

Vorstellung eines einfachen Direktnachweisverfahren einer Borrelia burgdorferi Infektion in allen Stadien der Lyme Borreliose am Urin des Patienten

Vorgestellt von A. Hartwig / AH (10/2024) - Der Autor erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit, da die Wissenschaft ein fortlaufender Prozess ist und der Autor auch etwas übersehen haben kann. Aus vorgenannten Grund sind alle Angaben ohne Gewähr. Der Autor erklärt keine finanziellen Interessen an Galaxy Diagnostics Inc., Valneva und Pfizer zu haben und wurden nicht von privaten oder öffentlichen Quellen mit der Erstellung dieses Flyers beauftragt, dies geschah ehrenamtlich im Sinne des Patientenwohls.

Bei diesem Direktnachweisverfahren von Borrelia sensu stricto und sensu lato (kurz: B.b. s.s. u. B.b. s.l.) am Urin des Patienten handelt es sich um den sogenannten "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" der Firma Galaxy Diagnostics [1]. Meine Frage, hat der "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" das Zeug dazu sich als "Goldstandard" in der Labordiagnostik zu etablieren, um die bisher unbefriedigenden indirekten Testverfahren (1. Stufe sog. Suchtest: ELISA, IIFT, ChLIH etc. / 2. Stufe sog. Bestätigungstest: Immuno- bzw. Western-Blot etc.) als Standardtests abzulösen? Auch galten bisher Antigennachweise (sog. Erreger-Direktnachweis u.a. am Urin) als unbefriedigend, da zu unsensibel [2], dies stellt der sog. "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" wahrscheinlich alles auf den Kopf. **Durch die sog. Nanotrap-Technologie wird eine bis zu 10.000-fach höhere Sensibilität des direkten Antigen-Nachweis am Urin erreicht [1].**

Der "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" sollte nach meinen Recherchen bei folgenden Borrelia-Spezies ein recht sicheres Ergebnis zeigen: B. burgdorferi s.s., B. afzelii, B. bavariensis (außer einen 2024 neu identifizierter asiatischen B. bavariensis Stamm), B. garinii (auch die 2024 zwei neu identifizierten asiatischen Stämme), B. spielmanii, B. mayonii, B. valaisiana, B. turdi und B. yangtzensis.

Erstes Fazit: Der "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" sollte in Deutschland für die klinische Verdachtsdiagnose (Lyme-)Borreliose als einfach am Urin durchzuführender Bestätigungs-Test bestens geeignet sein, zumal es sich um einen Direktnachweis handelt. Allerdings muss ich an dieser Stelle anmerken, dass ich beim Sichten der Literatur, Datenbanken und Patente dbzgl. ggf. kleine Einschränkungen machen muss - siehe hier zu unten unter „Anmerkung 4 von AH, Abs. 2“.

Für ganz Europa kann der Test sicherlich nicht uneingeschränkt empfohlen werden, da die B. lusitaniae Spezies nicht detektiert wird. B. lusitaniae bleibt somit ein Problem in der Diagnostik, ist aber auch nach derzeitigem Wissen in Deutschland eher weniger verbreitet, sondern vielmehr im Mittelmeerraum (Südwesteuropa - z.B. Portugal).

Zu dem "Nanotrap® test" kann nachfolgendes gelesen werden [3], dort heißt es z.B. (übersetzt ins dt.):

*...[wir haben das mAb-Epitop einer schmalen spezifischen OspA-C-terminalen Domäne OspA236-239 zugeordnet, **die in allen infektiösen Borrelia-Arten***

konserviert^{A)} ***ist***, jedoch keine Homologie^{B)} zu menschlichen Proteinen und keine Kreuzreaktivität mit relevanten viralen und nicht-Borrelia-Bakterienproteinen aufweist.] ... [***Der „Nanotrap®-Antigentest“ ist eine direkte Nachweistestmethode, die das OspA-Antigen erfasst und konzentriert, um die Diagnose einer Lyme-Borreliose genauer zu bestätigen.*** Serologische Tests sind indirekt. Sie weisen das Vorhandensein von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* nach und bestätigen lediglich eine vorherige Exposition] ... [Dieser urinbasierte Test ermöglicht einen empfindlicheren direkten Nachweis einer *Borrelia burgdorferi*-Infektion in allen Stadien der Lyme-Borreliose als die bisherigen Standardmethoden.] ...

Anmerkung AH: Bei dem schmalen mAb-Epitop handelt es sich um folgende OspA-Proteine, welche mit "VFTK" bezeichnet werden, die in allen infektiösen *Borrelia*-Arten vorkommen sollen [3]. Auch in einer der Basisarbeiten zu der Nanotrap-Technologie kann bezüglich des *Borrelia*-OspA-Epitop-Direktnachweis folgendes gelesen werden [4] (übersetzt ins dt.):

... [Das sehr schmale Epitop des sich im C-terminalen Bereich des Osp236-239 befindet, ist bei bestimmte OspA-Sequenz in mehreren pathogenen Borrelia-Arten konserviert^{A)}. Darüber hinaus zeigt dieses spezielle Epitop keine Sequenz Homologie^{B)} mit menschlichen Proteinen oder anderen durch Zecken übertragenen Krankheitserregern.] ... [Die ***Sequenzierung verschiedener Stämme zeigte, dass in der Mitte zwar eine gewisse Sequenzvariabilität vorhanden ist, in der Region des N-Terminus und der C-Terminus aber stark konserviert***^{A)} sind.] ...

Anmerkung 1 von AH: Was entscheidend für den Erfolg des "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" wäre, um ihn z. B. nicht nur in den USA zu verwenden, sondern auch in Europa (z.B. Deutschland) - wo wesentlich mehr *Borrelia* sensu lato Stämme in der Labordiagnostik (i.d.R. indirekter Nachweisversuch) Probleme bereiten.

Ein Zitat hierzu aus [3] (übersetzt ins dt.): ... [Die BLAST-Suche^{C)} gegen verschiedene *Borrelia* Stämme und -Arten zeigt, dass das Epitop des mAb-Klons 0551 hoch konserviert ist, während die flankierenden Regionen variabel sind.] ...

Das VFTK-Epitop konnte u. a. in folgenden *Borrelia*-Spezies gefunden werden [3]: ... [*Borrelia burgdorferi* s. s. (Anmerkung von AH: wird OspA Serotyp 1 zugeordnet), *Borrelia afzelii* (Anmerkung von AH: wird OspA Serotyp 2 zugeordnet), *Borrelia bissettii*, *Borrelia garinii* (Anmerkung von AH: wird den OspA Serotypen 3, 5-8 zugeordnet), *Borrelia japonica*, *Borrelia valaisiana* (Anmerkung von AH: wird in Typ 1 und 2 eingeordnet), *Borrelia americana* und *Borrelia spielmanii*.] ...

^{A)} Anmerkung von AH zu „konserviert“: bedeutet in der Biologie, dass eine Struktur bzw. eine Aminosäure- oder Nukleotidsequenz (DNA, RNA) im Lauf der Evolution weitgehend unverändert erhalten wurde.

^{B)} Anmerkung von AH zu „Homologie“: Homolog bedeutet "gleichartig", beispielsweise im Sinne eines homologen Chromosomenpaares. Das Gegenteil von homolog ist heterolog.

^{C)} Anmerkung von AH zu „BLAST“ (Abkürzung für englisch Basic Local Alignment Search Tool): ist der Überbegriff für eine Sammlung der weltweit am meisten genutzten Programme zur Analyse biologischer Sequenzdaten.

Anmerkung 2 von AH: Es wurde beobachtet, dass es den stabilen bzw. unter vielen Borrelia-Stämmen identischen OspA-Epitop-Bereich gibt. Dies wurde z.B. in der Massenspektrometrie-Sequenzierung zur Peptidkonkurrenz am Fragment des OspA219-253 KTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTITVQ beobachtet. In einer der Arbeiten kann folgendes hierzu gelesen werden [4] (übersetzt ins dt.):

... [Das antigene Epitop OspA236-239 ist hochgradig konserviert und man findet es in den wichtigsten pathogenen Borrelien-Stämmen - dazu gehören: Borrelia burgdorferi sensu stricto, mehrere Borrelia burgdorferi sensu lato (Borrelia garinii, Borrelia valaisiana, Borrelia bissettii, Borrelia afzelii und Borrelia spielmanii) und weitere kürzlich charakterisierte pathogenen Spezies.] ... [Mit der Massenspektrometrie konnte auch gezeigt werden, dass es zu keinem menschlichen Protein homolog war und nicht homolog zu anderen Nicht-Borrelia-Spirochäten.] ...

Anmerkung AH: Selbst **1992** (also vor 32 Jahren!) **war schon folgendes zum Borrelia-OspA bekannt** [5] (übersetzt ins dt.):

*... [Die molekulare Analyse ergab signifikante Unterschiede untereinander und zu bereits veröffentlichten Sequenzen von OspA der Borrelia burgdorferi Stämme B31, ZS7 und N40 (die OspA-Gene von B31, ZS7 und N40 sind nahezu identisch). Die abgeleiteten Aminosäuresequenzen des OspA-Proteins der Stämme PKo und PBi zeigten eine Homologie von 83% zueinander und 77% bzw. 80% zum OspA-Protein des Stamms B31. Die drei Proteine enthalten eine variable mittlere Region, **während der N- und der C-Terminus konserviert sind**. Diese unerwartet große Unähnlichkeit der OspA-Gene kann im Hinblick auf Impfstudien und diagnostische Verfahren (d. h. die Entwicklung von PCR-Primern oder serodiagnostischen Antigenen) wichtig sein. **Darüber hinaus bestätigt die molekulare Heterogenität von OspA drei von sieben immunologisch definierten OspA-Serotypen eines kürzlich vorgeschlagenen OspA-Serotypisierungssystems.] ...***

Anmerkung 3 von AH: **Die primär beim Menschen krankheitsverursachenden Borrelienarten in Nordamerika und Europa werden hauptsächlich nach derzeitigem Wissen (Stand 2024) den OspA-Serotypen 1-6 zugeordnet.**

Inzwischen konnten insgesamt > 90 OspA-Proteinvarianten unter den Borrelia-Spezies identifiziert werden. Die OspA-Proteinvarianten konnten in sogenannte IST-Cluster (In-silico [Ⓜ] OspA-Typisierungspipeline) eingeteilt und größtenteils den einzelnen OspA-Serotypen 1-8 und den entsprechenden Borrelien-Genotypen zugeordnet werden [6]. Hierbei wurden neue phylogenetischen Gruppen in B. bavariensis und B. garinii Stämmen aus Asien nachgewiesen, diese sind aber für Deutschland in der Regel bei der Diagnostik sicherlich weniger relevant. Auch wurden zwei neuartige B. garinii-IST-Cluster gefunden, die mit IST11 und IST12 bezeichnet werden [6].

[Ⓜ] In silico beschreibt den Wandel in der Medizin und wird als nächste Evolutionsstufe gesehen: von in vivo, also Experimente im menschlichen Körper, zu in vitro, im Reagenzglas, kommt nun in silico - Versuche, die im Silicium, also am Computer bzw. Datenbanken durchgeführt werden.

Die einzelnen Borrelia-Spezies werden folgenden IST-Clustern zugeordnet [6]: B. burgdorferi IST1, B. afzelii IST2, B. bavariensis IST4 (früher B. garinii OspA Typ 4), B. garinii in IST3, IST5, IST6, IST7 u. IST8, die neuen phylogenetischen Gruppen der asiatischen B. bavariensis Spezies in IST9 u. IST10, sowie die zwei neuartige asiatischen B. garinii Stämme in IST11 u. IST12, B. spielmanii IST13, B. mayonii IST14, B. valaisiana IST15, B. turdi IST16 und B. yangtzensis IST17.

Anmerkung 4 von AH: **In der Borrelia-OspA-IST-Clustern-Studie [6] konnte beobachtet werden, dass nur der neu identifizierte IST10-Cluster (asiatischen B. bavariensis Stamm) ein abweichendes VFTK-Epitop aufwies.** Beim Borrelia-OspA-IST10-Cluster setzt sich das Epitop nicht aus den Proteinen „VFTK“ zusammen, sondern aus „VFLT“. Ggf. wäre der in der Nähe liegende Protein-Bereich „TITVQ“ besser geeignet, da dieser OspA-Bereich auch beim Borrelia-OspA-IST10-Cluster keine Abweichung zeigt. Allerdings kann ich an dieser Stelle nicht beantworten, ob es sich bei den Borrelia-OspA-TITVQ-Proteinen auch um ein relevantes Epitop handelt. Epitopen sind die Teile eines Antigens, die von Antikörpern oder T-Zellen erkannt werden. Wenn das Borrelia-OspA-TITVQ ein Epitop darstellt, wäre dies sicherlich ggf. auch für die Entwicklung eines Impfstoffes interessant.

Anmerkung zur OspA-IST-Cluster-Studie aus [6]: ... [Die in der IST-Cluster-Studie präsentierten Primärsequenzdaten wurden bei NCBI SRA unter der Zugangsnummer PRJNA1041728 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA1041728>) hinterlegt. Die Zugangsnummern sind in Tabelle S1 enthalten, die in der Online-Version des Artikels verfügbar ist, und der Code für die In-silico-OspA-Typisierungspipeline ist auf GitHub (<https://github.com/pfizer-opensource/LISTT>) verfügbar. Peptidsequenzen einzelner OspA-Varianten, die im Artikel beschrieben werden, sind im GitHub-Repository sowie in der PubMLST-Borrelia-Sequenzdatenbank unter dem OspA_peptide-Locus-Tag verfügbar (https://pubmlst.org/bigsubdb?db=pubmlst_borrelia_seqdef).] ...

Des Weiteren habe ich, wie oben schon angemerkt, beim Sichten der mir zugänglichen Literatur und entsprechenden Datenbanken Hinweise gefunden, dass z. B. beim Serotyp 1 (B. burgdorferi s.s. PKa-Stamm), 2 (B. afzelii Pko-Stamm) und 5 (B. garinii PHei-Stamm) vereinzelt im VFTK-Epitop Abweichungen vorkommen können. Obwohl dies VFTK-Epitop in anderen Datenbanken und der gesichteten Literatur ([1], [3], [6] etc.) keine Abweichung in den entsprechenden Serotypen 1, 2 und 5 zeigte. Die von mir gefundene Abweichung sieht bei **Serotyp 2** (B. afzelii Pko-Stamm) wie folgt aus, dort setzt sich dieses Epitop aus VFTQ zusammen. Beim **Serotyp 1** (B. burgdorferi s.s. PKa-Stamm) und **5** (B. garinii PHei-Stamm) setzt sich dieses Epitop aus VFTE zusammen. Der PHei-Stamm erscheint in einiger Literatur als B. burgdorferi, also zu Serotyp 1 gehörend, aber auch als Serotyp 5, wäre somit eigentlich der Borrelia-Spezies B. garinii zugehörig. Alle drei Borrelia-Stämme (Pko, PHei u. PKa) mit der Abweichung im VFTK-Epitop gehören keiner Wild-Form an, also wurden nicht aus Zecken entnommen und isoliert. Die entsprechenden Stämme wurden aus Patienten-Proben (Liquor u. Haut) entnommen und danach häufig schon mehrfach geklont, somit bleibt es etwas unklar an welcher Subkultur das VFTK-Epitop bestimmt wurde, ob hierdurch ggf. Abweichungen vorkommen können. Verantwortlich hierfür könnte die sog. Mutagenese (Erzeugung von Mutationen im Erbgut) oder die klonalen

Selektion sein, ggf. auch beides. **Trotz der eventuellen kleinen Einschränkungen werden mit dem „Lyme-Borrelia-Nanotrap® test“ Borrelien-Spezies detektiert, die bei den indirekten Testverfahren i.d.R. bisher überhaupt nicht erfasst werden.** So kann hiermit ggf. so manchen Patienten zur sicheren Diagnose verholfen werden, der bisher mangels Fähigkeit der indirekten Testverfahren als Hypochonder oder Psychosomatiker eingestuft wird.

Als gesichert humanpathogen gelten bisher (Stand 2024) für die in Deutschland vorkommenden Spezies *B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. valaisiana*, *B. spielmanii*, *B. bavariensis* (früher *B. garinii* OspA Typ 4) und *B. lusitaniae*. Letztere Borrelia-Spezies bleibt somit weiterhin ein Problem in der Diagnostik, ist aber auch nach derzeitigem Wissen in Deutschland eher weniger verbreitet, sondern vielmehr im Mittelmeerraum (Südwesteuropa). Auch einer der neuen asiatischen *B. bavariensis* Spezies (Ist10-Cluster) stellt ggf. weiterhin ein Problem dar, aber auch dies dürfte für Deutschland nachrangig sein.

Neben den Borrelia-Sero- und IST-Cluster-Typen werden die Borrelia burgdorferi sens lato Stämme auch in einzelnen Borrelia-Genotypen eingeordnet. Zu den Borrelia-Genotypen ein Zitat aus [7]:

*... [Neben den Rückfallfieber-Borrelien stellt der früher ***B. burgdorferi* s. l.** genannte Komplex die wichtigste Borreliengruppe dar. **Bislang werden 16 Genospezies unterschieden. Humanpathogenität wurde bisher für die in Deutschland vorkommenden Spezies *B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. valaisiana*, *B. spielmanii*, *B. bavariensis* sp. nov. (früher *B. garinii* OspA Typ 4) und *B. lusitaniae* nachgewiesen.] ... [Die Verteilung der Genospezies in Deutschland und Europa ist sehr heterogen und eng an das Vorhandensein von Reservoirwirten gebunden. Während beispielsweise *B. lusitaniae* in Portugal die häufigste Spezies ist, ist sie **in Deutschland, wo *B. afzelii* und *B. garinii* dominieren**, nur äußerst selten anzutreffen. **Die in den USA fast ausschließlich vorkommende Art *B. burgdorferi* scheint dagegen in vielen Regionen Deutschlands und Europas eher rar zu sein. Die vogelassozierte Spezies *B. valaisiana* wird in Deutschland recht häufig nachgewiesen und ist in einigen Regionen die vorherrschende Art. Die Genospezies-Verteilung ist jedoch auch in Deutschland einer starken Heterogenität unterworfen. So wurde *B. valaisiana* beispielsweise in Süddeutschland nur sehr selten bzw. gar nicht nachgewiesen, während sie im Siebengebirge und in Thüringen die dominierende Art war.] ...*****

Ein weiteres Zitat aus [8] zur **Häufigkeit der Borrelia-Genotypen innerhalb der Zeckenpopulationen:**

...[Dabei konnten die für Europa typischen klinisch relevanten Spezies ermittelt werden, wobei *B. garinii* (133/270) besonders Serotyp 6 (51/270) am häufigsten vertreten war, gefolgt von *B. burgdorferi sensu stricto* (70/270), *B. afzelii* (42/270), *B. valaisiana* (28/270) und *B. burgdorferi s. l.* (5/270). Es konnten aber auch die seltenen Spezies *B. lusitaniae* (1/270) und die neu entdeckte *B. spielmanii*-Spezies (3/270) gefunden werden. **1,4% der Zecken traten als Doppelinfektionen mit verschiedenen *B. burgdorferi s.l.*-Subtypen in Erscheinung.** Dabei dominierte *B. garinii* in Kombination mit *B. burgdorferi s.s.*, *B. valaisiana* und *B. afzelii*. Eine Zecke war mit *B. afzelii* und *B. valaisiana* infiziert. Die Differenzierung der Babesienspezies erfolgte anhand von Sequenzierungen in die klinisch relevanten Subtypen *B. microti* (28/50) und *B. divergens* (20/50). Zwei Isolate konnten keiner der beiden Spezies eindeutig zugeordnet werden, wurden allerdings mittels der Sequenzierung als *Babesia* spp. bestätigt. **Auch Koinfektionen mit den beiden Erregern *Borrelia burgdorferi s.l.* und *Babesia* spp. waren in 1,6% der Zecken (16/1000) bzw. in 5,9% (16/270) der borrelien-infizierten Zecken festzustellen. Eine weibliche Zecke beinhaltete sogar *B. microti*, *B. garinii* und *B. burgdorferi sensu stricto*.] ... [Im Hinblick auf die klinisch große Vielfalt einer Borrelieninfektion und eine mögliche Borreliose-Schutzimpfung sind die Borrelientypisierung und eine daraus resultierende Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten entscheidend. In der serologischen Borreliendiagnostik können leider nur die bisher als humanpathogen geltenden Borreliensubtypen *B. garinii*, *B. afzelii* und *B. burgdorferi sensu stricto* erfasst werden. Humanpathogenität wird auch für die Spezies *B. valaisiana* und *B. lusitaniae* vermutet (Anmerkung von AH: Stand 2009). Es stehen aber noch keine geeigneten serologischen Nachweisverfahren zur Verfügung. Dies ist bei der klinischen Diagnosefindung zu bedenken.] ... [die Entwicklung diagnostischer Methoden beim Menschen (PCR, Serologie) dringend erforderlich.] ...**

Zitat weiter aus [7]:

... [Es ist bekannt, dass Koinfektionen bei Mensch und Tier zu schwereren Krankheitsverläufen und Problemen bei Diagnose und Behandlung führen. Besonders oft wurden Mischinfektionen bei Patienten mit Lyme-Borreliose beschrieben, wobei sogar Infektionen mit drei verschiedenen Erregern auftreten können. Eine Studie aus den USA zeigte beispielsweise, dass 39 % der untersuchten Patienten mit zeckenassoziierten Erkrankungen Koinfektionen aufwiesen, hauptsächlich mit Borrelien und Babesien. Aufgrund häufig auftretender Behandlungs- und Diagnoseprobleme sowie ihrer Vielgestaltigkeit wurde sogar die Frage aufgeworfen, ob die LB nicht generell eine polymikrobielle Erkrankung ist.] ... [Koinfektionen mit mehreren *Borrelia* spp., die auch in der vorliegenden Arbeit auftraten (5,4 % der *Borrelia*-Positiven), können ebenfalls zu schweren Krankheitsverläufen der LB führen. Dabei dominierten Kombinationen von zwei *B. garinii*-OspA-Typen oder *B. garinii* mit *B. valaisiana*.] ...

Tabelle aus [7]:

Bislang beschriebene Genospezies des LB-Komplexes und ihre Verbreitungsgebiete. Die Hauptverbreitungsgebiete sind jeweils mit * in der Tabelle gekennzeichnet.

Borrelia-Spezies	Autor und Jahr	Verbreitung
<i>B. burgdorferi</i>	BARANTON et al. 1992	Nordamerika*, Europa
<i>B. garinii</i>	BARANTON et al. 1992	Europa*
<i>B. afzelii</i>	CANICA et al. 1993	Europa* , Ost-Russland*, China
<i>B. valaisiana</i>	WANG et al. 1997	Europa* , Japan
<i>B. lusitaniae</i>	LEVY et al. 1993	Südwesteuropa* , Mittelmeerraum
<i>B. japonica</i>	KAWABATA et al. 1993	Japan
<i>B. andersonii</i>	MARCONI et al. 1995	Nordamerika
<i>B. tanukii</i>	FUKUNAGA et al. 1996	Japan*, Nepal
<i>B. turdi</i>	MASUZAWA et al. 1996	Japan
<i>B. bissettii</i>	POSTIC et al. 1998	Nordamerika
<i>B. sinica</i>	MASUZAWA et al. 2001	China, Nepal
<i>B. spielmanii</i>	RICHTER et al. 2004	Mitteuropa
<i>B. californiensis</i>	POSTIC et al. 2007	Nordamerika
<i>B. carolinensis</i>	RUDEENKO et al. 2009	Nordamerika
<i>B. bavariensis sp. nov.</i>	MARGOS et al. 2009	Mitteuropa
<i>B. americana</i>	RUDEENKO et al. 2009	Nordamerika

Anmerkung 5 von AH: **Es ist wohl unschwer zu erkennen, eine bessere Labor-Diagnostik als die bisher postulierte Zwei-Stufen-Diagnostik ist in jeden Fall angezeigt**, weil ansonsten viele Patienten nach wie vor ins Dilemma (z.B. es sei alles psychosomatisch etc.) entlassen werden, ohne eine entsprechende durchgreifende ursächliche Therapie zu erhalten. Deswegen nochmals nachfolgend näher betrachtet die Vorteile des "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" gegenüber den bisher postulierten Testverfahren. **Der Anbieter des "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" [1] schreibt zu den Vorteilen des Tests gegenüber bisheriger Standardlabordiagnostik folgendes** (übersetzt ins dt.):

- Die Anreicherung von Nanotrap®-Partikelproben erhöht die Wahrscheinlichkeit des direkten Nachweises dieser Proteine mit geringer Häufigkeit erheblich. Basierend auf vorläufigen Studien kann die Nanotrap®-Probenanreicherung die Konzentration von Zielen mit geringer Häufigkeit um das 10.000-fache erhöhen.

- *Bestätigt eine aktive Infektion mit einfach zu entnehmenden Urinproben.*
- *Identifiziert positive Fälle, die bei herkömmlichen zweistufigen Tests übersehen wurden.*
- *Reduziert die Sorge vor falsch positiven Ergebnissen durch den direkten Nachweis des OspA-Antigens.*
- *Der empfindlichere und zuverlässigere Direktnachweis mit dem Lyme Nanotrap® test unterstützt die Bestätigung einer aktiven Infektion in allen Krankheitsstadien.*
- *Der Nanotrap®-Test zielt auf die OspA-Proteine ab, die auf der Oberfläche von Borrelienarten beider Hauptgruppen (sensu stricto und sensu lato) zu finden sind. Der Test bestimmt nur, ob OspA vorhanden ist, nicht jedoch, welche Borrelienart nachgewiesen wurde.*

Der Nachteil der bisherigen Standard Zwei-Stufen-Diagnostik [1]
(übersetzt ins dt.):

- *Manche Patienten entwickeln nie Antikörper gegen Lyme-Borreliose.*
- *Eine fehlregulierte Antikörperreaktion ist ein Kennzeichen einer Borrelia burgdorferi-Infektion.*
- *Bei manchen Lyme-Borreliose-Patienten können Antikörpertiter jahrelang anhalten, während sie sich bei anderen möglicherweise überhaupt nicht entwickeln.*
- *Begrenzte Empfindlichkeit ohne starke Immunantwort.*
- *Verzögerte Antikörperreaktion bis zu 4-6 Wochen nach der Übertragung.*
- *Falsch positive Diagnose basierend auf Antikörpern, die nach tatsächlicher Ausheilung einer Infektion nachgewiesen werden.*
- *Falsch positives Testergebnis aufgrund einer Kreuzreaktivität des Antikörpers mit anderen Mikroben, die ähnliche Proteine aufweisen.*
- *Komplizierte und kontroverse Interpretation von Western-Blot-Ergebnissen mit einem wichtigen Kompromiss zwischen falsch-positiven und falsch-negativen Risiken je nach Interpretationskriterien.*

Wie schneidet der Lyme-Borrelia-Nanotrap®-Antigentest im Vergleich zu serologischen Tests ab [1] (übersetzt ins dt.)?

...[Das Center for Disease Control and Prevention (CDC) in den USA empfiehlt die Verwendung der Zwei-Stufen-Diagnostik (ELISA und Western Blot) zum Nachweis spezifischer Antikörper gegen Borrelienarten. Allerdings stehen Antikörpertests (IgM und IgG), wie vorab beschrieben, auf Lyme-Borreliose vor

mehreren Herausforderungen, da sie auf einen indirekten Erregernachweis basieren. Trotz alledem bleibt man beharrlich bisher bei diesen Empfehlungen, und entlässt so wahrscheinlich viel Patienten ins Ungewisse mit ihren gesundheitlich Problemen.] ...

Anmerkung 6 von AH: Ebenso wie das Robert-Koch-Institut (biomedizinische Leitforschungseinrichtung der deutschen Bundesregierung) und das Nationale Referenzzentrum (NRZ) für Borrelien in Deutschland [2] [9].

Zitat aus [2] "Fallstricke bei Diagnose und Therapie" zu der Unsicherheit den indirekten standardisierten und evaluierten Tests:

- *Die Antikörperprävalenz in der Normalbevölkerung ist etwa ein Prozent bei Kleinkindern und steigt auf bis über 25 Prozent bei Personen über 60 Jahren.*
- *Die Nachweisrate borrelienspezifischer Antikörper ist abhängig von der Manifestation und Dauer der Erkrankung: Bei Erythema migrans gibt es in den ersten Wochen noch eine „serodiagnostische Lücke“. Antikörper – vor allem IgM – lassen sich im Verlauf bei circa 60 Prozent nachweisen, bei früh disseminierten (vor allem Neuroborreliose, Lymphozytom, multiple Erythemata migrantia) in 70 Prozent bis > 90 Prozent und bei späten Formen (Lyme Arthritis, Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA), späte Neuroborreliose) in 100 Prozent (nur IgG relevant).*

Anmerkung 7 von AH: Da bleiben viele Fragen offen, in der Umweltanalytik würde ich von einem ungeeigneten Nachweisverfahren sprechen, eher wenig hilfreich für Patient und Arzt. Erst in der sehr schwer ursächlich behandelbaren (z.B. Kombi-Antibiose) Erkrankungsphase gelingt zu 100 Prozent die indirekte serologische Labor-Bestätigung, aber auch die – angebliche – 100-prozentige Sicherheit würde ich persönlich anzweifeln.

Zitat aus [2] "Fallstricke bei Diagnose und Therapie" zu der Unsicherheit der direkten standardisierten und evaluierten Tests:

- *Geeignete Untersuchungsmaterialien sind Hautbiopsien, Liquor und Gelenkpunktate (letztere nur PCR). Auch aus anderen Biopsien, zum Beispiel aus Auge oder Herz, kann bei entsprechender Symptomatik ein direkter Erregernachweis gelingen. Die Sensitivität beider Methoden liegt für Hautbiopsien bei etwa 50–70 Prozent, für Liquor (nur frühe Neuroborreliose) bei zehn bis 30 Prozent und für Gelenkpunktat mittels PCR bei 50–70 Prozent.*

Anmerkung 8 von AH: Auch bei diesen postulierten direkten Nachweisverfahren bleiben viele Fragen offen, in der Umweltanalytik würde ich auch hierbei von ungeeigneten Nachweisverfahren sprechen, wenig hilfreich für Patient und Arzt.

Zumal teilweise die Entnahme des Probenahmemediums (z.B. Liquor. Gelenkpunktat etc.) nicht ganz ohne Risiko ist. Da erscheint mir das Risiko, im Verhältnis der Aussagekraft zum Ergebnis, als zu gering bis fragwürdig!

Derzeit wegen fehlender oder nicht ausreichender Validierung nicht empfohlene diagnostische Methoden (Zitat aus [2]):

- *Lymphozytenaktivierungs- oder -transformationsteste (LTT, MELISA, ELISPOT)*
- *Direktnachweis von Borrelien aus Patientenmaterial mittels lichtmikroskopischer Techniken (Dunkelfeld aus Blut, focus floating microscopy - Anmerkung AH: siehe hierzu [10] [11] [12]))*
- *PCR oder Antigennachweis aus Urin oder Blut*
- *Antikörpernachweis aus Immunkomplexen*
- *Visual Contrast Sensitivity Test (VCS)*
- *Nachweis einer erniedrigten CD57-positiven Lymphozytensubpopulation*
- *HLA-Typisierung*

Anmerkung 9 von AH: Teilweise darf man sich sicherlich fragen, warum die Tests nicht Validiert sind. Werden sie nicht angewendet, dokumentiert und ausgewertet, können sie auch nicht als validiert empfohlen werden. Obwohl z. B. die "focus floating microscopy" mit Sicherheit einigen indirekten (ELISA, Western-Blot etc.) und anderen direkten (z.B. PCR) validierten Tests haushoch überlegen ist [10] [11] [12]. Alleine aus dem Grund, weil die im Gewebe befindlichen einzelnen Borrelien hiermit direkt gut sichtbar gemacht werden können und somit direkt nachgewiesen werden. Daher ist ein positives Ergebnis hiermit - nach meinem logischen Verständnis - zu 100 % sicher. Also ohne Anwendung, keine Validierung!

Anmerkung 10 von AH: **Ist hier insgesamt der "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" den ganzen bisherigen Testverfahren überlegen?**

Zumal das Probenahmemedium "Urin" einfach und ohne Risiko für die Durchführung des Tests vom Patienten - im Prinzip selbst - genommen werden kann. Es sich hierbei um einen Direktnachweis des Erregers, bzw. um dessen einzigartigen Trümmer handelt (OspA-Epito-Proteine „VFTK“), die verschwinden wenn der Erreger beseitigt ist (durch das Immunsystem, Therapie etc.). So kann mit dem Test auch eine Therapieüberwachung erfolgen, es hat sich folgendes dbzgl. gezeigt (Zitat aus [3] übersetzt ins dt.):

... [Die OspA-Harnausscheidung war stark mit gleichzeitigen aktiven Symptomen (z. B. EM-Ausschlag und Arthritis) verbunden, während das

Verschwinden dieser Symptome nach der Therapie mit der Umwandlung des Urins in OspA-negativ korrelierte.] ...

Anmerkung 11 von AH: **Des Weiteren wurde der Test validiert**, ein Zitat hierzu aus [4] (übersetzt ins dt.):

Nach der Testvalidierung konnten wir unseren erweiterten Immunoassay zum Nachweis von OspA in 151 Patienten mit Verdacht auf Lyme-Borreliose und 117 gesunde Kontrollpersonen anwenden] ... [In dieser Studie wurde die Spezifität des im Nanotrap-Test verwendeten mAb-Klons 0551 untersucht und auf drei Arten verifiziert:

1.- **Peptidkonkurrenz und Immunaффinität Depletion, die absolute Spezifität für einen schmalen C-Terminus zeigte Sequenz von OspA, die in allen Borrelia burgdorferi sensu Latu-Arten konserviert wurde.**

2.- Virale und bakterielle Lysate von HSV, EBV, HCV, CMV, Babesia und Bartonella wurden mit der gleichen Antigenkonzentration getestet wie das OspA-Borrelia-Antigen, es zeigte sich keine Immunreaktivität mit dem mAb-Klon 0551 und beeinträchtigte die Erkennung des OspA nicht. Dies wurde mit dem gesamte Nanotrap-Konzentrationssystem am Urin vom Menschen zusammen mit dem Testantigenen getestet.

3.- BLAST-Sequenzanalyse von HSV, EBV, HCV, CMV, Babesia, Bartonella, Rickettsien, Humangenomdatenbank und andere Nicht-Borrelien Spirochäten zeigten keine signifikante Ähnlichkeit mit der definierten und verifizierten C-Terminus OspA-Epitopdomäne.

Anmerkung 12 von AH: Zur Zeit findet eine klinische Impfstoffstudie statt, in der die Wirksamkeit des sog. „VLA15-Impfstoff“ (Valneva u. Pfizer) getestet wird, eine sogenannte Placebokontroll-Studie. Alle bisherigen Test (Maustest etc.) und Studien (klinische Phase1 u. 2) haben gezeigt, dass dieser Impfstoff gut wirksam gegen 6 Borrelia-Serotypen ist. Es zeigte sich bisher eine Wirksamkeit gegen folgenden Borrelia-Serotypen: B. burgdorferi (Serotyp 1), B. afzelii (Serotyp 2), B. garinii (Serotyp 3), B. bavariensis (Serotyp 4), B. garinii (Serotyp 5 u. 6). Das Besondere, auch der „VLA15-Impfstoff“ basiert auf eine modifizierten C-Terminus-Domänen des OspA (C-terminale Fragment) [14] [15], was ggf. auch im Umkehrschluss die Zuverlässigkeit des "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" bestätigen mag.

Hauptsächliche Pathogenität (beim Menschen krankmachend) **der einzelnen Borrelia-Serotypen [16] [17]:**

Gehirn und Rückenmark (Liquor isolate): B. garinii, B. bavariensis (zusammen **ca. 48%** der Nachweise), **B. burgdorferi s.s. (ca. 24%** der Nachweise), **B. afzelii (ca. 23%** der Nachweise) und **B. bissetti (< 1%** bzw. unklar, wurde bisher bei Patienten nicht drauf detektiert). Insgesamt wurde dort (Liquor) bisher ein sehr heterogenes Bild beobachtet, **es konnten dort**

alle Serotyp 1-6 nachgewiesen werden, bis auf Serotyp 7 (einer der *B. garinii* Geno-Typen). *B. bavariensis* (Serotyp 4 - ehemals *B. garinii* Serotyp 4) konnte am häufigsten detektiert werden (Anteil ca. 28% = 12% aller Liquorisolat) und *B. garinii* Serotyp 6 (Anteil ca. 31% = 10% aller Liquorisolat). Interessant erscheint auch das Alter der Patienten dbzgl.: der *B. garinii* Serotyp 6 (bzw. OspA-Typ 6) wurde eher bei jünderen Patienten gefunden (mittlere Durchschnittsalter 21 Jahre) und *B. spielmanii* Serotyp 4 (bzw. OspA-Typ 4, ehem. *B. garinii* Serotyp 4) bei älteren Patienten (mittlere Durchschnittsalter 55 Jahre).

Hauptsymptome die bei einer *B. garinii* Infektion auftreten können:

Neuroborreliose (NB), Erythema migrans (EM) und ggf. Lyme-Arthritis (LA).

Hauptüberäger für *Borrelia garinii* eurasischer Typ in Europa und West-Russland: *I. ricinus* und *I. persulcatus*.

Hauptvektor für *Borrelia garinii* vom asiatischen Typ in Ostrussland: *I. persulcatus*.

Verbreitung: Europa, insbesondere Asien. Russland, China (insbesondere im Norden), Japan und Korea. Die regional hohe Heterogenität der OspA-Serotypen von *B. garinii* soll auf eine hohe Mobilität der Wirte hinweisen, was auch für die Vögel gilt, die (zumindest in Europa) als Hauptwirte gelten.

Für die *Borrelia*-Subspezies *B. garinii* scheinen immer mehr Seevögeln als weltweiter Verbreiter ins Blickfeld zu geraten. Innerhalb der Seevögel-Populationen konnte inzwischen eine große Heterogenität unter den *Borrelia* nachgewiesen werden. Im subarktischen Raum von Eurasien überlappen sich z.B. zwei teilweise unterschiedlich heterogene *B. garinii* Populationen.

Haupt-Reservior u. Stapelwirt: Vögel (Aves).

Hauptsymptome die bei einer *Borrelia afzelii* Infektion auftreten können:

Die *Borrelia* Subspezies *Borrelia afzelii* (Geno-Typ 2) wird in erster Linie mit einer Dermato-Borreliose (Haut betreffend) in Verbindung gebracht, insbes. mit Initial-Erscheinung des Erythema migrans (EM / sog. Wanderröte) und der chronifizierten Erscheinung der Akrodermatitis chronica atrophicans (ACA / sog. Bratapfelhaut). Diese *Borrelia*-Subspezies ist somit die Einzige, die alle wesentlichen, klinisch sichtbaren, Leitsymptome einer Lyme-Borreliose hervorrufen kann, wie z.B. EM und ACA.

Hauptsymptome die bei einer *Borrelia burgdorferi sensu stricto* Infektion auftreten können:

Erreger der klassischen Lyme-Krankheit deren Symptomkomplex zuerst in den USA beschrieben wurde, heute auch allgemein als Lyme-Borreliose bekannt. Der Geno-Typ 1 (Serotyp 1 / OspA Serotyp 1) wird insbesondere für die sogenannte Lyme-Arthritis (Gelenke betreffend) verantwortlich gemacht. Eine Mischinfektion von *B. burgdorferi* s.s. zusammen mit *B. bavariensis* (Serotyp 4 / OspA Serotyp 4) führt häufiger zur Lyme-Arthritis, als bei einer Mono-Infektion nur mit *B. burgdorferi* s.s.. Hauptsymptome die bei einer *B. burgdorferi* s.s. Infektion auftreten können: Erythema migrans (EM), Lyme-Arthritis (LA), Neuroborreliose (NB) und Karditis (Herzbeschwerden).

Hauptüberträger für *B. burgdorferi* s.s. in Europa und West-Russland: *I. ricinus*

Verbreitung: insbesondere in Nordamerika und bei uns hauptsächlich in West-Europa, weniger in Osteuropa.

Haupt-Reservior/Stapelwirt/e: Nagetiere (Rodentia), Niederwild und Vögel.

Hauptsymptome die bei einer *Borrelia bavariensis* (ehemals *B. garinii* OspA Serotyp 4) Infektion auftreten können:

Wird wie *B. garinii* für die Neuro-Borreliose (NB u. C-NB) verantwortlich gemacht (siehe oben alterszuordnung beim Patienten). Eine Mischinfektion von *B. bavariensis* (Serotyp 4 / OspA Serotyp 4) zusammen mit *B. burgdorferi* s.s. (Serotyp 1 / OspA Serotyp 1) führt häufiger zur Lyme-Arthritis.

Verbreitung: Europa allgemein, insbesondere in der Slowakei, Tschechien, Polen, den Niederlanden und Dänemark – in Deutschland wurde *B. bavariensis* (Serotyp 4 / OspA Serotyp 4) bisher nur in Bayern nachgewiesen (Stand 2004).

Hauptsymptome die bei einer *Borrelia spielmanii* (eng verwandt mit *B. afzelii*) Infektion auftreten können:

Homogenes erythema migrans (gleichfarbiges EM, ohne Aufhellung im Zentrum), seröse nasale Beteiligung, periodisch unterbrochene Hals- und Lendenwirbelschmerzen, häufige Kopf- und Muskelschmerzen (Myalgien), arterielle Hypertonie (Bluthochdruck) sowie ACA (sog. Bratapfelhaut) usw.

Hauptüberträger für *B. spielmanii* (sp. nov.) in Europa (insbs. Süd-Deutschland, Frankreich, Slowenien, Tschechien, Ungarn, Russland, Dänemark usw.) vorrangig durch adulte (erwachsene) *I. ricinus*.

Mittlere Zecken-Durchseuchungsrate mit *B. spielmanii* (sp. nov.) in Süd-Deutschland: ca. 6 % aber auch höher, z.B. in München im Englischen Garten beträgt die Durchseuchungsrate ca. 18 %.

Haupt-Reservior/Stapelwirt: Bilche (Gliridae); Gartenschläfer (*Eliomys*), Siebenschläfer (*Glis*), Haselmäuse (*Muscardinus*) und das sibirische Backenhörnchen (*Tamias sibiricus*).

B. spielmanii (sp. nov.) Heterogenität gilt unter Fachleuten als bemerkenswert. Unter Heterogenie versteht man, wenn es für ein Merkmal mehr als ein Gen gibt oder aber wenn durch Mutation Gene so verändert werden, dass sie in Folge ein bestimmtes anderes Merkmal hervorrufen.

Grundsätzlich gelten Zecken die mit *B. spielmanii* (sp. nov.) infiziert sind als ansteckender, als z.B. Zecken die *B. afzelii* (Serotyp 2 / OspA Serotyp 2) in sich tragen. Das Verbreitungsgebiet von *B. spielmanii* (sp. nov.) korreliert nach bisherigen Wissen mit ecotonal-Gebieten (z.B. verzahnte Landschaften/ Übergangsbereiche: Wald u. Obstbau, Wald u. Weideland etc.) wo Kalkgestein vorkommt. Gebiete mit Kalkgestein sind i.d.R. verkarstet, wodurch die Felsen viele offene Klüfte und Höhlen aufweisen in denen sich die Stapelwirte (Gartenschläfer, Siebenschläfer etc.) von *B. spielmanii* (sp. nov.) häufig aufhalten - dies wird wohl schon jeder Karstkundler bzw. Speläologe (Höhlenforscher) beobachtet haben.

Hauptsymptome die bei einer *Borrelia valaisiana* Infektion auftreten können:

Erythema-Migrans (EM), Grippe-artige Erkrankung mit Fieber, Appetitlosigkeit, Frieren, Mattheit, Durchfall, Arthritis und Neuro-Borreliose ggf. mit einer Lähmung der unteren Glieder bzw. Bewegungseinschränkung der Beine (spastischer Paraparesis) und fortschreitender Rückenmarksschädigung (progressiver myelopathy) – es gelang z.B. ein Nachweis aus Nervenwasser (Griechenland 2004) oder in Japan (bzw. Kambodscha) aus der vom Patienten entfernten Zecke und dem Blut des Patienten 2005. Seit dem die Bestimmungsmethoden besser und genauer geworden sind, wird *B. valaisiana* inzwischen bei wissenschaftlichen Arbeiten immer häufiger mitbestimmt. Dies hat dazu geführt, dass *B. valaisiana* inzwischen zur dritthäufigsten Genospezies des Bb.sl.-Komplexes aufgestiegen ist, die in Europa nachgewiesen wird. In manchen Gegenden, wie z.B. in Deutschland im Siebengebirge (Lage südöstlich von Bonn) oder in Irland ist *B. valaisiana* sogar die dominanteste Bb.sl.-Subspezies.

Verbreitung: England, Irland, Schweden, Deutschland, Schweiz, Kroatien, Tschechien, Niederlande und weiteren Teilen Europas und Asiens (z.B. in China im Jangse-Tal).

Haupt-Reservior/Stapelwirt: Vögel (*Aves*) *B. valaisiana* verwandte bzw. phänotypisch unterscheidbare Stämme kommen z.B. in China, Japan, Korea und Taiwan auch in Mäusen (*Apodemus agrarius*), Spitzmäusen (*Crocidura watasei*) sowie Ratten (*Niviventer confucianus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus losea* etc.) vor. Untersuchungen in Thüringen geben Hinweise, dass auch in Deutschland bzw. Europa andere Reservoir-Tiere neben den Vögeln für *B. valaisiana* eine Rolle spielen müssen.

Hauptsymptome die bei einer *Borrelia lusitaniae* Infektion auftreten können:

Lyme-Borreliose mit allgem. Symptomatik, insbs. mit Vasculitis assoziiert (2008). In Portugal war *B. lusitaniae* der häufigste Vertreter des Bb.sl.-Komplex der nachgewiesen werden konnte. Unter Vaskulitis versteht man verschiedene Formen entzündlicher Gefäßerkrankungen. Vaskulitis ist eine seltene Autoimmunerkrankung, die unbehandelt i.d.R. zum Tod führen kann.

Verbreitung: Portugal, Ukraine, Tschechien, Moldavien bzw. Europa allgemein und in Teilen Asiens sowie Nordafrika.

Haupt-Reservior/Stapelwirt: Eidechsen (*Lacerta*).

Hauptsymptome die bei einer *Borrelia bissetti* Infektion auftreten können:

Herzerkrankungen und Neuro-Borreliose; bisher insbes. aus Herzklappen abgesondert (2008) sowie aus Nervenwasser (ZNS / Liquor). In Slowenien konnten bisher 9 verschiedene *B. bissetti*-Stämme und in Deutschland ein *B. bissetti*-Stamm aus Patienten isoliert werden (Stand 2006).

Verbreitung: (Nord-)Amerika, Europa - insbesondere bisher in Slowenien, Deutschland und Tschechien nachgewiesen. Anderswo wurden noch keine weitreichende wissenschaftlichen Arbeiten bzgl. diesen *Borrelia*-Genotyp durchgeführt, bzw. veröffentlicht.

Allerdings sind insgesamt weiterhin noch viele Untersuchungen an einer größeren Patienten- und Zecken-Anzahl in verschiedenen geographischen Regionen nötig, um zuverlässigere und bessere aussagekräftigere Daten zu erhalten. Die bisher gefundenen Unterschiede in den europäischen Borrelienpopulationen unterstreichen weiterhin die Notwendigkeit, weitere breitgefächerte Untersuchungen auf dem ganzen Kontinent durchzuführen. **So wurden i. d. R., je nach Land und Region, folgende *Borrelia*-Geno-Spezies bisher eher weniger bis überhaupt nicht beachtet bzw. nicht am Patienten dedektiert: *B. valaisiana*, *B. bissetti*, *B. spielmanii* (auch A14S genannt), *B. lusitaniae* und ggf. noch mehr *Borrelia*-Spezies (z.B. die anderen IST-Cluster).**

Nachfolgend Beispiele zur klein gegliederten regionalen Heterogenität, welche uns veranschaulichen mögen das dringend weitere Untersuchungen nötig sind (Zitat aus [17]):

...[Borrelia afzelii (Geno-Typ 2) in Großraum Göttingen (Niedersachsen) ist z.B. jede dritte Zecke Träger des Erregers, also dort die am häufigsten vorkommende Borrelia-Subspezies die eine Borreliose vom Typ Lyme-Krankheit (low-dose-borreliosis) auslösen kann. Aber in unmittelbarer Nachbarschaft, im Eichsfeld (Nordthüringen), sieht dies schon ganz anders aus. Im Eichsfeld ist

z.B. *B. valaisiana* die dominierendste Subspezies, gefolgt von *B. garinii*, *B. afzelli* und zu guter letzt von *B. burgdorferi* ss.] ... [In Norddeutschland (Schleswig-Holstein, Großraum Kiel) sieht die Häufigkeitsverteilung hingegen ganz anders aus (Stand 4/2004): 1.- *Borrelia burgdorferi* s.s. (51 %), 2.- *Borrelia garinii* (27,4 %), 3.- *Borrelia afzelli* (13,7 %), 4.- *Borelia valaisiana* (7,8 %).] ... [In Süddeutschland wiederum abweichend (Stand 4/2004): 1.- *Borrelia garinii* (50 %), 2.- *Borrelia burgdorferi* s.s. und *Borrelia afzelii* (23 %), 3.- *Borelia valaisiana* (4 %).] ...

Auch zu bedenken gilt ggf., dass als Sonderform (Frage AH: oder fehlen nur Studien hierzu ?) **Borreliosen der Rückfallfieber-Subspezies ähnlich verlaufen können wie eine Neuro-Borreliose vom Typ Lyme-Erkrankung oder eine Neuro-Syphilis.** Charakterisiert wird diese Sonderform durch Schädigung der weißen Hirnsubstanz (ggf. MS-artige Entzündungsherde), schwache bis starke Fieberschübe mit langen latenten (schlafenden) Infektionsphasen. **Insbesondere *Borrelia persica*, bzw. *B. usbekistana* kann zu tödlichen ZNS-Komplikationen führen** (bekannt seit 2000).

Anmerkung 13 von AH: **Leider wird der "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" derzeit noch nicht in Deutschland angeboten und ist somit auch keine Kassenleistung der gesetzlichen Krankenkassen (GKV), obwohl er die vorab beschriebenen menschenpathogenen Borrelia-Sub-Spezies** (Bb. sl.-Komplex etc.) **wohl fast alle detektieren würde** (siehe oben). Bis auf *B. lusitaniae* und die neue asiatischen *B. bavarinensis* Spezies (Ist10-Cluster), welche aber beide für Deutschland weniger eine Rolle spielen sollten (Stand 2024). Auch die Rückfallfieber-Subspezies detektiert er nicht, aber i.d.R. die indirekten Zwei-Stufen-Tests auch nicht.

Wie kann ich als „unklarer“ bzw. bisher nicht laborchemisch bestätigter Borreliose-Patient den "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" durchführen lassen?

Laut Angaben der Kassenärztlichen Vereinigungen (GKV sind dort Mitglied) wird die Labordiagnostik erstattet, wenn „eine medizinische Notwendigkeit besteht“, und diese liegt im ärztlichen Ermessen. Zudem wird auf die Wirtschaftlichkeit und den Wirtschaftlichkeitsbonus hingewiesen. Allerdings bezahlen die GKV nur was von ihnen als wirtschaftlich, medizinisch notwendig und ausreichend angesehen wird. Was nach Meinung der GKV über das medizinisch Notwendige hinausgeht, bezahlen sie nicht (siehe z.B. [18]) Bei Borreliose zahlen sie bisher in der Regel nur den sogenannten Zwei-Stufen-Test.

Das Bundesgesundheitsministerium schreibt hierzu folgendes (Zitat aus der aktuellsten Version, Website-Aufruf am 11.09.2024 [19]):

... [Außerdem ist geregelt, dass die Leistungen dem Wirtschaftlichkeitsgebot genügen müssen. Das heißt, sie müssen ausreichend, zweckmäßig und wirtschaftlich sein und dürfen das Maß des Notwendigen nicht überschreiten. Die Vertragsärztinnen und Vertragsärzte sind im Rahmen ihres Sicherstellungsauftrages zur Erbringung dieser Leistungen verpflichtet.] ...

... [Für neue Diagnose- und Therapieverfahren entscheidet der Gemeinsame Bundesausschuss, ob diese den genannten Anforderungen genügen und somit von der gesetzlichen Krankenversicherung erbracht werden können. Die Vergütung der vom anerkannten neuen Diagnose- und Therapieverfahren wird dann ebenfalls im Einheitlichen Bewertungsmaßstab (EBM) festgelegt.] ...

... [Welche Leistungen im Einzelfall von der gesetzlichen Krankenversicherung übernommen werden, erfahren Versicherte bei ihrer Krankenkasse. Ist die Geschäftsstelle einer gesetzlichen Krankenkasse vor Ort hierzu nicht in der Lage, ist es ihre Aufgabe, eine Klärung durch Rückfragen innerhalb der Krankenkassen oder innerhalb des Verbandes, dem die Krankenkasse angehört, herbeizuführen.] ...

... [**Nach einer Entscheidung des Bundesverfassungsgerichts** (Beschluss des Ersten Senats vom 6. Dezember 2005 - 1 BvR 347/98) **können Versicherte mit einer lebensbedrohlichen oder regelmäßig tödlichen Erkrankung oder mit einer zumindest wertungsmäßig vergleichbaren Erkrankung, für die eine allgemein anerkannte, dem medizinischen Standard entsprechende Leistung nicht zur Verfügung steht, auch eine vom nicht anerkannte Untersuchungs- oder Behandlungsmethode beanspruchen. Voraussetzung ist eine nicht ganz entfernt liegende Aussicht auf Heilung oder auf eine spürbare positive Einwirkung auf den Krankheitsverlauf.** Dies wurde mit dem - Versorgungsstrukturgesetz in § 2 Absatz 1a V für das Leistungsrecht der gesetzlich klargestellt.] ...

Aus vorgenannten Gründen, da die Lyme-Borreliose i. d. R. nicht als lebensbedrohlich noch tödlich angesehen wird, werden - wahrscheinlich - viele Borreliose-Patienten, bei denen die indirekten Zwei-Stufen-Tests ein negatives Ergebnis angezeigt haben, als Psychosomatiker oder Hypochonder von einigen Ärzten eingestuft (Ausnahmen bestätigen die Regel). Oder aber sie bekommen eine Syndromdiagnose wie z.B. MS, Rheuma, Fybromyalgie, Alzheimer (DAT) etc. und müssen dann damit leben, weil es ja viele andere Patienten gibt die auch damit leben müssen. Dann **müssen die Patienten eventuelle Zusatz-Diagnostik selber bezahlen** wenn sie Klarheit haben wollen, **und einen Arzt finden der bereit ist die entsprechende Diagnostik zu veranlassen.**

Dies trifft leider - noch - auf den "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" zu.

Am kostengünstigsten ist es deswegen derzeit noch sich als Patienten in einer „Borreliose-Selbsthilfegruppe“ zusammen zu finden, einen Patientenpool zu bilden um z. B. an einem Montag (Anfang der Woche) , gemeinsam bei einem Arzt des Vertrauens, Urin abzugeben **und die einzelnen Proben dann als Sammelpaket über Nacht in die USA zum Labor zu senden.**

Ein lizenziertes Gesundheitsdienstleister kann ein Urin-Kit mittels [Online-Bestellungsformular](#) bestellen. Das Kit wird dann an die Praxis des Anbieters oder direkt an den Patienten geliefert, je nach Wunsch. Das Päckchen enthält eine Urintasse (Becher mit Deckel), die notwendigen Formulare, eine Probensammelanleitungen und Verpackungs-/Versandmaterialien.

Nachfolgend die Adresse vom Labor in den USA welches den "Lyme-Borrelia-Nanotrap® test" anbietet.

Galaxy Diagnostics, Inc.
6 Davis Drive, Suite 201
Research Triangle Park, NC 27709
Tel.: 919-313-9672
Fax: 919-287-2476
E-Mail: contact@galaxydx.com

Wer spezifische Informationen z. B. über Borrelia s. s. und s. l. suchen will, kann ggf. gezielt nach wissenschaftlichen Artikeln in den nachfolgenden Datenbanken suchen. Dort ist einiges zur Genetik und den Epitopen von Bakterien (u. a. Borrelien VFTK-Epitop) zu finden.

- GenBank: Eine umfassende Datenbank für genetische Sequenzen, die zahlreiche Informationen enthält.
- PubMed: Eine Datenbank für wissenschaftliche Artikel, in der nach entsprechenden Studien gesucht werden kann. Oft werden in diesen Studien spezifische Stämme erwähnt.
- European Nucleotide Archive (ENA): Eine weitere Datenbank, die genetische Sequenzen speichert und Informationen über verschiedene Mikroben, einschließlich Borrelia, bereitstellt.
- Bacterial Diversity Metadatabase (BacDive): Diese Datenbank bietet Informationen über verschiedene Bakterienstämme, einschließlich ihrer Eigenschaften und genetischen Informationen.
- BioCyc: Diese Datenbank bietet Organismusspezifisch Information.
- Genomes On Line Database: Diese Datenbank bietet Organismusspezifisch Information.
- Integrated Microbial Genoms: Diese Datenbank bietet Organismusspezifisch Information.
- Global Biotic Interactions: Diese Datenbank bietet Information zur Taxonomie (Einordnung der Lebewesen in systematische Kategorien) und Phylogenetik (Verwandtschaftsbeziehungen).
- OMA Browser Orthologous Matrix: Diese Datenbank bietet Information zur Taxonomie (Einordnung der Lebewesen in systematische Kategorien) und Phylogenetik (Verwandtschaftsbeziehungen).
- Immune Epitope Database and Analysis Resource: Diese Datenbank bietet Daten krankheitsspezifisch zu Gene und Proteinen.

Quellen:

- [1] - Galaxy Diagnostics, Inc. (2024): Lyme-Borrelia-Nanotrap® test; Galaxy Diagnostics, Inc.; 6 Davis Drive, Suite 201; Research Triangle Park, NC 27709; P: 919-313-9672; F: 919-287-2476 / Kontakt: contact@galaxydx.com / Website: <https://www.galaxydx.com/nanotrap-urine-test-for-lyme-disease/>
- [2] - Fingerle, V., Sing, A., Hofmann, H. (2015): Lyme-Borreliose: Fallstricke bei Diagnose und Therapie; Supplement: Perspektiven der Infektiologie ; Dt. Ärzteblatt, 2015; 112(23): [15]; DOI: 10.3238; PersInfek. 2015.06.05.03; <https://www.aerzteblatt.de/archiv/170775/Lyme-Borreliose-Fallstricke-bei-Diagnose-und-Therapie>
- [3] - Magni, R., Espina, B. H., Sahb, K., Lepene, B., Mayuga, Ch., Douglas, T. A., Espina, V., Rucker, S., Dunlap, R., Petricoin, E. F. III, Kilavos, M. F., Poretz, D. M., Irwin, G. R., Shor, S. M., Liotta, L. A., Luchini, A. (2015): Application of Nanotrap technology for high sensitivity measurement of urinary outer surface protein A carboxyl-terminus domain in early stage Lyme borreliosis; Research [Open access](#); Published: J Transl Med. 2015; 13: 346.; DOI: 10.1186/s12967-015-0701-z; PMID: 26537892; PMCID: PMC4634744; PMID: 26537892; https://www.researchgate.net/publication/283534780_Application_of_Nanotrap_technology_for_high_sensitivity_measurement_of_urinary_outer_surface_protein_A_carboxyl-terminus_domain_in_early_stage_Lyme_borreliosis
- [4] - Magni, R. (2015/2016): Multi-affinity Nanotraps that enhance detection of low-abundant proteins: a novel and highly sensitive test for the diagnosis of Lyme disease; Matricola N° R10525; Tesi di Dottorato di Ricerca Bio/10; Tutore: Prof.ssa Battaglia, Cr.; Co-tutore: Dott.ssa Luchini, A.; Coordinatore del Dottorato: Prof. Clerici, M.; Università degli Studi di Milano; Dottore in Medicina Molecolare e Traslazionale; Ciclo XXIX; Tesi Dottorato di Ricerca Bio/10; Anno accademico 2015/2016; https://air.unimi.it/retrieve/dfa8b997-13d8-748b-e053-3a05fe0a3a96/phd_unimi_R10525.pdf
- [5] - Zumstein, G. et al. (1992): Genetic polymorphism of the gene encoding the outer surface protein A (OspA) of Borrelia burgdorferi.; Med. Microbiol. Immunol. (Berl.) 181, 57-70
- [6] - Lee, J. T., Li, Z., Nunez, L. D., Katzel, D., Perrin Jr., B. S., Raghuraman, V., Raiyaguru, U., Llamera, K. E., Andrew, L., Anderson, A. S., Hovius, J. W., Liberator, P. A., Simon, R., Hao, L. (2024): Development of a sequence-based in silico OspA typing method for Borrelia burgdorferi sensu lato; Jorنال List; Microb Genom 2024; 10(5): PMC11165634; DOI: 10.1099/mgen.0.001252; Published online 2024 May 24. PMID: 38787376; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11165634/>
- [7] - Franke, Dipl. Biol.; J.(2010): Zur Bedeutung des Vektors Ixodes ricinus und verschiedener Wirtsspezies für die Verbreitung zeckenassoziierter Krankheitserreger; Dissertation Zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.); vorgelegt dem Rat der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena von Dipl. Biol.

Jan Franke geboren am 14. 12. 1977 in Rudolstadt; Dekan: Prof. Dr. Frank H. Hellwig, 1. Gutachter: Prof. Dr. Wolfram Dorn, Jena, 2. Gutachter: Prof. Dr. Jochen Süss, Jena, 3. Gutachter: Prof. Dr. Ute Mackenstedt, Hohenheim, Datum der Disputation: 12. April 2010

https://www.db-thueringen.de/servlets/MCRFileNodeServlet/dbt_derivate_00020596/Franke/Dissertation.pdf

[8] - Pauliks, K. (2009): Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* sensu lato und *Babesia* spp. In *Ixodes ricinus*-Zecken im Naherholungsgebiet Zeitgrund in Thüringen; Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades doctor medicinae (Dr. med.); vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena von Katharina Pauliks geboren am 04.04.1982 in Jena; Gutachter: 1. Straube, Prof. Dr. med. (Uni-Klinikum Jena), E., 2. Hein, Prof. Dr. med. (Uni-Klinikum Jena), G., 3. Stanek, Prof. Dr. med. (Uni. Wien), G.; Tag der öffentlichen Verteidigung: 07.12.2009;

<https://core.ac.uk/download/pdf/224757908.pdf>

[9] - Fingerle, Dr., V. (2023-08-08): Die Lyme-Borreliose; NRZ / Nationales Referenzzentrum für Borrelien - Das NRZ für Borrelien ist seit 01.01.2008 am LGL angesiedelt; Gesundheit; Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit;

https://www.lgl.bayern.de/gesundheit/infektionsschutz/infektionskrankheiten_a_z/borreliose/lyme.htm;

<https://www.nrz-hygiene.de/aufgaben>

[10] - Eisendle, K., MD, PhD, Grabner, T., MD, Zelger, B. W. H., MD, Msc (2007): Focus Floating Microscopy "Gold Standard" for Cutaneous Borreliosis? *Borrelia burgdorferi*; Immunohistochemistry; Polymerase chain reaction; *Am J Clin Pathol* 2007;127:213-222; 222 DOI: 10.1309/3369XXFPEQUNEP5C; © American Society for Clinical Pathology; See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/6589903>

[11] - White, MD, K. P., Barry, DO, C. I., Patterson, MD, J. W. (2008): Focus-Floating Microscopy for Detecting *Borrelia* Species in Tissue Sections - Back to Basics; *Arch Dermatol.* 2008;144(5):662-663.;

DOI:10.1001/archderm.144.5.662;

<https://jamanetwork.com/journals/jamadermatology/article-abstract/419652>

[12] - Hartwig, A. (2004): Manifestierte klinische Symptome der Borreliose; Was jeder über die Zecken-induzierte Borreliose vom Typ Lyme-Krankheit, bzw. Lyme-Borreliose wissen sollte!; Ins Internet gestellt von 4/2004 bis 8/2016, auf mehrfachen Wunsch neu ab 11/2017; zuletzt aktualisiert: 11/2017; Febr. 2004 / © all rights for this home-page are reserved by web-master;

<https://borreliose-zecken-ms.de/abbsymp.html>

[13] - Valneva (2024): Die placebokontrollierte Phase-3-Studie, Vaccine Against Lyme for Outdoor Recreationists (VALOR) (NCT05477524), untersucht die

Wirksamkeit, Sicherheit und Immunogenität von VLA15 bei Teilnehmern ab 5 Jahren. 9.437 Probanden in Borreliose endemischen Gebieten der USA, Europa und Kanada wurden in die Studie aufgenommen.; VLA15 - Valnevas Lyme Borreliose-Impfstoffkandidat;

<https://valneva.com/research-development/lyme-disease/?lang=de>

[14] - Dettwyler, R., Gomes-Solecki, m. (2022): The year that shaped the outcome of the OspA vaccine for human Lyme disease; NPI Vaccines 2022; 7: 10; Published online 2022 Jan 27. DOI: 10.1038/s41541-022-00492-5; PMID: PMC8795424; PMID: 35087055;

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8795424/>

[15] - Comstedt, P., Schüler, W., Meinke, A., Lundberg, U. (2017): The novel Lyme borreliosis vaccine VLA15 shows broad protection against *Borrelia* species expressing six different OspA serotypes; PLOS; Published: September 1, 2017;

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184357>;

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0184357>

[16] - Michel, H. (2005): Entwicklung und Evaluierung molekularbiologischer Nachweismethoden zur Spezies- und OspA-Typ-Differenzierung von *Borrelia burgdorferi sensu lato*; Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München; Tag der mündlichen Prüfung: 24.11.2005; Aus dem Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München Direktor: Professor Dr. med. Dr. rer. nat. Jürgen Heesemann; Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München; Berichterstatter: Prof. Dr. med. B. Wilske; Mitberichtersteller: Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Seidel, Priv. Doz. Dr. Dr. H. Rinder; Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter: Dr. med. V. Fingerle; Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt;

<https://edoc.ub.uni-muenchen.de/4545/>

[17] - Hartwig, A. (2004): Merkblatt - Was jeder über die Zecken-induzierte Borreliose vom Typ Lyme-Krankheit, bzw. Lyme-Borreliose wissen sollte!; Ins Internet gestellt von 4/2004 bis 8/2016, auf mehrfachen Wunsch neu ab 11/2017; zuletzt aktualisiert: 11/2017; Febr. 2004 / © all rights for this home-page are reserved by web-master;

<https://borreliose-zecken-ms.de/merkbl.html>

[18] - Birklebach, Dr., B. (2024): Wird die Labordiagnostik bei Eisenmangel erstattet?, Eisenmangel: Wann zahlt die Krankenkasse für Labor und Supplementation?; Medzin; Wirtschaftsmedizin für die haurärztliche Praxis; VWA / Verband Wirtschaft & Arzt e.V., Belfortstr. 9, 50688 Köln; S. 34; 29. Jahrgang, Juli/August Nr. 4/2024

https://www.der-niedergelassene-arzt.de/fileadmin/user_upload/EPaper/Wimas/Wima_h/2024/wima_h_04/34/#zoom=true

[19] – Bundesministerium für Gesundheit (2024): Leistungskatalog der Krankenversicherung; Service; © Copyright 2024 Bundesministerium für Gesundheit; Stand: 17. August 2016;
<https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z//leistungskatalog>

Dieser Info-Flyer wurde ehrenamtlich und ohne finanzielle Interessen von Andreas Hartwig erstellt (10/2024).

Webmaster und Verfasser der Info-Website
<https://borreliose-zecken-ms.de/>