinik für Neuroborreliose, jedoch normaler Zellzahl in der initialen Lumbalpunktion, aber hohem CXCL13. In unserer Arbeit gab es einen Patienten mit nur grenzwertig erhöhter Zellzahl von 6 Zellen/ μ l, aber sehr hohem

Diskussion

CXCL13 (1404 pg/ml). In einer anderen Studie mit Kindern (Remy et al. 2017) wurde gezeigt, dass das CXCL13 bei 53 Kindern mit Neuroborreliose signifikant erhöht war im Vergleich zu 91 Kontrollpatienten. Der Median lag hier bei 774,7 pg/ml und ein Cut-Off von 55 pg/ml erbrachte eine Sensitivität von 96,7 % und eine Spezifität von 98,1 % für die Diagnose einer akuten Neuroborreliose. Diese Werte sind allerdings niedriger als die CXCL13-Werte, die in der Literatur für erwachsene Patienten demonstriert wurden. Remy et al. (2017) erklärten diesen Unterschied damit, dass sie für ihre statistische Analyse sowohl Kinder mit gesicherter als auch Kinder mit wahrscheinlicher Neuroborreliose eingeschlossen hatten. In unserer Studie lag der CXCL13-Median für Kinder bei 2790 pg/ml (188; 13262), allerdings wurden nur 6 Kinder gemessen und alle hatten eine gesicherte Neuroborreliose. Andere Studien setzen die Grenze für erhöhtes CXCL13 bei 125 pg/ml und für stark erhöhtes CXCL13 bei 500 pg/ml (Wutte et al. 2011); in der Studie von Picha et al. (2016) hatte ein niedriger Grenzwert von 26 pg/ml eine Sensitivität von 90 % mit einer Spezifität jedoch von 72 %.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es noch keine Einigung bezüglich der Grenzwerte gibt. Nicht alle der bis heute durchgeführten Studien haben vergleichbare Ergebnisse, da nicht die gleichen Tests benutzt wurden. Des Weiteren wurden die Proben dieser Studien in unterschiedlichen Zeitabständen von der Liquorentnahme eingefroren und in einigen Studien wurden Liquorproben aus anderen Kliniken in das jeweilige Studienzentrum eingeschickt. Neue Studien mit größeren Patientenkohorten mit verschiedenen Erkrankungen und Kontrollproben, bei denen Aliquots aus derselben Liquorprobe in unterschiedlichen Laboren mit dem gleichen Testverfahren unabhängig gemessen werden, würden möglicherweise die Situation klarifizieren.

Ferner konnte in der aktuellen Arbeit gezeigt werden, dass die Höhe des CXCL13-Wertes von der Höhe der Zellzahl abhängig war: Je höher die Zellzahl war, desto höher war der CXCL13-Wert. Dieses Ergebnis ist im Einklang mit anderen Arbeiten (Bremell et al. 2013, Picha et al. 2016, Henningsson et al. 2018), während es jedoch andere Studien gibt, die keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Höhe von CXCL13 und der Höhe der Pleozytose nachweisen konnten (Sillanpää et al. 2013; Hytönen et al. 2014). Da CXCL13 ein B-Zell-anlockendes Chemokin ist, wäre allerdings eine Korrelation entsprechend erwartbar. Für die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien sind sehr wahrscheinlich verschiedene Faktoren verantwortlich, wie z. B. die Dauer der Symptomatik bis zur ersten Lumbalpunktion, die Verwendung unterschiedlicher Tests, das Zeitintervall zwischen Lumbalpunktion und Einfrieren der Proben u. a. Es ist jedoch noch nicht bekannt, ob die Höhe des CXCL13-

Diskussion

Wertes in irgendeiner Weise etwas über die Schwere der Symptomatik oder gar die Prognose der Erkrankung aussagen kann.

In seriellen Lumbalpunktionen wurde die deutliche Abnahme des CXCL13-Wertes nach Einleitung der antibiotischen Therapie bei gesicherter Neuroborreliose dargestellt. Nur bei einem Fall gab es einen Anstieg, sowohl des CXCL13-Wertes als auch der Zellzahl, und zwar sechs Tage nach der ersten Lumbalpunktion. Bei diesem Fall wurde jedoch initial bei normwertigem CXCL13 und noch ausstehendem Borrelien-AI von einer viralen Meningitis ausgegangen. Erst nach der zweiten Liquorpunktion mit steigender Zellzahl, steigendem CXCL13 und zwischenzeitlich nachweisbarem Borrelien-AI konnte die Diagnose einer Neuroborreliose gestellt und die entsprechende antibiotische Therapie eingeleitet werden. In der dritten Lumbalpunktion zeigte sich dann eine Normalisierung der Zellzahl und des CXCL13. Dass das CXCL13 initial normwertig trotz deutlicher Pleozytose war und erst im Verlauf anstieg, könnte bedeuten, dass bei sehr frühen Stadien der Neuroborreliose das CXCL13 doch noch normwertig sein könnte oder dass der Wert falsch negativ war. In mehreren Studien konnte nachgewiesen werden, dass CXCL13 sensitiver als der AI in der frühen Phase der Neuroborreliose ist (Ljøstad und Mygland 2008a; Wutte et al. 2011). Die deutliche Abnahme von CXCL13 nach Beginn der antibiotischen Therapie wurde ebenfalls in mehreren Studien bestätigt. Senel et al. (2010) berichteten, dass von allen im Liquor untersuchten Parametern CXCL13 am schnellsten, und zwar innerhalb von einer Woche, abfällt. Andere Studien kamen zu ähnlichen Ergebnissen (Bremell et al. 2013, Hytönen et al. 2014, Dersch et al. 2015). Bei allen diesen Arbeiten wurden die Patienten entweder mit Doxycyclin oder Ceftriaxon behandelt.

Zusätzlich wurde die Konzentration von CXCL13 in Korrelation zu der klinischen Symptomatik untersucht. Höchste Werte wurden im Median in der Kategorie ‚Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis‘ beobachtet, der Median lag hier bei 4723,7 pg/ml, danach folgte der Wert der Kategorie ‚Fazialisparese‘. Ob es eine Assoziation des CXCL13 mit der Schwere oder Prognose der Erkrankung gibt, ist-wie oben beschrieben-fraglich. Der höchste Median-Wert für die Zellzahl ergab sich ebenso in der Kategorie ‚Meningoenzephalitis‘. Die Korrelation zwischen der Höhe der Pleozytose und der Höhe des CXCL13 wurde oben schon gezeigt.

Eine Patientin erlitt innerhalb von zwei Jahren zweimal eine akute Neuroborreliose. Die Symptomatik war in beiden Fällen ähnlich (Polyradikulitis mit nächtlich betonten Schmer-

Diskussion

zen an den unteren Extremitäten und sensibles Niveau im thorakalen Bereich). Das Liquorprofil war in beiden Fällen sogar annähernd identisch (leichte Zellzahlerhöhung-19 Zellen/ μ l in der ersten LP und 33 Zellen/ μ l in der zweiten LP, lokale IgG- und IgM-Synthese im Quotientendiagramm). Der CXCL13-Wert war jeweils deutlich erhöht, bei der ersten der beiden Lumbalpunktionen jedoch extrem hoch (15968 pg/ml im Vergleich zu 518 pg/ml zwei Jahre danach). In der Zeit dazwischen war die Symptomatik jeweils beinahe komplett rückläufig gewesen, leichte Dysästhesien an den unteren Extremitäten blieben als residuelle Symptomatik. Eine ausreichende antibiotische Therapie fand bei beiden Vorstellungen der Patientin statt. Bei diesen Fällen mit jahrelangem, positivem Borrelien-AI eignet sich das CXCL13 zur Unterscheidung einer stattgehabten und abgeheilten von einer erneuten akuten Neuroborreliose.

4.8.1 CXCL13 und andere ZNS-Erkrankungen

Dass CXCL13 auch bei anderen ZNS-Erkrankungen, wie z. B. Neurolyues, ZNS-Lymphom, HIV, Kryptokokkenmeningitis, Multiple Sklerose, u. a. erhöht sein kann, wurde in mehreren Studien nachgewiesen (Rupprecht et al. 2005, Sellebjerg et al. 2009, van Burgel et al. 2011, Wagner et al. 2018). Zur näheren Charakterisierung präanalytischer Fehlerquellen und in der differentialdiagnostischen Abgrenzung zu anderen neurologischen Infektionserkrankungen erfolgten Versuchsserien zur Testevaluation. Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher in 49 Patienten mit Pleozytose unterschiedlicher Ursache, außer Neuroborreliose, das CXCL13 bestimmt. Bei zwei Patienten mit Neurotuberkulose zeigten sich deutlich erhöhte CXCL13-Werte (1. Patient: 547,8 pg/ml, 2. Patient: 491,9 pg/ml). Bei 20 Patienten mit einer ‚bakteriellen Meningitis‘ gab es ein breites Spektrum von CXCL13-Werten (Min: 12 pg/ml, Max: 8698,7 pg/ml bei einem Fall mit *Haemophilus influenzae*-Meningitis). Dieser deutliche Unterschied lässt sich unter anderem von nicht standardisierten Entnahmekriterien und variierenden Intervallen zwischen Beginn der Erkrankung, Beginn der Therapie und klinischem Verlauf erklären. In den anderen Kategorien (‚Virale Meningitis bzw. Meningoenzephalitis‘, ‚Autoimmune Erkrankungen inkl. MS‘ und ‚Andere‘) waren die CXCL13-Werte im Median normwertig oder nur leicht erhöht.

Zusätzlich wurde CXCL13 bei sechs Patienten mit einer akuten/eitrigen, bakteriellen Meningitis in seriellen Lumbalpunktionen gemessen. Hier fiel interessanterweise auf, dass CXCL13 in diesen Patienten trotz erfolgter antibiotischer Therapie und Abnahme der Zellzahl in der zweiten Liquoranalytik höher lag als im Liquor der ersten Punktion. Das Verhältnis von CXCL13 zu Zellzahl und die Kinetik des Chemokins erscheinen sich somit in der

Diskussion

eitrigen Meningitis unter antibiotischer Therapie anders zu verhalten als bei Patienten mit einer Neuroborreliose, wo nach Einleitung der Therapie eine starke Abnahme des CXCL13-Wertes zu beobachten war. Diese Beobachtung wurde auch in einer kürzlich publizierten Studie von Pilz et al. 2019 beschrieben. Mutmaßlich beruht die unterschiedliche Kinetik auf den Unterschieden in der immunologischen Reaktion der Patienten auf die verschiedenen Erreger (klassische Bakterien, Spirochäten, virale Erreger). Zusätzlich erscheint in der Entstehung dieser Unterschiede wichtig, dass im Fall der subakut verlaufenden Infektion ‚Neuroborreliose‘ die Patienten erst nach mehreren Tagen oder Wochen nach Symptombeginn ärztliche Hilfe aufsuchen und in diesem Intervall unbehandelt bleiben. Im Fall einer bakteriellen/eitrigen Meningitis dagegen ist der Krankheitsverlauf akut. Aufgrund der sich rasch entwickelnden Symptome erfolgt die Diagnosestellung in der Regel wenige Stunden bis wenige Tage nach Symptombeginn. Zusätzlich findet im Fall der Neuroborreliose eine zweite Lumbalpunktion in der Regel mit einer längeren Latenz nach der ersten Punktion statt. Im Gegensatz dazu erfolgen bei einer bakteriellen/eitrigen Meningitis aufgrund der Schwere der Krankheit und weil die Patienten nicht immer klinisch beurteilt werden können, kurzfristigere Liquorpunktionen zum Therapiemonitoring. Das kurze Intervall und das frühe Stadium der Erkrankung könnten somit erklären, warum die zweite Punktion einen höheren CXCL13-Wert bei der bakteriellen/eitrigen Meningitis erbrachte.

4.8.2 CXCL13-Präanalytik

Ein Schwerpunkt dieser Studie bezog sich auf die Evaluation präanalytischer Fehlerquellen in der Quantifizierung des Parameters CXCL13. Hier wurden insbesondere der Effekt von in der Liquorflüssigkeit verbleibenden Liquorzellen im Vergleich zu einer frühen zentrifugationsbedingten Separation und der Effekt wiederholter Einfrier-Auftau-Zyklen untersucht. In diesbezüglichen Versuchsreihen ergab sich ein signifikanter statistischer Unterschied zwischen zentrifugierten und nicht zentrifugierten Proben in der gepaarten Analyse derselben Liquorprobe. Insbesondere wurde in den nicht zentrifugierten Proben ein höherer CXCL13-Wert gemessen und dieser Unterschied war bei einigen Fällen sogar deutlich hoch (bis zu 75 %). Das höhere CXCL13 bei Liquorproben mit erhaltenen Zellen könnte mit der Eigenschaft des Chemokins B-Zellen anzulocken zu tun haben. Das ist eine besondere Beobachtung, die bis jetzt noch nicht beschrieben wurde. Dies mag zu einer Fehlinterpretation oder diagnostischer Unschärfe beitragen. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Entscheidung getroffen, dass mit dem Ziel der Standardisierung im Neurochemischen Labor der UMG CXCL13 nur in zentrifugierten Proben gemessen wird.

Diskussion

Des Weiteren wurde die Stabilität des CXCL13 bei Raumtemperatur für bis zu 15 Tage nachgewiesen. Zwischen frischen und bis zu zweimal aufgetauten Liquorproben wurde kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt. Hytönen et al. (2014) beschrieben, dass das Auftauen der Liquorproben bis zu fünfmal den CXCL13-Wert nicht beeinflusste. Tjernberg et al. (2011) zeigten, dass die CXCL13-Konzentration bei Liquorproben, die für eine längere Zeit bei -20 °C eingefroren waren, abnehmen könnte. Andererseits konnten van Burgel et al. (2011) keinen signifikanten Unterschied in CXCL13 in einer Probe feststellen, die fünf Jahre lang eingefroren war. Auch unsere Ergebnisse sprechen für eine relativ hohe Stabilität von CXCL13 im klinischen Alltag.

4.9 Therapie und Verlauf

Alle erwachsenen Patienten der aktuellen Studie wurden mit Ceftriaxon 2 g/Tag intravenös über 14 oder 21 Tage und alle Kinder mit Cefotaxim iv (gewichtadaptierte Dosis) über 14 Tage behandelt. Bei 40 von den 72 Patienten kam es zu einer kompletten Rückbildung der Symptomatik, bei den anderen 32 Patienten führte die Therapie zu einer wesentlichen Besserung, leichte Residualsymptome ausgenommen. Ein Therapieversagen wurde bei keinem der Patienten festgestellt. Den besten Behandlungsverlauf wiesen Patienten mit Fazialisparese und Meningitis auf. Patienten mit Borrelien-assoziiertes Vaskulitis, Gangstörung und Gedächtnisstörungen hatten innerhalb der ersten sechs Monate nach der Diagnosestellung noch leichte residuelle Symptome angegeben. Einige der Patienten mit residueller Symptomatik wurden aus unterschiedlichen Gründen nicht länger als sechs Monate beobachtet, sodass man eine weitere Besserung der Symptome nicht ausschließen konnte. In der Studie von Berglund et al. (2002) wurden die Patienten bis zu fünf Jahre nach der Diagnosestellung beobachtet. Bei 75 % dieser Patienten konnte eine komplette Rückbildung der Symptome innerhalb der ersten sechs Monate festgestellt werden; die restlichen 25 % litten noch an Residualsymptomen, wie Parästhesien, Konzentrationsschwierigkeiten und residueller Fazialisparese. Karkkonen et al. (2001) beobachteten ihre Patienten bis zu zwei Jahre ab der Diagnosestellung und Behandlung mit Doxycyclin und zeigten, dass es bei 81 % der Patienten zu einer kompletten Rückbildung kam und 19 % eine Residualsymptomatik aufwiesen. Die orale Therapie mit Doxycyclin erwies sich als genauso effektiv wie die intravenöse Therapie mit Ceftriaxon bei Erwachsenen (Ljøstad et al. 2008b). Die Unterschiede im Vergleich zu den Ergebnissen unserer Studie lassen sich am ehesten durch das kürzere Beobachtungsintervall bei unseren Patienten erklären. Eine längere Follow-Up-Studie würde Ergebnisse liefern, die einen besseren Überblick über Patienten mit Neuroborreliose zuließen, vor allem

Diskussion

aber eine sicherere Prognose ermöglichen. In der Regel handelt es sich jedoch um eine Erkrankung mit guter Prognose, eine möglichst frühe Einleitung der Therapie vorausgesetzt.

4.10 Limitationen

Die Limitationen dieser Arbeit liegen vor allem in der noch begrenzten Patientenzahl. In der Untergruppe der erwachsenen Patienten wurden beinahe alle Patienten eingeschlossen, die innerhalb von fünf Jahren bis August 2019 in der Neurologischen Klinik der UMG mit Neuroborreliose diagnostiziert wurden. Hingegen ist die Patientenzahl der Kinder vermutlich in diesen Jahren höher anzunehmen, hier ist von einer Unterrekutierung auszugehen. Langfristig soll die laufende Registerstudie „Klinisches Netzwerk Neuroborreliose“ in den nächsten Jahren weitere Patienten aus verschiedenen Zentren einschließen. Zusätzlich wurden in diesen Daten zum Vergleich keine gesunden Kontrollpatienten einbezogen. Das würde vorwiegend für die Evaluation des CXCL13-Wertes wichtig sein. Ferner war der Beobachtungsverlauf noch kurz, um die Prognose und Lebensqualität der Patienten mit Neuroborreliose besser beurteilen zu können.

5 Zusammenfassung

Wir untersuchten von Juli 2014 bis August 2019 die klinischen Merkmale und die Liquorbefunde von 72 Patienten (64 Erwachsene, 8 Kinder) mit Neuroborreliose im Rahmen einer prospektiven Studie. Laut den modifizierten DGN-Kriterien wurden die Patienten in gesicherte (n = 69) und wahrscheinliche Neuroborreliose (n = 3) eingeteilt.

Nur 29,2 % der Patienten konnten sich an einen Zeckenstich erinnern und nur 22,2 % stellten ein Erythema migrans fest. Liquoranalytisch fand sich in der diagnostischen Liquorpunktion im Median eine Liquorpleozytose von 129 Zellen/ μ l bei den Erwachsenen mit gesicherter Neuroborreliose und von 156 Zellen/ μ l bei den Kindern. Eine Schrankenfunktionsstörung wurde häufiger bei erwachsenen Patienten beobachtet. Zwei Patienten hatten in der diagnostischen ersten Liquoranalytik keinen erhöhten Borrelien-AI, entwickelten jedoch im Verlauf einen erhöhten AI. Die untersuchten Kinder hatten sowohl positiven Borrelien-AI-IgM als auch positiven Borrelien-AI-IgG. 37,5 % der Kinder und 73,7 % der Erwachsenen hatten positive oligoklonale Banden zum Zeitpunkt der Diagnose. 25 % der Kinder und 22,9 % der erwachsenen Patienten zeigten keine lokale Synthese in den Quotienten-Diagrammen; 73,7 % der Erwachsenen wiesen eine lokale IgM-Synthese im Reiber/Felgenhauer-Diagramm auf.

Klinisch fand sich als häufigstes Symptom der akuten Neuroborreliose bei den Kindern eine isolierte periphere Fazialisparese (62,5 %) und bei den Erwachsenen eine Polyradikulitis (47,5 %). CXCL13 als additiver Diagnoseparameter wurde bei 49 von 69 Patienten (Erwachsene und Kinder) mit gesicherter Neuroborreliose bestimmt, im Median lag der CXCL13-Wert bei nicht antibiotisch vorbehandelten Patienten bei 1593 pg/ml. Je höher die Zellzahl war, desto höher war auch der Wert für CXCL13. Im Median wurden die höchsten Werte in der Kategorie ‚Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis‘ beobachtet. Die nicht zentrifugierten Liquorproben wiesen signifikant höhere CXCL13-Werte im Vergleich zu den entsprechenden zentrifugierten Proben auf. CXCL13 wird als ein Parameter zum Therapiemonitoring angesehen und scheint eine relativ hohe Stabilität bei Raumtemperatur bis zu 15 Tagen oder bei -80 °C für längere Zeit zu besitzen.

Bei 40 von den 72 Patienten (gesicherte und wahrscheinliche Neuroborreliose) kam es nach antibiotischer Behandlung zu einer kompletten Rückbildung der Symptomatik; die restlichen 32 Patienten wiesen eine deutliche Besserung mit jedoch leichten residuellen Symptomen sechs Monate nach der Diagnosestellung auf.

6 Anhang

6.1 Einverständniserklärung für Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf Neuroborreliose

UNIVERSITÄTSMEDIZIN : **UMG**
GÖTTINGEN

Zentrum Neurologische Medizin
Klinik für Neurologie
Direktor: Prof. Dr. M. Bähr
Ärztliche Leitung
Prof. Dr. M. Bähr

37099 Göttingen Briefpost
Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen Adresse
0551 / 39-9889 Telefon
0551 / 39-8405 Fax
ioanna.giotaki@med.uni-goettingen.de E-Mail



Klinisches Netzwerk
Neuroborreliose

Registerstudie mit Aufbau einer klinischen Datenbank und Biobank zur Verbesserung der Patientenversorgung und zur Erforschung epidemiologischer, diagnostischer, therapeutischer und prognostischer Aspekte der Neuroborreliose

Einverständniserklärung für Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf Neuroborreliose

Hiermit erkläre ich (bitte ausfüllen oder Patientenetikett),

Name : _____

Vorname : _____

Geburtsname : _____

Geboren am : _____

Wohnhaft in : _____

freiwillig nach ausführlicher Aufklärung und Erhalt der schriftlichen Informationen zu dem Forschungsvorhaben „Klinisches Netzwerk Neuroborreliose“ (KNN)

- mein Einverständnis zur Asservierung von meinen zu diagnostischen Zwecken entnommen Proben von Liquor cerebrospinalis (Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit), Blut und ggfs. Gewebe in pseudonymisierter Form durch die Biobank des KNN und zur Verwendung dieser Proben für Forschungszwecke.
- mein Einverständnis, dass die im Rahmen der Krankenversorgung erhobenen Untersuchungsbefunde in pseudonymisierter Form in der Datenbank des KNN gespeichert und für wissenschaftliche Auswertungen verwendet werden.
- mein Einverständnis, dass die Studienärzte des KNN im Rahmen des geschilderten Vorhabens mit mir telefonisch oder postalisch Kontakt aufnehmen dürfen, um weitere krankheitsbezogene Fragen zu besprechen, sich nach meinem Gesundheitszustand im Verlauf nach der akuten Erkrankung zu erkundigen oder mich über neue Forschungsvorhaben zu informieren.

Ich wurde von Frau/ Herrn _____, ärztlichem/wissenschaftlichem Mitarbeiter der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universitätsmedizin Mainz, mündlich und schriftlich über das Wesen, die Bedeutung, Tragweite und Risiken des oben geschilderten Vorhabens aufgeklärt.

Mir ist bekannt, dass meine Teilnahme freiwillig ist und ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich zurückziehen kann.

Ich bin bereit, an diesem wissenschaftlichen Forschungsvorhaben (KNN-Studie) teilzunehmen.

Ich möchte über aus diesem Forschungsvorhaben entstehende Veröffentlichungen informiert werden.

Einwilligungserklärung zur Datenverarbeitung:

Mir ist bekannt, dass im Rahmen dieses Forschungsvorhabens personenbezogene Daten erhoben und in pseudonymisierter (verschlüsselter) Form aufgezeichnet, gespeichert und ausgewertet werden. Die Datenspeicherzeit beträgt mindestens 10 Jahre. Die Pseudonymisierung erfolgt mittels der Studiensoftware secuTrial®. Dabei werden keine personenbezogenen Daten über das Internet übermittelt, sondern lediglich im Browser meines betreuenden Studienarztes verarbeitet. Die Rückverfolgung des Pseudonyms auf meine Person ist nur der/dem mich betreuenden Studienärztin/Studienarzt und der/dem Studienleiter/-in meines Studienzentrums erlaubt. Ich stimme daher der Aufbewahrung meiner personenbezogenen Daten in einer studienspezifischen Patientenakte bzw. einem Studienordner zu, dieser wird in einem abschließbaren Schrank und Raum des Studienzentrums aufbewahrt. **Die personenbezogenen Daten werden nicht an Dritte weitergegeben. Die Studienergebnisse dürfen in anonymisierter Form veröffentlicht werden. Ich weiß, dass ich mein Einverständnis zur Studienteilnahme jederzeit widerrufen kann. Im Falle des Widerrufs werden alle personenbezogenen Daten gelöscht und meine in der Biomaterialbank gelagerten Proben vernichtet. Die bis zu einem möglichen Widerruf erhobenen, ausgewerteten oder veröffentlichten Daten sind nach Löschung meiner personenbezogenen Daten anonymisiert und können nicht zurückgezogen werden.**

Göttingen, den _____,

Unterschrift der/des Teilnehmerin/Teilnehmers

Hiermit erkläre ich, den/die o.g. Teilnehmer/in am _____ über Wesen, Bedeutung, Tragweite und Risiken des o.g. Vorhabens mündlich und schriftlich aufgeklärt und ihm/ihr eine Kopie dieser Einwilligungserklärung übergeben zu haben.

Göttingen, den _____,

Unterschrift der/des aufklärenden Ärztin/Arztes

6.2 Einverständniserklärung für Kontrollpatientinnen und Kontrollpatienten

UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN **UMG**

Zentrum Neurologische Medizin
Klinik für Neurologie
Direktor: Prof. Dr. M. Bähr
 Ärztliche Leitung
 Prof. Dr. M. Bähr

37099 Göttingen Briefpost
 Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen Adresse
 0551 / 39-9889 Telefon
 0551 / 39-8405 Fax
 ioanna.giotaki@med.uni-goettingen.de E-Mail



**Klinisches Netzwerk
 Neuroborreliose**

Registerstudie mit Aufbau einer klinischen Datenbank und Biobank zur Verbesserung der Patientenversorgung und zur Erforschung epidemiologischer, diagnostischer, therapeutischer und prognostischer Aspekte der Neuroborreliose

Einverständniserklärung für Kontrollpatientinnen und Kontrollpatienten

Hiermit erkläre ich (bitte ausfüllen oder Patientenetikett),

Name : _____

Vorname : _____

Geburtsname : _____

Geboren am : _____

Wohnhaft in : _____

freiwillig nach ausführlicher Aufklärung und Erhalt der schriftlichen Informationen zu dem Forschungsvorhaben „Klinisches Netzwerk Neuroborreliose“ (KNN)

- mein Einverständnis zur Asservierung von meinen zu diagnostischen Zwecken entnommen Proben von Liquor cerebrospinalis (Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit), Blut und ggfs. Gewebe in pseudonymisierter Form durch die Biobank des KNN und zur Verwendung dieser Proben für Forschungszwecke.
- mein Einverständnis, dass die im Rahmen der Krankenversorgung erhobenen Untersuchungsbefunde in pseudonymisierter Form in der Datenbank des KNN gespeichert und für wissenschaftliche Auswertungen verwendet werden.
- mein Einverständnis, dass die Studienärzte des KNN im Rahmen des geschilderten Vorhabens mit mir telefonisch oder postalisch Kontakt aufnehmen dürfen, um weitere krankheitsbezogene Fragen zu besprechen, sich nach meinem Gesundheitszustand im Verlauf nach der akuten Erkrankung zu erkundigen oder mich über neue Forschungsvorhaben zu informieren.

Ich wurde von Frau/ Herrn _____, ärztlichem/wissenschaftlichem Mitarbeiter der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universitätsmedizin Mainz, mündlich und schriftlich über das Wesen, die Bedeutung, Tragweite und Risiken des oben geschilderten Vorhabens aufgeklärt.

Mir ist bekannt, dass meine Teilnahme freiwillig ist und ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich zurückziehen kann.

Ich bin bereit, an diesem wissenschaftlichen Forschungsvorhaben (KNN-Studie) teilzunehmen.

Ich möchte über aus diesem Forschungsvorhaben entstehende Veröffentlichungen informiert werden.

Einwilligungserklärung zur Datenverarbeitung:

Mir ist bekannt, dass im Rahmen dieses Forschungsvorhabens personenbezogene Daten erhoben und in pseudonymisierter (verschlüsselter) Form aufgezeichnet, gespeichert und ausgewertet werden. Die Datenspeicherzeit beträgt mindestens 10 Jahre. Die Pseudonymisierung erfolgt mittels der Studiensoftware secuTrial®. Dabei werden personenbezogene Daten nicht über das Internet übermittelt, sondern lediglich im Browser meines betreuenden Studienarztes verarbeitet. Die Rückverfolgung des Pseudonyms auf meine Person ist nur der/dem mich betreuenden Studienärztin/Studienarzt und der/dem Studienleiter/-in meines Studienzentrums erlaubt. Ich stimme daher der Aufbewahrung meiner personenbezogenen Daten in einer studienspezifischen Patientenakte bzw. einem Studienordner zu, dieser wird in einem abschließbaren Schrank und Raum des Studienzentrums aufbewahrt. **Die personenbezogenen Daten werden nicht an Dritte weitergegeben. Die Studienergebnisse dürfen in anonymisierter Form veröffentlicht werden. Ich weiß, dass ich mein Einverständnis zur Studienteilnahme jederzeit widerrufen kann. Im Falle des Widerrufs werden alle personenbezogenen Daten gelöscht und meine in der Biomaterialbank gelagerten Proben vernichtet. Die bis zu einem möglichen Widerruf erhobenen, ausgewerteten oder veröffentlichten Daten sind nach Löschung meiner personenbezogenen Daten anonymisiert und können nicht zurückgezogen werden.**

Göttingen, den _____,

Unterschrift der/des Teilnehmerin/Teilnehmers

Hiermit erkläre ich, den/die o.g. Teilnehmer/in am _____ über Wesen, Bedeutung, Tragweite und Risiken des o.g. Vorhabens mündlich und schriftlich aufgeklärt und ihm/ihr eine Kopie dieser Einwilligungserklärung übergeben zu haben.

Göttingen, den _____,

Unterschrift der/des aufklärenden Ärztin/Arztes

6.3 Informationsschrift für Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf Neuroborreliose

UNIVERSITÄTSMEDIZIN
GÖTTINGEN **UMG**

Zentrum Neurologische Medizin
Klinik für Neurologie
Direktor: Prof. Dr. M. Bähr
Ärztliche Leitung
Prof. Dr. M. Bähr

37099 Göttingen Briefpost
Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen Adresse
0551 / 39-9889 Telefon
0551 / 39-8405 Fax
ioanna.giotaki@med.uni-goettingen.de E-Mail



Klinisches Netzwerk
Neuroborreliose

Registerstudie mit Aufbau einer klinischen Datenbank und Biobank zur Verbesserung der Patientenversorgung und zur Erforschung epidemiologischer, diagnostischer, therapeutischer und prognostischer Aspekte der Neuroborreliose

Informationsschrift für Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf Neuroborreliose

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Bei Ihnen wurde aufgrund Ihrer Beschwerden und der Laborbefunde der Verdacht auf eine Neuroborreliose gestellt. Bei einer Neuroborreliose handelt es sich um eine durch Zecken übertragene Infektion mit dem Bakterium *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Ein Stich durch eine erregerehaltige Zecke kann in einem Teil der Fälle (nicht in allen) zu einer Infektion verschiedener Organe des Körpers führen mit Entzündungen von Haut, Nervensystem, Gelenken, selten auch Herz und Augen. Sollte diese Verdachtsdiagnose zutreffen, handelt sich um eine in der Regel gut zu behandelnde Infektion. Nach Leitlinien-gerechter antibiotischer Behandlung bildet sich der Großteil der Beschwerden zurück, anhaltende Folgen dieser Erkrankung sind selten.

Ihre behandelnde Ärztin/Ihr behandelnder Arzt hat mit Ihnen über diese Verdachtsdiagnose gesprochen und über die weiteren sinnvollen diagnostischen Schritte zur Sicherung oder zum Ausschluss einer Neuroborreliose sowie die weitere Behandlung.

Trotz der insgesamt guten Prognose einer Neuroborreliose besteht eine weit verbreitete Verunsicherung über die Erkrankungswahrscheinlichkeit nach Zeckenstich, die optimale Therapie, das Risiko bleibender gesundheitlicher Schäden und die Sicherheit und Glaubwürdigkeit der Diagnoseverfahren. Daher haben sich Kliniker und Labormediziner, die in der Behandlung dieser Infektion erfahren sind, zu einem Netzwerk zusammengefunden, um die klinischen Verläufe ihrer Patienten und die Ergebnisse der diagnostischen Methoden systematisch zu dokumentieren und zusammenzuführen. Auf dieser Basis sollen Erkenntnisse gewonnen werden, die eine Verbesserung der Versorgung von Neuroborreliose-Patienten erlauben. Dieses Netzwerk wird gemeinsam koordiniert von Frau PD Dr. Annette Spreer (Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universitätsmedizin Mainz, Sprecherin des „Klinischen Netzwerks Neuroborreliose“, KNN), Herrn Dr. Volker Fingerle (Leiter des Nationalen Referenzzentrums für Borrelien, München-Oberschleißheim) und Herrn Prof. Dr. Klaus Stark (Robert-Koch-Institut Berlin, Fachgebietsleiter FG 35, Abteilung Infektionsepidemiologie).

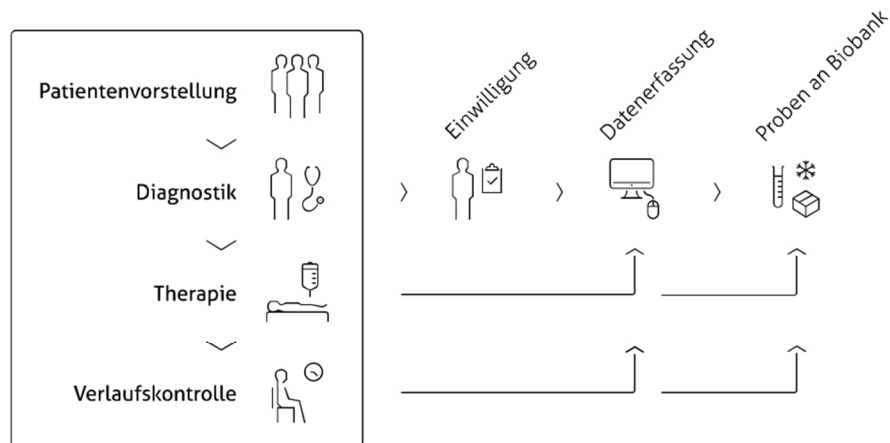
Im Rahmen dieses Netzwerks möchten wir Sie um Erlaubnis bitten

1. Ihren klinischen Verlauf (Angaben und Befunde aus Krankengeschichte und körperlicher Untersuchung, Symptome, Ergebnisse diagnostischer Verfahren, empfohlener und durchgeführter therapeutischer Maßnahmen und Kontrolluntersuchungen) zentral zu dokumentieren.
2. Reste von medizinischen Proben (Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit, Blut, Gewebe), die zu Zwecken der Krankenversorgung entnommen wurden und nach Abschluss der Untersuchungen nicht mehr benötigt werden, für Forschungszwecke zu verwenden.

Dies erfolgt nach Pseudonymisierung, so dass Ihre Identität nur den an Ihrer Behandlung beteiligten Personen und der/dem Studienleiter/-in an Ihrem Studienzentrum bekannt wird und nicht von Dritten eingesehen werden kann.

Darüberhinaus bitten wir um Ihre Erlaubnis

3. Sie telefonisch oder postalisch kontaktieren zu dürfen, um weitere krankheitsbezogene Fragen zu besprechen, uns nach ihrem Gesundheitszustand nach Genesung von der akuten Erkrankung zu erkundigen oder Sie über neue Forschungsvorhaben zu informieren.



Eine Teilnahme an dieser Studie ist mit keinem konkreten persönlichen Nutzen für Sie verbunden. Sie tragen mit einer Teilnahme jedoch dazu bei, zukünftig eine Verbesserung der Versorgung von Neuroborreliose-Patienten zu erzielen. Selbstverständlich steht es Ihnen frei, ohne weitere Begründung einzelne der an Sie gerichteten Bitten oder auch insgesamt abzulehnen, ohne dass dies Ihre Behandlung in irgendeiner Weise beeinträchtigen würde. Dies gilt auch, falls Sie sich später entschließen sollten eine erteilte Einwilligung zurückzunehmen.

Häufig gestellte Fragen

Welche Vorkehrungen zum Datenschutz werden getroffen?

Oberstes Prinzip für uns ist, dass Ihre Identität gewahrt ist. Kein unberechtigter Dritter darf Daten in Erfahrung bringen, die geeignet wären, Sie persönlich zu identifizieren.

Während der Studie werden medizinische Befunde und/oder persönliche Informationen von Ihnen erhoben und durch Ihren behandelnden Arzt in der Prüfstelle in Ihrer persönlichen Akte niedergeschrieben und/oder elektronisch gespeichert. Personenbezogenen Daten oder Informationen, die Rückschlüsse auf Ihre Person zulassen, werden nicht weitergegeben. Ihre Daten werden unter Berücksichtigung der Vorgaben der europäischen Datenschutz-Grundverordnung (DSGVO) erhoben, gespeichert und verarbeitet. Diese entnehmen Sie bitte dem zusätzlichen Informationsblatt.

Es ist jedoch erforderlich, dass es eine sichere Zuordnung zwischen den erhobenen Befunden, den gelagerten Proben und den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten einer Patientin/eines Patienten gewährleistet ist. Aus diesem Grund werden Ihre krankheitsbezogenen Daten und Biomaterial-Daten in pseudonymisierter Form in einer Datenbank erfasst und in pseudonymisierter Form ausgewertet.

Was ist Pseudonymisierung?

Pseudonymisierung bedeutet, dass anstelle der personenbezogenen Daten (Name, Geburtsdatum, Anschrift etc.) einer Person eine Kombination aus zufälligen Zahlen und Buchstaben – Pseudonym oder „Schlüssel“ – verwendet wird. Durch die Verwendung von Pseudonymen ist kein Rückschluss auf die Person möglich. Die Pseudonymisierung der personenbezogenen Daten erfolgt mittels der Studiensoftware secuTrial®. Dabei werden die personenbezogenen Daten nicht über das Internet übermittelt, sondern lediglich im Browser der/ des betreuenden Studienärztin/Studienarztes verarbeitet, welche/r die Pseudonymisierung vornimmt. Die Aufbewahrung der personenbezogenen Daten und des Pseudonyms erfolgt als Papierausdruck in einer studienspezifischen Patientenakte bzw. einem Studienordner in einem abschließbaren Schrank und Raum des Studienzentrums. Die Zuordnung zwischen Ihrem Pseudonym, den personenbezogenen Daten und den krankheitsbezogenen Daten ist lediglich der /dem betreuenden Studienärztin/Studienarzt und der/dem Studienleiter/-in Ihres Studienzentrums zugänglich. Auf Wunsch kann Ihnen das Pseudonym genannt werden, so dass Sie sich zur Rückverfolgung auch an die/den aktuelle Leiter/-in der KNN-Studie wenden können. Hierbei ist zur Identifizierung die Vorlage eines amtlichen Lichtbildausweises und des Studienausses mit dem Pseudonym notwendig.

Wie werden meine krankheitsbezogenen Daten und Biomaterial-Daten gespeichert?

Zur Wahrung Ihrer Identität werden Ihre medizinischen und Biomaterial-Daten im Rahmen der KNN-Studie in einer gesicherten Datenbanken in pseudonymisierter („verschlüsselter“) Form gespeichert. In dieser Datenbank werden die Teilnehmer nur durch ihr Pseudonym repräsentiert. Dort werden keine personenbezogenen Daten gespeichert. Die Datenbank wird im Rahmen einer Kooperation mit dem Forschungszentrum Translationale Neurowissenschaften (FTN) durch die CIO Central Information Office Marburg GmbH konfiguriert. Die Daten werden auf Servern der CIO Central Information Office Marburg GmbH gespeichert, welche für die Sicherheit des Datenbanksystems verantwortlich ist.

Wann und wie können die gelagerten Proben meiner Person zugeordnet werden?

Aus verschiedenen Gründen könnte es bedeutsam sein, dass Ihre gelagerten Proben Ihrer Person zugeordnet werden können. Dies könnte z.B. Ihr persönlicher oder medizinisch begründeter Wunsch sein, auf Ihre Proben zuzugreifen. So stünden die Proben beispielsweise zur Verfügung, wenn im Rahmen der Weiterentwicklung diagnostischer Möglichkeiten die Analytik Ihrer in der Biobank gelagerten Probe (soweit verfügbar) für Sie hilfreich in der Diagnostik oder Behandlung einer Erkrankung sein könnte.

Auch für den Fall, dass Sie sich später entschließen sollten, Ihre Einwilligung zur Lagerung der Proben zurückzunehmen, erlaubt die Pseudonymisierung Ihre Proben zu identifizieren. Bitte wenden Sie sich in diesen Fällen an Ihre Studienärztin/Ihren Studienarzt. Aufgrund der Pseudonymisierung ist es diesem und zur Sicherheit auch dem/der aktuelle Leiter/-in der KNN-Studie Ihres Studienzentrums möglich Ihr Pseudonym Ihrer Person zuzuordnen und somit eine Vernichtung Ihrer personenbezogenen Daten und Proben entsprechend Ihrem geäußerten Willen zu veranlassen.

In welcher Form werden Ergebnisse der KNN-Studie veröffentlicht?

Eine Veröffentlichung von Ergebnissen der Studie geschieht nur in anonymisierter Form. Nach Anonymisierung ist kein Rückschluss auf Ihre Identität als Patient mehr möglich. Entsprechend können einmal veröffentlichte Daten auch nicht zurückgezogen werden.

Welche krankheitsbezogenen Daten würden in der KNN-Studie erfasst?

In der medizinischen Datenbank der KNN-Studie werden grundsätzlich keine Daten übertragen oder erfasst, die geeignet wären, Sie persönlich zu identifizieren. Der Rückschluss auf Ihre Person ist nur über die Entschlüsselung des Pseudonyms möglich.

Zur Patientencharakterisierung erfassen wir:

- Ihr Pseudonym
- Ihr Alter bei Diagnosestellung
- Ihr Geschlecht

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung erfassen wir:

- Das Datum der Diagnosestellung
- Die Postleitzahl zur Charakterisierung der Region, in welcher der Zeckenbiss mutmaßlich erfolgte
- Bis zu dem Diagnosezeitpunkt evtl. aufgetretene Beschwerden oder klinische Zeichen
- Bis zu dem Diagnosezeitpunkt aufgrund dieser Beschwerden erfolgte Arztbesuche, Untersuchungen und Behandlungen
- Ergebnisse der Untersuchung von Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit, Blut und ggfs. Gewebe
- Ergebnisse anderer Zusatzuntersuchungen (z.B. Bildgebung, Elektrokardiogramm (EKG))

Zu den Zeitpunkten von Kontrolluntersuchungen erfassen wir:

- Änderung von Beschwerden und klinischen Zeichen seit dem letzten Untersuchungszeitpunkt
- Dauer und Art der durchgeführten Behandlung
- Ergebnisse der Untersuchung von Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit, Blut, Gewebe, falls durchgeführt
- Ergebnisse anderer Zusatzuntersuchungen, falls durchgeführt

Ihre behandelnde Ärztin/Ihr behandelnder Arzt zeigt Ihnen gerne eine vollständige Liste der erfassten Daten und erläutert Ihnen diese. Die erfassten Daten werden über eine gesicherte Leitung nach Pseudonymisierung in eine zentrale Datenbank eingegeben.

Wie würden meine Daten verwendet?

Aus den erfassten Daten erstellen wir regelmäßige Berichte über die Häufigkeit, die regionale Verteilung, die in diesem Zusammenhang beobachteten Beschwerden, klinische Zeichen, erfolgte Untersuchungen und Behandlungen der Neuroborreliose und den Behandlungserfolg. Wir analysieren die erhobenen Daten mit dem Ziel die Patientenversorgung und Güte der diagnostischen und therapeutischen Methoden zu verbessern. In den Veröffentlichungen sind keinerlei Informationen enthalten, die geeignet wären einzelne Personen zu identifizieren.

Wo würden meine Proben gelagert?

Im Rahmen des Netzwerks ist es wichtig, dass eingelagerte Proben intakt bleiben und jederzeit wiedergefunden werden können. Ihre Proben würden daher von Ihrer behandelnden Ärztin/Ihrem behandelnden Arzt nur mit dem Pseudonym („Schlüssel“) versehen entweder in Ihrem Studienzentrum aufbewahrt oder an die zentrale Probenbank der KNN versendet, die von der Leiterin/ dem Leiter der Biobank, aktuell von Frau PD Dr. A. Spreer (Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universitätsmedizin Mainz) betreut wird. Bitte fragen Sie Ihren Studienarzt nach dem Vorgehen in Ihrem Studienzentrum. Die Proben werden in speziellen Gefrierschränken gelagert, so dass sie für die Forschung verwendbar bleiben und jederzeit wiedergefunden werden können z.B. auch falls Sie sich entschließen sollten der Lagerung zu widersprechen. Die gelagerten Proben werden im Rahmen von Forschungsprojekten verwendet, die einem speziellen Begutachtungsverfahren unterliegen (s.u.).

Wie würden meine Proben verwendet?

Die gelagerten Proben dürfen verwendet werden, wenn eine Forschergruppe aus dem Netzwerk ein entsprechendes Projekt schriftlich (sog. Arbeitsplan) formuliert. Darin muss dargelegt werden, welche Daten und Probenmengen dazu und warum verwendet werden sollen. Dieser Arbeitsplan wird von einem dazu berufenen Gremium des KNN auf die fachliche Sinnhaftigkeit geprüft. Akzeptiert werden dabei nur Projekte, die in einem Zusammenhang mit der Borreliose stehen. In einem Überlassungsvertrag würde sichergestellt, dass Daten und Proben ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden dürfen und auch nicht weitergegeben werden. Vor der Freigabe der Proben und der Daten durch dieses Gremium muss zusätzlich das Votum einer für die Forschergruppe zuständigen Ethikkommission hinsichtlich der ethischen und rechtlichen Unbedenklichkeit vorgelegt werden. Die freigegebenen Probenteile und Daten werden nach dem Export aus der Datenbank durch die aktuelle Leiterin/ den aktuellen Leiter der KNN-Studie oder den/die jeweiligen Studienleiter/in Ihres Studienzentrums übermittelt.

Zu jedem Forschungsprojekt besteht eine Publikationspflicht, d.h. es muss ein Bericht erstellt werden, der in einer wissenschaftlichen Zeitschrift veröffentlicht wird. Wenn Sie Interesse haben, wird Ihre behandelnde Ärztin/Ihr behandelnder Arzt, Ihnen jeweils ein Exemplar davon zukommen lassen. Bitte machen Sie einen solchen Wunsch kenntlich, wenn Sie die Einverständniserklärung unterzeichnen.

Wer würde mit mir telefonisch oder postalisch Kontakt aufnehmen?

Ihre personenbezogenen Daten wie Adresse und Telefonnummer sind nur Ihrer behandelnden Ärztin/Ihrem behandelnden Arzt und dem Studienleiter Ihres Studienzentrums bekannt, so dass diese/dieser Sie anrufen oder Ihnen Post zusenden würden. Evtl. könnte diese/dieser eigene Mitarbeiter damit beauftragen, die ebenfalls der Schweigepflicht unterliegen.

Kann ich meine Einwilligung widerrufen?

Eine Rücknahme Ihrer Einwilligung zur Datenerfassung bzw. Probenlagerung ist jederzeit möglich und ohne irgendeine negative Folge auf Ihre weitere medizinische Versorgung. Wenden Sie sich dazu bitte an Ihre behandelnde Ärztin/Ihren behandelnden Arzt, den/die Studienleiter/-in Ihres Studienzentrums oder den/die aktuellen Leiter/-in der KNN-Studie. Ihre personenbezogenen Daten und Ihre Proben werden dann entsprechend Ihrem Willen gelöscht und vernichtet. Sie haben zudem das Recht auf Löschung Ihrer krankheitsbezogenen Daten. Bereits anonymisierte veröffentlichte Daten können nicht zurückgezogen werden. Sie erhalten über die Durchführung dieser Maßnahme(n) eine entsprechende Bescheinigung.

An wen kann ich mich wenden, wenn ich weitere Fragen habe?

Wenden Sie sich bitte mit weiteren Fragen zu diesem Forschungsvorhaben an Ihre behandelnde Ärztin/Ihren behandelnden Arzt. Gerne stehen Ihnen zudem die Organisatoren des Netzwerks für Rückfragen und Anregungen zur Verfügung.

Betreuende Ärztin/Arzt und KNN-Studienzentrum

Name und Anschrift Ärztin/Arzt u. Studienzentrum

Koordinatoren des „Klinischen Netzwerks Neuroborreliose“

PD Dr. med. Annette Spreer (Sprecherin)

Klinik und Poliklinik für Neurologie der
Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg Universität Mainz
Langenbeckstr. 1
55131 Mainz
E-Mail: annette.spreer@unimedizin-mainz.de

Dr. Volker Fingerle und Prof. Dr. Dr. Andreas Sing

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL)
Veterinärstraße 2
85764 Oberschleißheim
E-Mail: volker.fingerle@lgl.bayern.de; andreas.sing@lgl.bayern.de

Prof. Dr. Klaus Stark

Robert Koch-Institut - FG35
Seestraße 10
13353 Berlin
E-Mail: starkk@rki.de

Ähnliche Informationsschrift gab es auch separat für die Kontrollpatienten.

Anhang

6.4 Typischer Liquorbefund eines Patienten aus der Neurologischen Abteilung der UMG mit akuter Neuroborreliose

Liquor-Programm

Neurochemisches Labor der Neurologischen Klinik
 Universitätsmedizin Göttingen
 Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen, Tel. 0551/3966620
 Prof. Dr. med. I. Zerr, Prof. Dr. M. Weber
 Prof. Dr. med. M. Bähr
 Ausbildungslabor der DGLN

Einsender
Poli Neurologie

Tel.: 8403
Fax: 3910793

Patient
Musterpatient

Geburtsdatum: Geschlecht: **m**
 Alter: 17,8

Pkt.-datum: 05.09.2017 Eingangsdatum: 05.09.2017
 Pkt.-Uhrzeit: 15:25 Eingangszeit: 15:40

Arzt: _____

Differentialdiagnostische Fragestellung
Fazialisparese

Zellen **Lactat** 1,6 mmol/L

Zellzahl **256** /µl Ery 5 /µl

Lymphoz.: 77% Monoz.: 10% Granuloz.: neutr.: 1% eos.: % bas.: % Plasma-Z.: 12%

sonstige Zellen: 1 Mitose

Proteine CSF Serum Q(CSF/Ser)*10³ lokale Synthese (IF)

GEW **1566** mg/L

Albumin **1190** mg/L 47,6 g/L Q_{Alb} = 25,0

IgG **198** mg/L 10,8 g/L Q_{IgG} = 18,3 %

IgA **18,3** mg/L 1,1 g/L Q_{IgA} = 16,5 %

IgM **112** mg/L 1,1 g/L Q_{IgM} = 106,0 89 %

Oligoklonales IgG

Oligoklonales IgG CSF = **+** Oligoklonales IgG Ser = **Ø**

Spez. Antikörper (Synthese im ZNS: AI ≥ 1,5)

Masern-AI = 0,9 EBV-AI = TP-AI(IgG) =

Röteln-AI = N.N. CMV-AI = TP-AI(IgM) =

VZV-AI = 0,8 Borr-AI(IgG) = 15,4 FSME-AI(IgG) =

HSV-AI = N.N. Borr-AI(IgM) = 4,3 FSME-AI(IgM) =

Prozessmarker (Tumor, Demenz, neurodegenerative Erkrankungen etc.)

Punktion LP	Beschaffenheit	Hb
	klar	0

Beurteilung

Normaler Liquorbefund <input type="radio"/>	Normaler Liquorproteinbefund <input type="radio"/>
Schrankenfunktionsstörung <input checked="" type="checkbox"/>	Zellzahl erhöht <input checked="" type="checkbox"/>
Lactat erhöht <input type="radio"/>	Spez. AK-Synthese im ZNS <input checked="" type="checkbox"/>
Entzündlicher Prozess im ZNS <input checked="" type="checkbox"/>	Patholog. Demenz-/Destruktionsmarker <input type="radio"/>

Kommentare

Interpretation IEF: oligoklonale IgG-Banden im Liquor, nicht im Serum! (Typ 2).
 Intrathekale IgG-Synthese, entzündlicher Prozess im ZNS.
 Liquor wurde am 06.09.17 an die Mibi weitergeleitet.

+++ Im Liquor gemessene CXCL-13-Konzentration: 6763 pg/ml. +++
 Der CXCL-13-Wert wurde mit dem CE-zertifizierten ELISA-Kit der Firma Euroimmun bestimmt.
 Die Empfehlungen der Firma für die Bewertung:
 Normalbereich: < 26 pg/ml - Ausschluss Neuroborreliose
 Stark erhöht: > 100 pg/ml - bei entsprechender Klinik Verdacht auf akute Neuroborreliose

Vidiert am: 14.09.2017 19:08
 von: _____

7 Literaturverzeichnis

- Aboul-Enein F, Kristoferitsch W (2009): Normal pressure hydrocephalus or neuroborreliosis? *Wien Med Wochenschr* 159, 58–61
- Andersson M, Alvarez-Cermeño J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J, Fredrikson S, Gallo P, Grimaldi LM, Grønning M (1994): Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 57, 897–902
- Appelgren D, Enocsson H, Skogman BH, Nordberg M, Perander L, Nyman D, Nyberg C, Knopf J, Muñoz LE, Sjöwall C, Sjöwall J (2019): Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in the Cerebrospinal Fluid Samples from Children and Adults with Central Nervous System Infections. *Cells* 9
- Back T, Grünig S, Winter Y, Bodechtel U, Guthke K, Khati D, von Kummer R (2013): Neuroborreliosis-associated cerebral vasculitis: long-term outcome and health-related quality of life. *J Neurol* 260, 1569–1575
- Backman K, Skogman BH (2018): Occurrence of erythema migrans in children with Lyme neuroborreliosis and the association with clinical characteristics and outcome - a prospective cohort study. *BMC Pediatr* 18, 189
- Bannwarth A (1941): Chronische lymphocytäre Meningitis, entzündliche Polyneuritis und „Rheumatismus“. *Archiv f Psychiatrie* 113, 284–376
- Berglund J, Eitrem R, Ornstein K, Lindberg A, Ringér A, Elmrud H, Carlsson M, Runehagen A, Svanborg C, Norrby R (1995): An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. *N Engl J Med* 333, 1319–1327
- Berglund J, Stjernberg L, Ornstein K, Tykesson-Joelsson K, Walter H (2002): 5-y Follow-up study of patients with neuroborreliosis. *Scand J Infect Dis* 34, 421–425
- Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, Moher D, Rennie D, de Vet HCW, Lijmer JG, Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy Group (2003): The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. The Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy Group. *Croat Med J* 44, 639–650
- Bremell D, Mattsson N, Edsbagge M, Blennow K, Andreasson U, Wikkelso C, Zetterberg H, Hagberg L (2013): Cerebrospinal fluid CXCL13 in Lyme neuroborreliosis and asymptomatic HIV infection. *BMC Neurol* 13, 2
- Castaldo JE, Griffith E, Monkowski DH (2008): Pseudotumor cerebri: early manifestation of adult Lyme disease. *Am J Med* 121, e5-6
- Cepok S, Zhou D, Vogel F, Rosche B, Grummel V, Sommer N, Hemmer B (2003): The immune response at onset and during recovery from *Borrelia burgdorferi* meningoradiculitis. *Arch Neurol* 60, 849–855
- Christen HJ, Hanefeld F, Eiffert H, Thomssen R (1993): Epidemiology and clinical manifestations of Lyme borreliosis in childhood. A prospective multicentre study with special regard to neuroborreliosis. *Acta Paediatr Suppl* 386, 1–75
- Crippa M, Rais O, Gern L (2002): Investigations on the mode and dynamics of transmission and infectivity of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2, 3–9

Literatur

- Danek A, Uttner I, Yoursry T, Pfister HW (1996): Lyme neuroborreliosis disguised as normal pressure hydrocephalus. *Neurology* 46, 1743–1745
- DGN Leitlinien für Neuroborreliose - Deutsche Gesellschaft für Neurologie e. V. <https://dgn.org/leitlinien/II-030-071-2018-neuroborreliose/>; Zugriff am 28.11.2020
- de Almeida SM, Furlan SMP, Cretella AMM, Lapinski B, Nogueira K, Cogo LL, Vidal LRR, Nogueira MB (2020): Comparison of Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Differential Diagnosis of Acute Bacterial and Viral Meningitis with Atypical Cerebrospinal Fluid Characteristics. *Med Princ Pract* 29, 244–254
- Dersch R, Hottenrott T, Senel M, Lehmsiek V, Tumani H, Rauer S, Stich O (2015): The chemokine CXCL13 is elevated in the cerebrospinal fluid of patients with neurosyphilis. *Fluids Barriers CNS* 12, 12
- Djukic M, Schmidt-Samoa C, Lange P, Spreer A, Neubieser K, Eiffert H, Nau R, Schmidt H (2012): Cerebrospinal fluid findings in adults with acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol* 259, 630–636
- Etienne M, Carvalho P, Fauchais A-L, Pestel-Caron M, Doucet J, Chassagne P (2003): Lyme neuroborreliosis revealed as a normal pressure hydrocephalus: a cause of reversible dementia. *J Am Geriatr Soc* 51, 579–580
- Fingerle V, Schulte-Spechtel UC, Ruzic-Sabljić E, Leonhard S, Hofmann H, Weber K, Pfister K, Strle F, Wilske B (2008): Epidemiological aspects and molecular characterization of *Borrelia burgdorferi* s.l. from southern Germany with special respect to the new species *Borrelia spielmanii* sp. nov. *Int J Med Microbiol* 298, 279–290
- Fingerle V, Eiffert H, Gessner A, Göbel UB, Hoffmann H, Hunfeld KP, Krause A, Pfister HW, Reischl U, Sing A: Lyme-Borreliose. In: Podbielski A, Abele-Horn M, Becker K, Herrmann M, Kniehl E, Mauch H, Rüssmann H (Hrsg.): *MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik*. 2. Auflage; Elsevier, Urban&Fischer, München-Jena 2017, Kapitel 4
- Garcia-Monco JC (1995): [Pathomechanisms of neuroborreliosis]. *Wien Med Wochenschr* 145, 174–177
- Garkowski A, Zajkowska J, Zajkowska A, Kułakowska A, Zajkowska O, Kubas B, Jurgilewicz D, Hładuński M, Lebkowska U (2017): Cerebrovascular Manifestations of Lyme Neuroborreliosis-A Systematic Review of Published Cases. *Front Neurol* 8, 146
- Gaudin RA, Jowett N, Banks CA, Knox CJ, Hadlock TA (2016): Bilateral Facial Paralysis: A 13-Year Experience. *Plast Reconstr Surg* 138, 879–887
- Greenberg HE, Ney G, Scharf SM, Ravdin L, Hilton E (1995): Sleep quality in Lyme disease. *Sleep* 18, 912–916
- Gustafson R, Svenungsson B, Forsgren M, Gardulf A, Granström M (1992): Two-year survey of the incidence of Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis in a high-risk population in Sweden. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 11, 894–900
- Hammers-Berggren S, Hansen K, Lebech AM, Karlsson M (1993): *Borrelia burgdorferi*-specific intrathecal antibody production in neuroborreliosis: a follow-up study. *Neurology* 43, 169–175
- Hansen K, Lebech AM (1992): The clinical and epidemiological profile of Lyme neuroborreliosis in Denmark 1985-1990. A prospective study of 187 patients with *Borrelia burgdorferi* specific intrathecal antibody production. *Brain* 115 (Pt 2), 399–423

Literatur

- Härtel C, Schilling S, Neppert B, Tiemer B, Sperner J (2002): Intracranial hypertension in neuroborreliosis. *Developmental Medicine & Child Neurology* 44, 641–642
- Heininger U, Zimmermann T, Schoerner C, Brade V, Stehr K (1993): Zeckenstich und Lyme-Borreliose: Eine epidemiologische Untersuchung im Raum Erlangen. *Mon.schr Kinderheilkd* 141, 874–877
- Henningsson AJ, Lager M, Brännström R, Tjernberg I, Skogman BH (2018): The chemokine CXCL13 in cerebrospinal fluid in children with Lyme neuroborreliosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 37, 1983–1991
- https://www.euroimmun.de/documents/Indications/Infections/CSF-diagnostics/EQ_6811_D_DE_A.pdf; Zugriff am 22.02.2021
- Huppertz HI, Böhme M, Standaert SM, Karch H, Plotkin SA (1999): Incidence of Lyme borreliosis in the Würzburg region of Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18, 697–703
- Hytönen J, Kortela E, Waris M, Puustinen J, Salo J, Oksi J (2014): CXCL13 and neopterin concentrations in cerebrospinal fluid of patients with Lyme neuroborreliosis and other diseases that cause neuroinflammation. *J Neuroinflammation* 11, 103
- Kaiser R (2000): False-negative serology in patients with neuroborreliosis and the value of employing of different borrelial strains in serological assays. *J Med Microbiol* 49, 911–915
- Kalish RA, McHugh G, Granquist J, Shea B, Ruthazer R, Steere AC (2001): Persistence of immunoglobulin M or immunoglobulin G antibody responses to *Borrelia burgdorferi* 10–20 years after active Lyme disease. *Clin Infect Dis* 33, 780–785
- Karkkonen K, Stiernstedt SH, Karlsson M (2001): Follow-up of patients treated with oral doxycycline for Lyme neuroborreliosis. *Scand J Infect Dis* 33, 259–262
- Kleine TO, Baerlocher K, Niederer V, Keller H, Reutter F, Tritschler W, Bablok W (1979): [Diagnostic significance of lactate concentration in CSF in patients with meningitis (author's transl)]. *Dtsch Med Wochenschr* 104, 553–557
- Koedel U, Fingerle V, Pfister H-W (2015): Lyme neuroborreliosis-epidemiology, diagnosis and management. *Nat Rev Neurol* 11, 446–456
- Krawczuk K, Czupryna P, Pancewicz S, Ołdak E, Król M, Moniuszko-Malinowska A (2020): Comparison of Neuroborreliosis Between Children and Adults. *Pediatr Infect Dis J* 39, 7–11
- Krüger H, Reuss K, Pulz M, Rohrbach E, Pflughaupt KW, Martin R, Mertens HG (1989): Meningoradiculitis and encephalomyelitis due to *Borrelia burgdorferi*: a follow-up study of 72 patients over 27 years. *J Neurol* 236, 322–328
- Laroche C, Lienhardt A, Boulesteix J (1999): [Ischemic stroke caused by neuroborreliosis]. *Arch Pediatr* 6, 1302–1305
- Leitlinie Neuroborreliose, s. DGN-Leitlinien 2018
- Lindland ES, Solheim AM, Andreassen S, Quist-Paulsen E, Eikeland R, Ljøstad U, Mygland Å, Elsaís A, Nygaard GO, Lorentzen ÅR, et al. (2018): Imaging in Lyme neuroborreliosis. *Insights Imaging* 9, 833–844
- Ljøstad U, Mygland Å (2008): CSF B-lymphocyte chemoattractant (CXCL13) in the early diagnosis of acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol* 255, 782

Literatur

- Ljøstad U, Skarpaas T, Mygland A (2007): Clinical usefulness of intrathecal antibody testing in acute Lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol* 14, 873–876
- Ljøstad U, Skogvoll E, Eikeland R, Midgard R, Skarpaas T, Berg A, Mygland A (2008): Oral doxycycline versus intravenous ceftriaxone for European Lyme neuroborreliosis: a multicentre, non-inferiority, double-blind, randomised trial. *Lancet Neurol* 7, 690–695
- Maiwald M, Oehme R, March O, Petney TN, Kimmig P, Naser K, Zappe HA, Hassler D, von Knebel Doeberitz M (1998): Transmission risk of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from *Ixodes ricinus* ticks to humans in southwest Germany. *Epidemiol Infect* 121, 103–108
- MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. <https://shop.elsevier.de/miq-qualitaetsstandards-in-der-mikrobiologisch-infektiologischen-diagnostik-9783437415708.html>; Zugriff am 28.11.2020
- Müller I, Freitag MH, Poggensee G, Scharnetzky E, Straube E, Schoerner C, Hlobil H, Hagedorn H-J, Stanek G, Schubert-Unkmeir A, et al. (2012): Evaluating frequency, diagnostic quality, and cost of Lyme borreliosis testing in Germany: a retrospective model analysis. *Clin Dev Immunol* 2012, 595427
- Mygland Å, Ljøstad U, Fingerle V, Rupprecht T, Schmutzhard E, Steiner I (2010): EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *European Journal of Neurology* 17, 8-e4
- Nau R, Christen H-J, Eiffert H (2009): Lyme disease--current state of knowledge. *Dtsch Arztebl Int* 106, 72–81; quiz 82, I
- Nord JA, Karter D (2003): Lyme disease complicated with pseudotumor cerebri. *Clin Infect Dis* 37, e25-26
- Nordberg CL, Bodilsen J, Knudtzen FC, Storgaard M, Brandt C, Wiese L, Hansen BR, Andersen ÅB, Nielsen H, Lebech A-M, DASGIB study group (2020): Lyme neuroborreliosis in adults: A nationwide prospective cohort study. *Ticks Tick Borne Dis* 11, 101411
- Oksi J, Kalimo H, Marttila RJ, Marjamäki M, Sonninen P, Nikoskelainen J, Viljanen MK (1996): Inflammatory brain changes in Lyme borreliosis. A report on three patients and review of literature. *Brain* 119 (Pt 6), 2143–2154
- Oschmann P, Dorndorf W, Hornig C, Schäfer C, Wellensiek HJ, Pflughaupt KW (1998): Stages and syndromes of neuroborreliosis. *J Neurol* 245, 262–272
- Parish JM (2009): Sleep-related problems in common medical conditions. *Chest* 135, 563–572
- Petersen BB, Møller JK, Vilholm OJ (2015): Season is an unreliable predictor of Lyme neuroborreliosis. *Dan Med J* 62
- Pícha D, Moravcová L, Smíšková D (2016): Prospective study on the chemokine CXCL13 in neuroborreliosis and other aseptic neuroinfections. *J Neurol Sci* 368, 214–220
- Pilz G, Wipfler P, Otto F, Hitzl W, Afazel S, Haschke-Becher E, Trinkla E, Harrer A (2019): Cerebrospinal fluid CXCL13 indicates disease course in neuroinfection: an observational study. *J Neuroinflammation* 16, 13
- Ramgopal S, Obeid R, Zuccoli G, Cleves-Bayon C, Nowalk A (2016): Lyme disease-related intracranial hypertension in children: clinical and imaging findings. *J Neurol* 263, 500–507

Literatur

- Rasley A, Anguita J, Marriott I (2002): *Borrelia burgdorferi* induces inflammatory mediator production by murine microglia. *J Neuroimmunol* 130, 22–31
- Rauer S., Kastenbauer S. et al., Neuroborreliose, S3-Leitlinie, 2018; in: Deutsche Gesellschaft für Neurologie (Hrsg.), Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Online: www.dgn.org/leitlinien; Zugriff am 28.11.2020
- Reiber H (1994): Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF)--a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci* 122, 189–203
- Reiber H: A.4 Blut-Liquor-Schrankenfunktion und Liquorfluß. De Gruyter 2005
- Reik L, Steere AC, Bartenhagen NH, Shope RE, Malawista SE (1979): Neurologic abnormalities of Lyme disease. *Medicine (Baltimore)* 58, 281–294
- Remy MM, Schöbi N, Kottanattu L, Pfister S, Duppenhaler A, Suter-Riniker F (2017): Cerebrospinal fluid CXCL13 as a diagnostic marker of neuroborreliosis in children: a retrospective case-control study. *Journal of Neuroinflammation* 14, 173
- RKI - RKI-Ratgeber - RKI-Ratgeber. https://www.rki.de/nn_466802/DE/Content/Infekt/Epi-dBull/Merkblaetter/Ratgeber; Zugriff am 28.11.2020
- Rock RB, Gekker G, Hu S, Sheng WS, Cheeran M, Lokensgard JR, Peterson PK (2004): Role of microglia in central nervous system infections. *Clin Microbiol Rev* 17, 942–964, table of contents
- Rupprecht TA, Pfister HW, Angele B, Kastenbauer S, Wilske B, Koedel U (2005): The chemokine CXCL13 (BLC): a putative diagnostic marker for neuroborreliosis. *Neurology* 65, 448–450
- Rupprecht TA, Kirschning CJ, Popp B, Kastenbauer S, Fingerle V, Pfister H-W, Koedel U (2007): *Borrelia garinii* induces CXCL13 production in human monocytes through Toll-like receptor 2. *Infect Immun* 75, 4351–4356
- Rupprecht TA, Koedel U, Fingerle V, Pfister H-W (2008): The pathogenesis of lyme neuroborreliosis: from infection to inflammation. *Mol Med* 14, 205–212
- Rupprecht TA, Plate A, Adam M, Wick M, Kastenbauer S, Schmidt C, Klein M, Pfister H-W, Koedel U (2009): The chemokine CXCL13 is a key regulator of B cell recruitment to the cerebrospinal fluid in acute Lyme neuroborreliosis. *J Neuroinflammation* 6, 42
- Rupprecht TA, Lechner C, Tumani H, Fingerle V (2014): [CXCL13: a biomarker for acute Lyme neuroborreliosis: investigation of the predictive value in the clinical routine]. *Nervenarzt* 85, 459–464
- Schmidt C, Plate A, Angele B, Pfister H-W, Wick M, Koedel U, Rupprecht TA (2011): A prospective study on the role of CXCL13 in Lyme neuroborreliosis. *Neurology* 76, 1051–1058
- Schmiedel J, Gahn G, von Kummer R, Reichmann H (2004): Cerebral vasculitis with multiple infarcts caused by lyme disease. *Cerebrovasc Dis* 17, 79–81
- Schwenkenbecher P, Pul R, Wurster U, Conzen J, Pars K, Hartmann H, Sühs K-W, Sedlacek L, Stangel M, Trebst C, Skripuletz T (2017): Common and uncommon neurological manifestations of neuroborreliosis leading to hospitalization. *BMC Infect Dis* 17, 90
- Sellebjerg F, Börnsen L, Khademi M, Krakauer M, Olsson T, Frederiksen JL, Sørensen PS (2009): Increased cerebrospinal fluid concentrations of the chemokine CXCL13 in active MS. *Neurology* 73, 2003–2010

Literatur

- Senel M, Rupprecht TA, Tumani H, Pfister HW, Ludolph AC, Brettschneider J (2010): The chemokine CXCL13 in acute neuroborreliosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81, 929–933
- SERION ELISA classic - Borrelia burgdorferi | SERION Diagnostics. <https://www.serion-diagnostics.de/produkte/serion-elisa-classic-antigen/borrelia-burgdorferi/>; Zugriff am 29.11.2020
- Sillanpää H, Skogman BH, Sarvas H, Seppälä IJT, Lahdenne P (2013): Cerebrospinal fluid chemokine CXCL13 in the diagnosis of neuroborreliosis in children. *Scand J Infect Dis* 45, 526–530
- Steere AC, McHugh G, Damle N, Sikand VK (2008): Prospective study of serologic tests for Lyme disease. *Clin Infect Dis* 47, 188–195
- Steere AC, Strle F, Wormser GP, Hu LT, Branda JA, Hovius JWR, Li X, Mead PS (2016): Lyme borreliosis. *Nat Rev Dis Primers* 2, 16090
- Tjernberg I, Henningsson AJ, Eliasson I, Forsberg P, Ernerudh J (2011): Diagnostic performance of cerebrospinal fluid chemokine CXCL13 and antibodies to the C6-peptide in Lyme neuroborreliosis. *J Infect* 62, 149–158
- Trendelenburg C (1994): Labormedizinische Spezialbefundung und ärztliche Verantwortung. *Journal of Laboratory Medicine* 18, 545–551
- Tumani H, Nölker G, Reiber H (1995): Relevance of cerebrospinal fluid variables for early diagnosis of neuroborreliosis. *Neurology* 45, 1663–1670
- Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Scheld WM, Whitley RJ (2004): Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 39, 1267–1284
- van Burgel ND, Bakels F, Kroes ACM, van Dam AP (2011): Discriminating Lyme neuroborreliosis from other neuroinflammatory diseases by levels of CXCL13 in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 49, 2027–2030
- Wagner JN, Weis S, Kubasta C, Panholzer J, von Oertzen TJ (2018): CXCL13 as a diagnostic marker of neuroborreliosis and other neuroinflammatory disorders in an unselected group of patients. *J Neurol* 265, 74–81
- Wildemann B, Oschmann P, Reiber H: *Neurologische Labordiagnostik*. Thieme, Stuttgart 2006, 5–8, 24, 27–28, 36–37, 46, 57, 266
- Wilke M, Eiffert H, Christen HJ, Hanefeld F (2000): Primarily chronic and cerebrovascular course of Lyme neuroborreliosis: case reports and literature review. *Arch Dis Child* 83, 67–71
- Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klempner MS, Krause PJ, Bakken JS, Strle F, Stanek G, et al. (2006): The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 43, 1089–1134
- Wutte N, Berghold A, Löffler S, Zenz W, Daghofer E, Krainberger I, Kleinert G, Aberer E (2011): CXCL13 chemokine in pediatric and adult neuroborreliosis. *Acta Neurol Scand* 124, 321–328

Danksagung

Danksagung

Ich bedanke mich bei Frau PD Dr. med. A. Spreer für das Ermöglichen der Durchführung der hier vorliegenden Arbeit sowie für die Betreuung und die Unterstützung.

Danken möchte ich auch besonders Lange Peter. Ohne seine stetige Unterstützung im labormedizinischen Bereich wäre diese Arbeit nicht möglich.

Lebenslauf

Lebenslauf

Am 22.06.1985 wurde ich, Ioanna Giotaki, in Athen (Griechenland) geboren. Die Grundschule besuchte ich in einem kleinen Dorf (Kappa) in der Region von Karditsa. Von der sechsten bis zur elften Klasse ging ich in eine griechische Schule in Nürnberg (Deutschland), da mein Vater in den Neunzigerjahren als Schulleiter im griechischen Lyzeum in Nürnberg tätig war. So habe ich mich schon als Kind für die deutsche Sprache und Kultur interessiert. Nach der Rückkehr meiner Familie nach Griechenland beendete ich in 2003 in Athen mit dem griechischen Abitur meine Schullaufbahn. Im September 2003 begann ich das Medizinstudium in der Nationalen und Kapodistrias-Universität von Athen, welches ich im Jahr 2010 mit der Note 'sehr gut' absolvierte.

Nach medizinischer Erfahrung im Bereich der Allgemeinmedizin sowie der Neurologie in Kliniken in Griechenland kam ich im Jahr 2014 nach Deutschland, um mich weiter zur Neurologischen Fachärztin ausbilden zu lassen. Seit Mai 2014 bin ich als Assistenzärztin und seit Juli 2022 als Fachärztin in der Abteilung für Neurologie (Leiter der Abteilung: Prof. Dr. med. M. Bähr) in der Universitätsmedizin Göttingen tätig. Zusätzlich zu meinen anderen Aufgaben arbeite ich seit 2015 kontinuierlich in der Ambulanz für Neuroborreliose und andere ZNS-Infektionen mit. Da ich mich sehr für die Liquordiagnostik interessiere, ist die Mitarbeit im Neurochemischen Labor der Neurologischen Klinik ein weiterer Schwerpunkt meiner Tätigkeit. Als Mitglied der Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und Neurochemie erwarb ich im Jahr 2018 nach erfolgreich bestandener Prüfung das klinische Liquorzertifikat. Ich habe mit Posterpräsentationen die Klinik auf zahlreichen Kongressen/Veranstaltungen vertreten. In der Studentischen Ausbildung unterrichtete ich in Zusammenarbeit mit anderen Dozenten seit 2017 das ‚Wahlfach Liquordiagnostik‘.