

3. Ergebnisse

3.1. IFT - Ergebnisse

3.1.1. Gesamtanzahl der HGA-positiven Seren im IFT

Um zu prüfen, ob in den Seren der Borreliose-positiven Patienten, die nachweislich einen Zeckenstich gehabt haben, Antikörper gegen *A. phagocytophilum* nachgewiesen werden können, wurden alle Proben zuerst mit dem IgG IFT überprüft.

Von den 422 im IgG IFT getesteten Borreliose-positiven Seren hatten 19 einen Antikörpertiter von ≥ 64 gegen *A. phagocytophilum*. Das entspricht einem prozentualen Anteil von 4,5 % (Tab. 12).

Tab. 12: HGA-positive Seren (IFT) in verschiedenen Patientengruppen

	Borreliose-positive Seren	Kontrollseren insgesamt	Lues-positive Seren	Chlamydien-positive Seren
Anzahl der untersuchten Seren	422	249	107	142
HGA IgG positive Seren	19 (4,5%)	3 (1,2%)	1 (0,9%)	2 (1,4%)

3 Proben (1,2%) der insgesamt 249 Kontrollseren wiesen ebenfalls IgG-Antikörper (mit einem Titer ≥ 64) gegen *A. phagocytophilum* auf; es handelte sich um 1 Lues-positives Serum und 2 Chlamydien-positive Seren. Die 3 im IFT positiv getesteten Kontrollseren wurden im Borrelien-ELISA auf IgG- und IgM-Antikörper negativ getestet; auch im IFT waren diese Seren Borrelien-negativ.

Der Unterschied zwischen Borreliose- und Kontrollseren bezogen auf die Anzahl der HGA-positiven Seren ist statistisch signifikant ($p = 0,034$).

3.1.2. Titer der im IFT positiven Seren nach dem Verdünnen

Von den im IgG IFT positiv getesteten Seren wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt und damit der Titer ermittelt. Dabei ist auffällig, dass 16 der 19 Seren einen niedrigen Titer von 64 oder 128 aufwiesen, drei Seren hatten einen Titer von 256 bzw. 512 (Tab. 13).

Tab. 13: Titer der im IFT positiven Seren von Borreliose-Patienten

Titer nach Verdünnung	Anzahl der Seren
64	9
128	7
256	1
512	2

Für das Lues-positive Serum wurde ein HGA-IgG-Titer von 64 ermittelt, für die Chlamydien-positiven Seren Titer von 64 bzw. 256.

3.1.3. Vergleich von Alters- und Geschlechterverteilung

Das Durchschnittsalter der HGA-positiven Patienten entsprach mit 47,2 Jahren dem der Borreliose-positiven Patienten (Tab. 14).

Tab.14: Durchschnittsalter der verschiedenen Patientengruppen

	Borreliose – positive Seren	HGA – positive Seren	Kontrollgruppen zusammengefaßt	Lues – positive Seren	Chlamydien – positive Seren
Altersdurchschnitt	47,2 Jahre	47,2 Jahre	48,3 Jahre	47,8 Jahre	48,8 Jahre

Betrachtet man die Altersverteilung der Borreliose-positiven Patienten, die aufgrund des Einsendespektrums des Institutes wahrscheinlich nicht repräsentativ für Borreliose-positive Patienten im Allgemeinen ist, so erkennt man einen Verteilungsgipfel annäherungsweise einer Gauß'schen Verteilung entsprechend; die größte Häufung trat in der Gruppe der 51-60 Jahre alten Patienten auf (Abb. 5).

Die Altersverteilung der HGA-positiven Patienten wies ähnliche Charakteristika auf wie die der Borreliose-positiven Patienten (Abb. 6). Die Übereinstimmung in der Altersverteilung der beiden Patientengruppen ist naheliegend, da beide Erkrankungen, HGA und Borreliose, einen Zeckenkontakt voraussetzen, der besonders bei aktiven Menschen im mittleren Alter vorkommt.

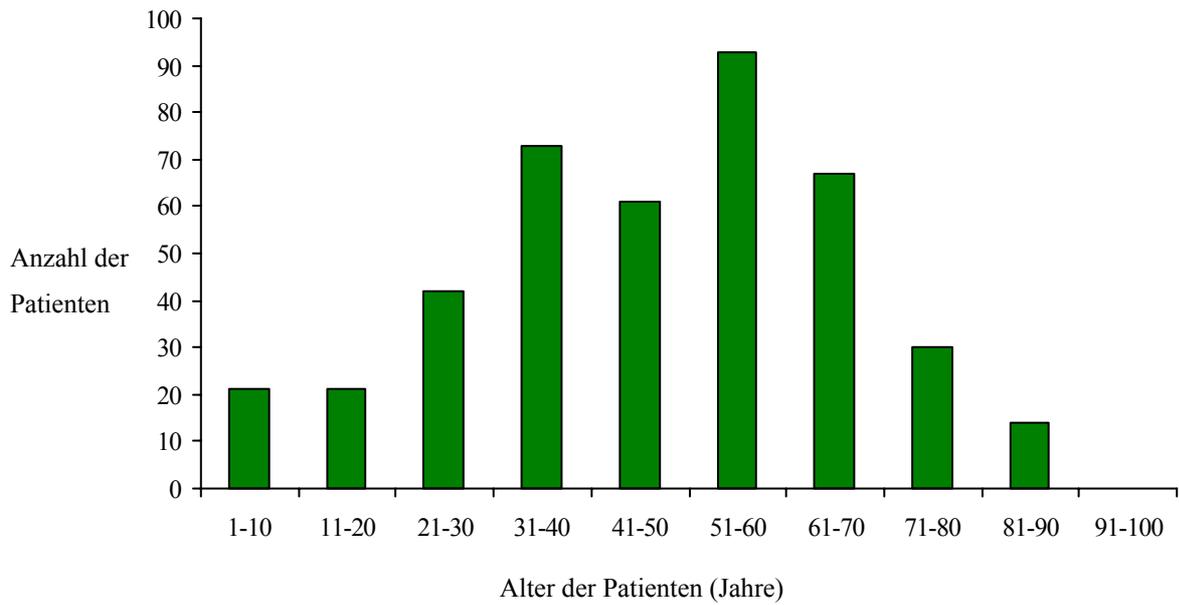


Abb. 5: Altersverteilung der Borreliose-positiven Patienten

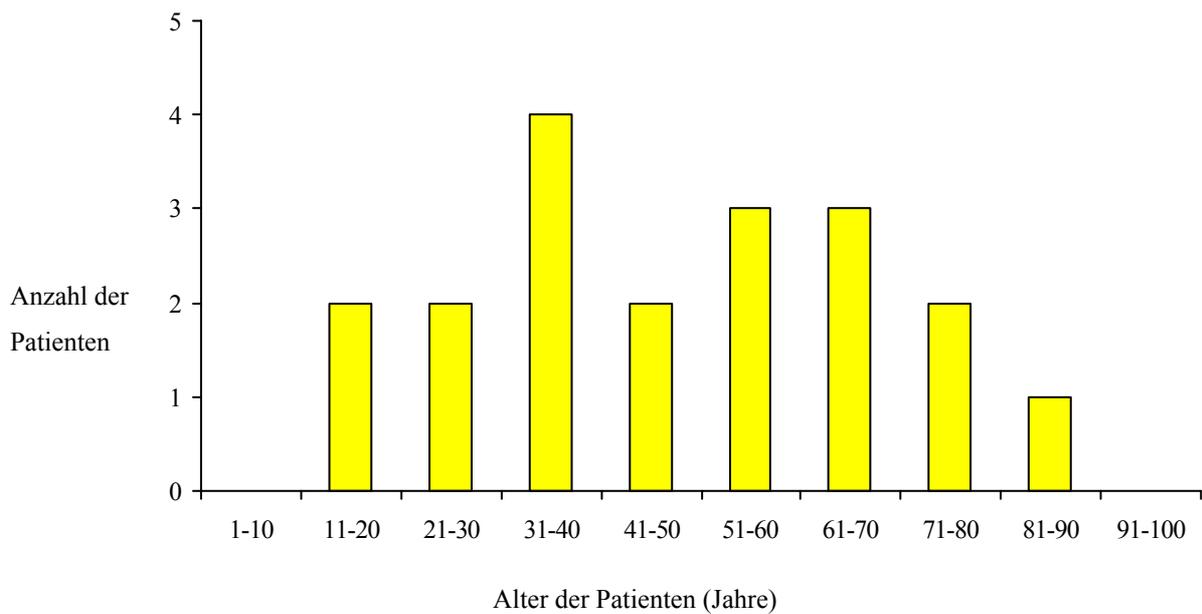


Abb. 6: Altersverteilung der HGA-positiven Patienten

Die Geschlechterverteilung der HGA-positiven Seren (7 Männer und 12 Frauen) unterschied sich nicht signifikant ($p = 0,24$) von derjenigen der anderen Patientengruppen (Tab. 15).

Tab. 15: Geschlechterverteilung der verschiedenen Patientengruppen

	Borreliose - positive Seren	HGA - positive Seren
Geschlechterverteilung Männer : Frauen	222 : 200	7 : 12
Verhältnis Männer : Frauen	1,1 : 1	1 : 1,7

3.1.4. Ergebnisse des IgM IFT der im IgG IFT positiven Seren

Die im IgG IFT positiv getesteten Seren wurden mit dem IgM IFT auf das Vorliegen von IgM-Antikörpern gegen *A. phagocytophilum* untersucht, um das mögliche Vorliegen einer frischen Infektion zu evaluieren. Von den 19 im IgG IFT positiven Proben aus der Gruppe der Borreliose-positiven Seren wiesen 4 einen relativ niedrigen IgM-Antikörpertiter von 20 auf (Tab. 16). Im IgG IFT hatten 3 dieser Seren einen Titer von 64, eines einen Titer von 128. Auffällig ist, dass 3 Seren im Jahr 1998 entnommen wurden, 1 Serum stammte aus dem Jahr 1999. In den 3 im IgG IFT HGA-positiven Seren aus der Kontrollgruppe waren keine IgM-Antikörper gegen *A. phagocytophilum* nachweisbar.

Tab. 16: Die 4 HGA IgM-positiven Seren im Überblick

	Geschlecht	Jahr der Serumentnahme	HGA IgG Titer	HGA IgM Titer	Borreliose IFT	Borreliose IgG	Borreliose IgM	Borreliose Western Blot
Pat. 1	w	1999	64	20	256	2,1	3,8	fraglich
Pat. 2	m	1998	128	20	128	2,5	1	+
Pat. 3	w	1998	64	20	64	0,3	3,4	+
Pat. 4	m	1998	64	20	64	1,9	0,3	fraglich

3.2. Western Blot Ergebnisse

Um das Vorhandensein von Antikörpern gegen *A. phagocytophilum* in den im IFT positiv getesteten Seren zu überprüfen, wurden diese Seren mit einer zweiten Testmethode untersucht, einem HGA IgG Western Blot.

Von den 22 im IFT positiven Seren der Borreliose-positiven Patientengruppe und der Kontrollgruppe bestätigten sich im Western Blot 7 Seren, das entspricht 31,8% (Tab. 17).

Tab. 17: Vergleich der Ergebnisse im IgG IFT und IgG Western Blot der Borreliose-positiven Patientengruppe und der Kontrollgruppe

HGA IgG IFT-positive Seren	HGA IgG IFT Titer nach Verdünnung	HGA Western Blot
1	256	Negativ
2	64	Positiv
3	128	Negativ
4	64	Negativ
5	64	Negativ
6	512	Positiv
7	64	Positiv
8	128	Negativ
9	128	Positiv
10	128	Negativ
11	64	Negativ
12	64	Positiv
13	512	Negativ
14	64	Positiv
15	128	Negativ
16	64	Negativ
17	128	Negativ
18	64	Negativ
19	128	Negativ
20	64	Positiv
21	256	Negativ
22	64	Negativ

Unter den Kontrollseren zeigte das im IgG IFT positiv getestete Serum aus der Gruppe der Lues-positiven Patienten auch im Western Blot eine positive Reaktion. Die zwei im IFT HGA-positiven Seren von Chlamydien-positiven Patienten waren im Western Blot negativ.

Eine Wiederholung des Western Blot erbrachte dieselben Ergebnisse. Auffällig ist, dass diese 7 Seren keine Korrelation zeigten mit den Seren, die im IFT einen hohen Titer erreichten. Fünf Seren hatten im IFT einen Titer von 64 und jeweils ein Serum einen Titer von 128 bzw. 512.

Im IgG Western Blot wiesen 3 von den 4 im HGA IgM IFT positiven Seren eine HGA-spezifische Bande auf. Die Werte des Borreliose IFT und Western Blot unterstützen bezogen auf diese Seren die Vermutung eines kurz vor der Serumentnahme erworbenen Zeckenstichs.

3.3. Klinische Befunde der HGA-positiven Patienten bei Vorstellung zur Entnahme des untersuchten Serums

Um anamnestische und klinische Informationen über die 22 Patienten mit einem positiven Antikörpernachweis gegen *A. phagocytophilum* zu erhalten, wurden die Patientenakten auf Hinweise auf eine HGA untersucht. Allerdings muss man berücksichtigen, dass bei diesen Patienten zum Zeitpunkt der Anamneseerhebung nicht nach einer HGA gesucht wurde. Es wurden bei der Bewertung der Patientenakten folgende Kriterien berücksichtigt:

1. Zeckenstichanamnese
2. Fieberanamnese
3. Myalgien
4. Leukozytopenie, Thrombozytopenie
5. Transaminasenanstieg

Die Anwendung dieser Kriterien ermöglichte die Einteilung der Patienten in drei Kategorien: Patienten mit einer „alten“, einer „frischen“ oder einer zu einem unbekanntem Zeitpunkt verlaufenen mit einem Zeckenstich assoziierten Infektion.

Dabei wurde eine „alte“ Infektion angenommen, wenn ein Zeckenstich länger als einen Monat vor dem Zeitpunkt der Serumentnahme wahrscheinlich war. Eine „frische“ Infektion musste das Kriterium einer positiven Zeckenstichanamnese innerhalb von 4 Wochen vor der Serumentnahme aufweisen. Fieber und Myalgien oder Blutbildveränderungen sollten helfen, die Vermutung einer akuten HGA näherzulegen.

ERGEBNISSE

Die 9 Patienten mit einer alten Infektion konnten sich ausnahmslos an eine mit einem Zeckenstich assoziierte Infektion (z. B. *Erythema chronicum migrans*) erinnern; diese hatte sich in einem Zeitraum von 1 bis 20 Jahren vor der Entnahme des untersuchten Serums ereignet (Tab. 18).

Tab. 18: Einteilung der HGA-positiven Patienten nach dem Infektionszeitpunkt

Zeitpunkt der Infektion unbekannt	„Alte“ Infektion	„Frische“ Infektion
Anamnestisch kein Zeckenstich erinnerbar Kein Fieber	Zeckenstich vor ≥ 1 Monat erinnerbar Kein Fieber	Zeckenstich vor ≤ 1 Monat erinnerbar Fieber Zeichen einer akuten HGA-Infektion
5 Patienten	9 Patienten	5 Patienten

Von den 5 Patienten, die die Kriterien einer frischen Infektion erfüllten, wiesen 3 Patienten ein *Erythema chronicum migrans* auf, das Borrelien-spezifische IgM eines Patienten war stark erhöht; eine Patientin hatte außerdem mehrere Zeichen einer akuten HGA-Infektion. Neben erhöhten Borrelien-spezifischem IgG und IgM hatte sie Fieber, Myalgien, Kopfschmerzen und eine Leukozytopenie von 3.300 Zellen/ μ l. Im HGA IFT hatte ihr Serum einen Titer von 256, im HGA Western Blot war es jedoch negativ. Der Borrelien IFT ergab einen Titer von 256, das Ergebnis des Borrelien Western Blot war fraglich positiv.

Aus der Anamnese von 3 der 4 IgM-positiven Patienten, die alle einen Zeckenstich innerhalb von 4 Wochen vor der Serumentnahme aufwiesen, geht hervor, dass diese den Zeckenstich in Berlin/Brandenburg erworben haben und aufgrund einer zeckenassoziierten Problematik in ein Krankenhaus in dieser Region aufgenommen wurden. Neurologische Symptome wie Polyradikulitis, Fazialisparese oder Abducensparese unterstützen die These einer zum Zeitpunkt der Serumentnahme ablaufenden Infektion. Neben der Borreliose kann auch die HGA neurologische Ausfälle wie z. B. eine Fazialisparese verursachen (BLANCO und OTEO, 2002).

Bei der Überprüfung der 3 Patientenakten der Kontrollgruppen fanden sich weder Hinweise auf einen Zeckenstich noch auf Fieber oder andere Zeichen einer HGA. Allerdings wurde bei der Aufnahme dieser Patienten auch nicht nach einer zeckenassoziierten Erkrankung gesucht.

3.4. Jahresverteilung der im IFT bzw. im Western Blot positiven Seren

Anschließend wurde untersucht, wie sich die im IFT bzw. Western Blot HGA-positiv getesteten Seren auf die Jahre verteilen, in denen sie entnommen wurden, um möglicherweise Unterschiede in der Seroprävalenz zu finden. Die 19 HGA-positiven Seren aus der Gruppe der Borreliose-positiven Proben verteilten sich nicht einheitlich auf die einzelnen Jahre, in denen sie entnommen wurden (Tab. 19).

Tab. 19: HGA-positive Seren (IFT) in der Gruppe der Borreliose-positiven Patienten verteilt auf den Zeitpunkt der Serumentnahme

Jahr der Serumentnahme	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Anzahl der untersuchten Seren aus dem jeweiligen Jahr	97	62	45	69	43	45	30	31
Anzahl der HGA IgG positiven Seren	1	1	0	4	6	3	2	2
Anzahl der positiven Seren in %	1,0	1,6	0	5,8	14,0	6,7	6,7	6,5

Betrachtet man den Zeitraum von 1994 bis 1997, in dem insgesamt 6 positive Seren in 273 Proben nachgewiesen werden konnten, und vergleicht diesen mit dem Zeitraum von 1998 bis 2001, der insgesamt 13 positive Seren in 149 Proben aufwies, stellt man eine deutliche Zunahme der Seroprävalenz in den Jahren 1998 bis 2001 fest. Der Unterschied in der Seroprävalenz innerhalb dieser 2 Zeiträume ist statistisch sehr signifikant ($p = 0,0045$).

Besonders deutlich werden die Unterschiede beim Vergleich der Anzahl an HGA-positiven Seren in den Jahren 1996 und 1998. Es konnte für die 45 untersuchten Seren aus dem Jahr 1996 keine positive Probe ermittelt werden, dagegen waren von den 43 im Jahr 1998 entnommenen Proben 6 positiv, das entspricht 14% (Tab. 19).

Im Zeitraum von 1999 bis 2001 beträgt der prozentuale Anteil der HGA-positiven Seren 6,6%. In diesen 3 Jahren kommen zwar insgesamt weniger positive Seren vor als in dem vorangehenden Jahr 1998, es ist jedoch auch in diesem Zeitraum der Nachweis der Existenz von Antikörpern gegen den Erreger der HGA gegeben.

In den Kontrollgruppen wurde unter den Lues-positiven Seren eine Probe (0,9%) aus dem Jahr 2001 positiv auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen *A. phagocytophilum* getestet, von den Chlamydien-positiven Seren waren 2 (1,4%) HGA-positiv, beide stammen aus dem Jahr 1998. Alle 3 HGA-positiven Seren aus den Kontrollgruppen wurden somit ebenfalls im Zeitraum von 1998 bis 2001 entnommen. Dies unterstreicht den Unterschied zwischen den Zeitperioden 1994 bis 1997 und 1998 bis 2001.

Bei der Verteilung der im Western Blot positiv getesteten Seren auf die Jahre, in denen diese entnommen wurden, lässt sich wie bei der Jahresverteilung der im IFT positiven Seren eine Häufung der positiven Seren im Zeitraum 1998 bis 2001 feststellen. Dagegen gab es im Zeitraum von 1994 bis 1997 nur eine positive Probe (Tab. 20).

Tab. 20: HGA-positive Seren (Western Blot) verteilt auf den Zeitpunkt der Serumentnahme

Jahr der Serumentnahme	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Anzahl der im Western Blot HGA-positiven Seren	0	0	0	1	2	2	0	2

3.5. Temperaturvergleich der Wintermonate 1995/1996 und 1997/1998

Die Inzidenz anderer zeckenübertragener Infektionskrankheiten, z. B. Borreliose, ist abhängig von der Wintertemperatur des vorangehenden Jahres (GITHEKO et al., 2000). Um diese mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Inzidenzen der HGA-positiven Seren in den verschiedenen Jahren zu zeigen, wurden die Durchschnittstemperaturen der Wintermonate 1995/1996 und 1997/1998 miteinander verglichen, weil sich in diesen Jahren die größte Diskrepanz bezüglich des Anteils HGA-positiver Proben an den untersuchten Borreliose-positiven Seren zeigte.

Die jeweilige Durchschnittstemperatur der Wintermonate Dezember 1995, Januar und Februar 1996 lagen bei -2,6°C, -3,9°C und -2,5°C; demgegenüber betrug die Durchschnittstemperatur der Monate Dezember 1997, Januar und Februar 1998 +2,1°C, +3,2°C und +5,9°C (Tab. 21).

Tab. 21: Vergleich der Temperaturen der Wintermonate 1995/1996 und 1997/1998

	Winter 1995/1996			Winter 1997/1998		
	Dezember 1995	Januar 1996	Februar 1996	Dezember 1997	Januar 1998	Februar 1998
Monatsdurchschnittstemperatur	-2,6°C	-3,9°C	-2,5°C	+2,1°C	+3,2°C	+5,9°C
Abweichung von der Monatsdurchschnittstemperatur	-3,5°C	-3,5°C	-2,7°C	+1,2°C	+3,6°C	+5,8°C
niedrigste Tagesdurchschnittstemperatur	-11°C	-11,8°C	-11,2°C	-10,3°C	-5,5°C	-7,3°C
Anzahl der Tage unter 0°C	24	25	21	6	7	4

Während in jedem Wintermonat 1995/96 mindestens eine Tagesdurchschnittstemperatur unter -11°C lag, so erreichte der Januar 1998 als Tiefsttemperatur -5,5°C, der kälteste Tag im Februar 1998 hatte eine Durchschnittstemperatur von -7,3°C (Tab. 21).

Deutlich werden die Temperaturunterschiede ebenfalls beim Vergleich der Abweichungen von der Monatsdurchschnittstemperatur: Die Wintermonate 1995/1996 waren zwischen -2,7°C und -3,5°C kälter als die Durchschnittstemperatur der letzten 30 Jahre, die Wintermonate 1997/1998 dagegen waren zwischen 1,2°C und 5,8°C wärmer als diese. Ein Vergleich der Anzahl der Tage in einem Wintermonat, die eine Temperatur von unter 0°C aufwiesen, zeigt nochmals die extremen klimatischen Unterschiede zwischen diesen Wintern: 1995/1996 wies jeder Wintermonat mehr als 20 Tage mit einer Tagesdurchschnittstemperatur unter 0°C auf, 1997/1998 waren es nur 4 - 7 Tage pro Wintermonat (Tab. 21).

Die Abbildungen 7 und 8 verdeutlichen die Temperaturabweichungen der Wintermonate 1995/1996 und 1997/1998 von der Durchschnittstemperatur der letzten 30 Jahre. Danach wies das Jahr 1996 neben dem kalten Winter auch relativ kalte Frühlings- und Sommermonate auf. Im Gegensatz dazu war nicht nur der Winter 1997/1998, sondern auch der gesamte Frühling (März, April, Mai) des Jahres 1998 wärmer als die Durchschnittstemperatur der letzten 30 Jahre.

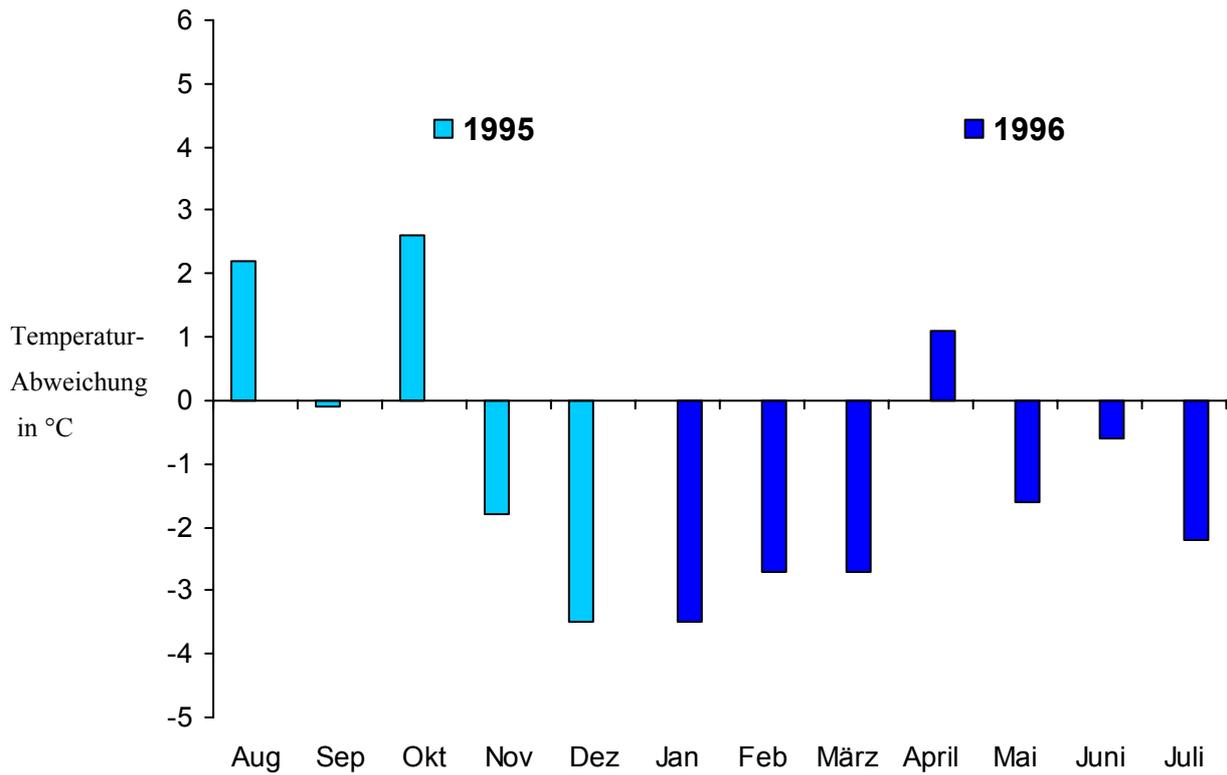


Abb. 7: Abweichungen der Temperatur in Berlin/Dahlem für 1995/1996 von der Durchschnittstemperatur der letzten 30 Jahre

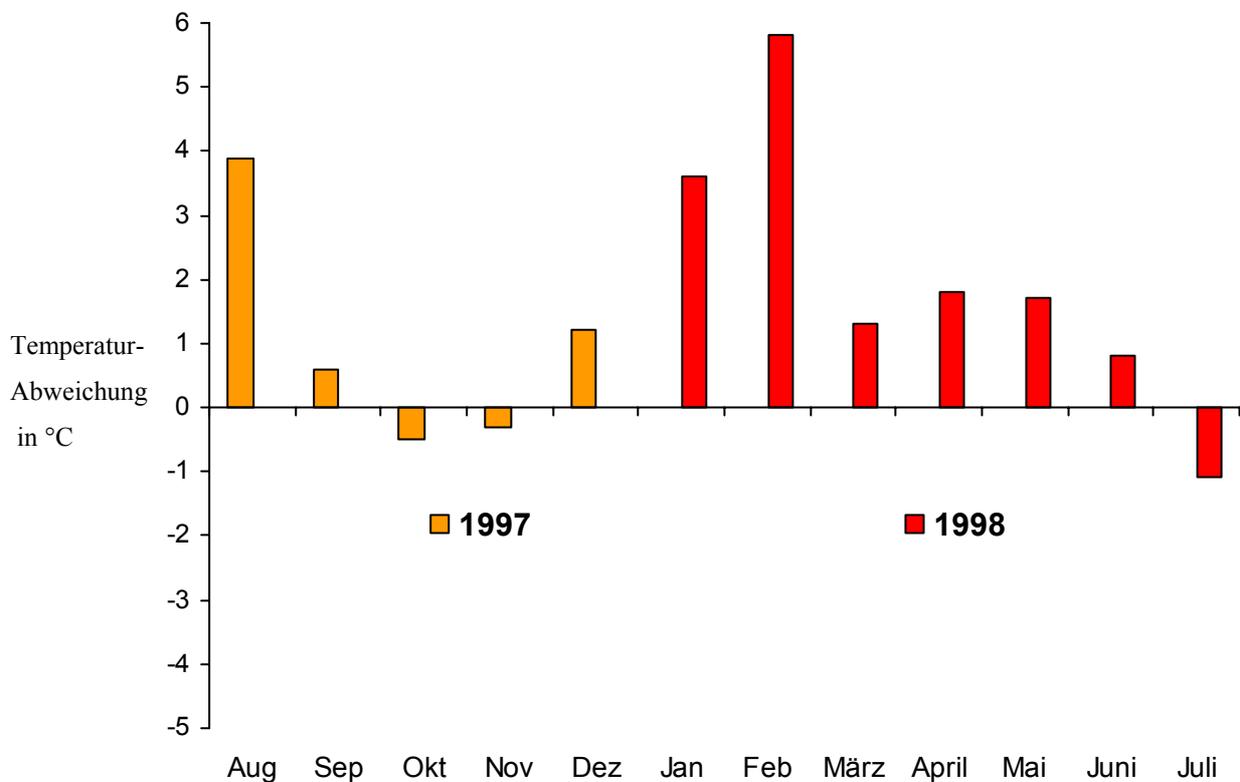


Abb. 8: Abweichungen der Temperatur in Berlin/Dahlem für 1997/1998 von der Durchschnittstemperatur der letzten 30 Jahre