

Laboriediagnostikk av Lyme-borreliose

Er norske leger og laboratorier for dårlige til å påvise borreliose, slik mediene gjentatte ganger i den senere tid har hevdet? Rekvirerende lege bør skjerpe indikasjonsstillingen ved prøvetaking – bare slik får vi optimalt prøveresultat. Det finnes ikke laboratorietester for påvisning av den såkalte postborreliosesykdommen. De mye omtalte testene fra tyske laboratorier er ikke internasjonalt anerkjent for diagnostisering av borreliose.

Bjørn-Erik Kristiansen

bjorn.erik.kristiansen@unilabs.com

Unilabs Telelab

Postboks 1868 Gulset

3703 Skien

og

Forskningsgruppe for vert-mikrobe-interaksjoner

Institutt for medisinsk biologi

Universitetet i Tromsø

Nils Grude

Mikrobiologisk avdeling

Sykehuset i Vestfold

Yngvar Tveten

Sykehuset Telemark Skien

og

Mikrobiologisk avdeling

Sykehuset i Vestfold

Andreas Emmert

Mikrobiologisk avdeling

Sykehuset i Vestfold

Nyhetsmediene har i vår og sommer ofret mye spalteplass på Lyme-borreliose (1). Det har vært hevdet at norske leger og laboratorier er for dårlige til å påvise sykdommen. Tyske laboratorier har gitt tilbud om diagnostikk og behandling – til høye priser. I tillegg har det vært oppmerksomhet omkring den såkalte postborreliosetilstanden, som angivelig rammer enkelte som gjennomgår behandling for borreliose.

Lyme-borreliose

Sykdommen Lyme-borreliose forårsakes i Europa hovedsakelig av *Borrelia garinii* eller *B. afzelii*, mens det i USA er *B. burgdorferi sensu stricto* som er årsaken. Bakteriene overføres via flåttbitt. Klinisk inndeles borreliose i tre stadier (2, 3). Stadium 1 er erythema migrans (ringformet, kløende erytematøs inflammasjon omkring bittstedet), som oppstår dager til uker etter flåttbittet. Stadium 2 inntreffer uker til måneder etter bittet, og hyppigst har pasienten nevroborreliose, artritt eller karditt. Måneder til år etter bittet går sykdommen over i stadium 3, der den presenterer seg

som kronisk hudsykdom (akrodermatitt), kronisk nevroborreliose eller kronisk artritt.

Laborietester

Direkte metoder som mikroskopi av agens, antigenpåvisning, dyrking eller påvisning av bakteriens nukleinsyre er mindre egnet til påvisning av Lyme-borreliose. *Borrelia*-bakterien lar seg ikke mikroskopere ved gramfargingsteknikk. Bakterien kan dyrkes og kan påvises ved polymerasekjedereaksjon (PCR). Dyrking er arbeidskrevende og tar lang tid. Ved bruk av begge metoder vil man ved undersøkelse av spinalvæske ved nevroborreliose få positivt resultat hos kun 10–30 % av pasientene (4). Laborietest påvisning av borreliose skjer derfor indirekte ved at det blir påvist spesifikke antistoffer i serum som pasienten danner mot bakterien.

Ved nevroborreliose påvises også intratekal produksjon av borreliaspesifikke antistoffer i spinalvæske. Testene utføres i dag hovedsakelig med såkalt ELISA- eller kjemiluminescenssteknikk. I de tidligste testene var antigenet sonikat av helbakterier. Dette antigenet ga ofte kryssreaksjoner med andre bakterier, og testene var uspesifikke med stor mulighet for falskt positivt resultat. Senere ekstraherte man spesielle komponenter av bakterien, som flagellinprotein, og benyttet dette som antigen. I nyere tester er antigenet fremstilt ved rekombinant genteknologi. Dette har gjort det mulig å benytte antigener som bakterien kun uttrykker *in vivo*. Ett slikt antigen er C6-peptidet. Det er en del av yttermembranlipoproteinet VlsE, som ved infeksjon gir kraftig immunstimulering. Et rekombinant peptid fra det plasmidkodete OspC-proteinet, som gir tidlig immunstimulering, har vist seg velegnet til tidlig påvisning av IgM-antistoffer mot *Borrelia*. Bruken av rekombinante antigener har økt testenes sensitivitet og spesifisitet (2, 4–7). I USA og Tyskland bekrefter man en positiv ELISA-test med Western blot-metoden.

Denne metoden er imidlertid vanskelig å tolke og kan være uspesifikk. Testen anbefales ikke i en dansk ekspertrapport (2), og amerikanerne diskuterer å gå bort fra tottrinnsprinsippet og bruk av Western blot.

Testenes begrensninger

Til tross for tekniske forbedringer av testene har de fremdeles sine begrensninger:

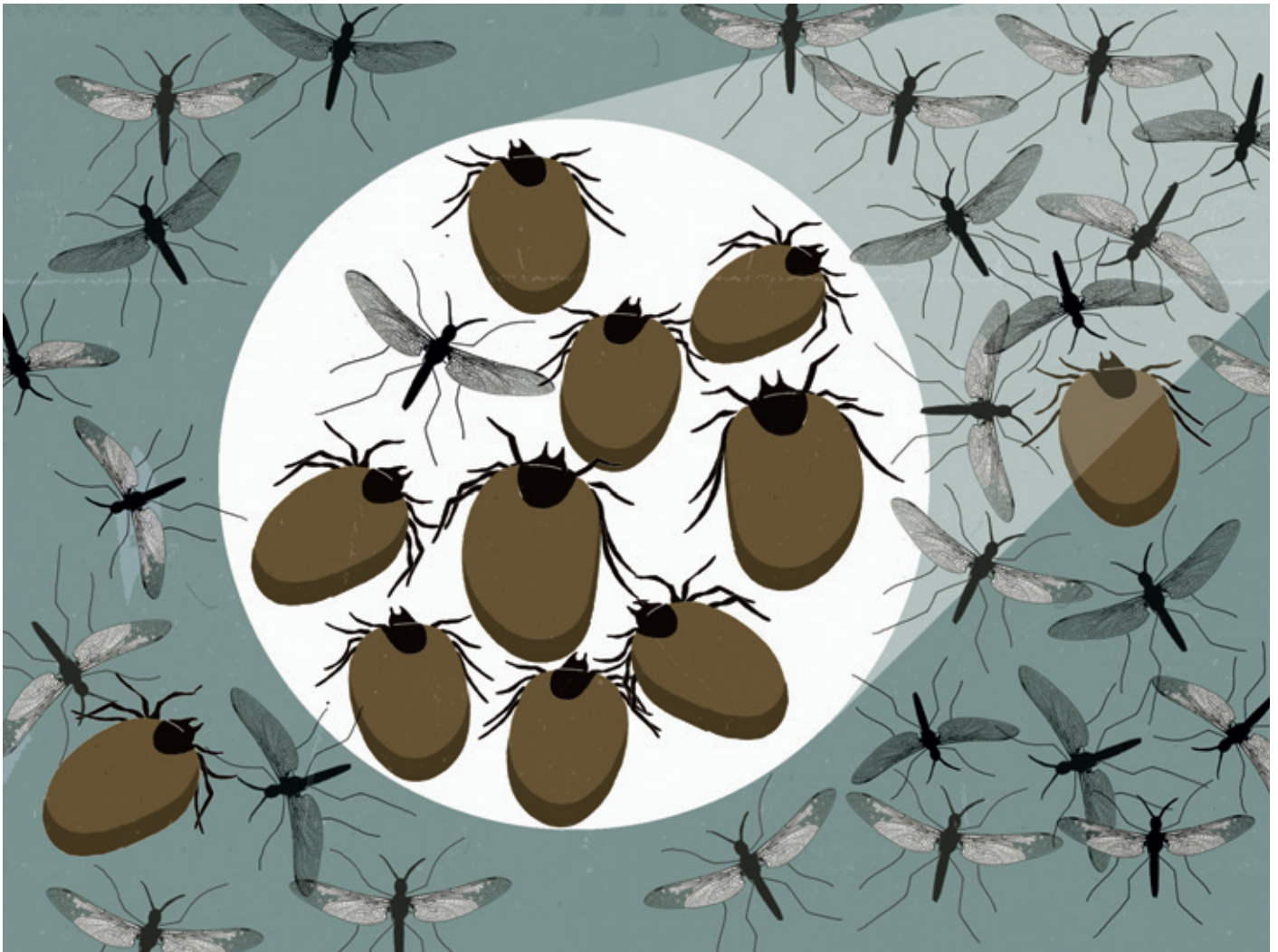
Borreliaspesifikke antistoffer (IgG) som påvises hos en person der man mistenker borreliose, kan være dannet etter immunstimulering lang tid tilbake og kan være uten sammenheng med aktuelle symptomer. I Norge er det påvist at opptil 18 % av blodgiverne i Agder-fylkene har antistoffer mot *Borrelia* (8), det finnes altså en viss bakgrunnsstøy.

De antigenene som benyttes i de diagnostiske testene, kan være noe forskjellig fra de antigenene som finnes i bakterier fra ulike geografiske områder. Forskjeller i antigenisitet mellom ulike kloner av bakterier kan forekomme. Om man skal bruke C6-peptidet som antigen, kan det se ut som det er nødvendig å fremstille C6 fra flere ulike kloner for å dekke variasjonen i Europa. Vi vet ikke hvor stor grad det er av peptidvariasjon i norske borreliakloner og om slik variasjon kan gi falskt negativt testresultat.

Mange som har borreliose i stadium 1 danner ikke antistoffer, sannsynligvis fordi antigenstimuleringen er for svak. Bare om lag 60 % av dem med erythema migrans vil danne antistoffer (IgM og/eller IgG) 3–4 uker etter symptomdebut (2, 4). Ved debut av erythema migrans vil under 30 % være antistoffpositive.

Antistoffdanningen kan komme sent. Ved debut av nevroborreliose kan det mangle antistoffer i serum hos et stort antall pasienter. 85 % blir positive 4–6 uker etter debuten, og først etter 6–8 uker er 100 % seropositive (2). Bruk av nyere tester med rekombinant antigen ser ut til å øke sensitiviteten for påvisning av antistoffer i både blod og spinalvæske hos pasienter med nevroborreliose.

Falskt positive IgM-resultater kan forekomme. Dette gjelder særlig første- og annengenerasjonstester, der kryssreaksjoner mot andre bakterier kan finne sted. Polyklonal aktivering, som ses ved Epstein-Barr-virusinfeksjoner, er en velkjent årsak til falskt positiv test. Naturlig forekommende p41-IgM-antistoffer finnes hos 1,5 % av befolkningen.



Illustrasjon Kari Stai/Patron

Det finnes flere produsenter av antistofftester for påvisning av borreliose. Produzentene kan anvende forskjellig antigen, og det er manglende standardisering. De fleste norske laboratorier benytter tester som inneholder rekombinant antigen for serologisk påvisning av borreliaspesifikke antistoffer. Men det vil alltid være individuelle ulikheter i den immunologiske respons, og det gjør diagnostikken vanskelig. Påvisning av Lyme-sykdom krever godt samarbeid mellom rekvirerende lege og laboratoriet. Diagnosen skal aldri være basert på et serologisk laboratorieresultat alene.

Rekvirentenes bidrag til best mulig prøvesvar

Dersom den rekvirerende legen er kritisk i sin indikasjonsstilling, vil prevalensen av sykdom i testpopulasjonen øke og den prediktive verdien av et positivt eller negativt resultat vil forbedres. For å illustrere dette kan man forestille seg en testpopulasjon der prevalensen av stadium 2- og stadium 3-sykdom er 1 % og at man har en test med en sensitivitet på 90 % og en spesifisitet på

95 %. Den prediktive verdien av et positivt prøveresultat (PPV) vil være 15 % – langt de fleste vil være falskt positive.

Man kan tenke seg to strategier for å bedre PPV-verdien. Testen kan forbedres slik at spesifisiteten øker til 99 % – PPV-verdien vil da øke til 48 %. Dersom rekvirentene bedrer sin indikasjonsstilling for prøvetaking slik at prevalensen av stadium 2-/stadium 3-sykdom øker til 20 % i testpopulasjonen, vil PPV-verdien øke til 82 %. Av dette ser vi at pretestforbedringer gir mye større utslag enn en forbedring av selve testen.

Vi har tidligere funnet at 15 % av norske flått inneholder borreliabakterier (9). En hyppig indikasjon på remissene er «Flått-bitt?». Serologiske tester er ikke egnet til å avgjøre om en person er blitt bitt av flått. Heller ikke ved erythema migrans er det indikasjon for serologisk testing på borreliose fordi så mange (40 %) ikke danner antistoffer. Erythema migrans er en klinisk diagnose, og pasienten skal behandles med penicillin etter standard retningslinjer. Et negativt svar vil kunne feiltolkes som fravær av borreliose i stadium 1 og behandling feilaktig unndras.

Slapphet og tretthetsfølelse som eneste symptom tilsier heller ikke prøvetaking. Og det anbefales ikke prøvetaking som kontroll av behandlingseffekt ved erkjent borreliose – fordi IgG-antistoffer kan persistere i flere år etter selv vellykket behandling. Indikasjon for prøvetaking er i hovedsak symptomer forenlig med stadium 2- eller stadium 3-borreliose. Det er særlig nytteverdi knyttet til påvisning av IgG-antistoffer. Der det er negativ test, men sterk mistanke om borreliose i stadium 2 eller stadium 3, kan det være nyttig å analysere en ny prøve tatt 4–6 uker senere og sende den negative prøven til et referanselaboratorium. Det er helt avgjørende med gode kliniske opplysninger for å kunne tolke analyseresultatene.

Postborreliosesykdom

Postborreliosesykdom er definert som vedvarende symptomer eller tilbakefall av uspesifikke symptomer (tretthet, muskel- og skjelettsmerter og kognitive symptomer) hos pasienter med påvist borreliose som har gjennomgått adekvat antibiotikabehandling (10). Objektivt bevis for persisterende

infeksjon er ikke påvist, verken ved PCR- bruk eller ved dyrking. Antistoffer kan persistere i mange år. Selv IgM kan hos enkelte påvises ti år etter vellykket behandling for nevroborreliose (11). Antistoff- tester er derfor lite egnet til å følge behand- lingseffekt eller til å bedømme sykdomsakti- vitet. C6-testen har vist seg nyttig i å følge pasienter med påviselig akutt borrelia- sykdom, men den har ikke kunnet bidra til å vurdere behandlingseffekten hos personer med postborreliose (12). Heller ikke immunkomplekserologiske metoder kan skille aktiv infeksjon fra tidligere gjen- nomgått infeksjon eller vaksinasjon.

Det finnes således ingen laboratorietest som kan benyttes i diagnostikken av post- borreliose. Borreliainfeksjon sam- menliknes ofte med infeksjon med *Treponema pallidum*. I siste tilfelle vil man ved terapivikt kunne påvise persisterende høye eller stigende antistoffnivåer (10). Det synes påfallende at en sykdom som av noen oppfattes som en kronisk infeksjon ikke fører til antistoffdannelse eller inflammas- jonstegn i sentralnervesystemet. Selv om B. burgdorferi kan innta cysteformer under spesielle laboratorieforhold, er det ikke bevist at dette har klinisk relevans.

Hvordan diagnostiserer man Lyme-borreliose i andre land?

I flere medieoppslag i vår ble det hevdet at testene som brukes for å diagnostisere bor- reliose i Norge er for dårlige. Det ble refe- rert til pasienter med negativ borreliaest her som hadde fått positivt svar på prøver testet ved tyske laboratorier. Testmetodene som brukes ved enkelte ikke-akkrediterte laboratorier i Tyskland er bestemmelse av CD3 og CD57 og lymfocyttransformasjons- tester. Disse testene skal måle det cellulære immunsystemets respons på borreliainfek- sjon. Førstnevnte test er basert på at kro- niske borreliainfeksjoner er ledsaget av en reduksjon i nivået av CD3- og CD57-NK- celler (naturlige drepeceller). Lymfocyttrans- formasjonstestenes prinsipp er at man måler T-celleresponsen etter at T-celler er ekspo- nert for borreliaantigener og registrerer en såkalt stimulasjonsindeks. Har pasienten tidligere vært eksponert for Borrelia, vil man forvente sterkere respons fra det cellu- lære immunapparatet – med tilsvarende høyere stimulasjonsindeks – enn responsen hos pasienter som aldri før er blitt eksponert for bakterien.

Centers for Disease Control (13) anbefaler et såkalt tottrinnsprinsipp ved diagnos- tikk av borreliose – først bruker man en ELISA-test, som ved inkonklusivt eller positivt resultat bekreftes med en Western blot-analyse. Centers for Disease Control anbefaler ikke bruk av CD3-/CD57-testing eller lymfocyttransformasjonstest. De europeiske retningslinjene er også basert på serologiske tester (14). Ved henvendelse til både den tyske mikrobiologiske foreningen

samt det tyske referansesenteret for borre- liose har vi fått tilbakemelding om at disse fraråder bruk av andre testprinsipper enn den fra Centers for Disease Control. Det tyske miljøet fraråder også eksplisitt bruk av CD3-/CD57-tester og lymfocyttransfor- masjonstester (4). Årsaken er at man mener at disse testene ikke er godt nok dokumen- tert. I Tyskland er akkrediterte laboratorier nødt til å forholde seg til denne kvalitets- standarden.

Laboratediagnostikken av Lyme-bor- reliose i Norge følger internasjonale ret- ningslinjer. Testegenskapene er forbedret i de nyeste produktene, som i stor grad er tatt i bruk ved norske laboratorier. Det er imidlertid muligheter for ytterligere for- bedringer og standardisering av tester for påvisning av borreliose. En forbedret indi- kasjonsstilling for prøvetaking vil bedre testkvaliteten.

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Litteratur

- Hafstad A. Flåttsommeren er her. Aftenposten 29.6.2009.
- Dessau RB, Bangsborg JM, Ejlertsen T et al. Lyme borreliosis. Klinikk, diagnostikk og behandling. April 2006. www.ugeskriftet.dk/portal/page/portal/LAEGERDK/UGESKRIFT_FOR_LAEGER/KLINISKE_VAERKTOEJER/KLARINGSRAPPORT/Lyme%20Borreliose_0.pdf [29.6.2009].
- Ljøstad U, Mygland Å. Lyme-borreliose hos voksne. Tidsskr Nor Legeforen 2008; 128: 1175–8.
- Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme disease. FEMS Immunol Med Microbiol 2007; 49: 13–21.
- Goettner G, Schulte-Spechtel U, Hillermann R et al. Improvement of Lyme borreliosis serodiagnosis by a newly developed recombinant immunoglobulin G (IgG) and IgM line immunoblot assay and addition of VlsE and DbpA homologues. J Clin Microbiol 2005; 43: 3602–9.
- Wilske B. Epidemiology and diagnosis of Lyme borreliosis. Ann Med 2005; 37: 568–79.
- Steere AC, McHugh G, Damle N et al. Prospective study of serologic tests for Lyme disease. Clin Infect Dis 2008; 47: 188–95.
- Mygland A, Skarpaas T, Ljøstad U. Chronic poly- neuropathy and Lyme disease. Eur J Neurol 2006; 13: 1213–5.
- Jenkins A, Kristiansen BE, Allum AG et al. Borrelia burgdorferi sensu lato and Ehrlichia spp. in Ixodes ticks from Southern-Norway. J Clin Microbiol 2001; 39: 3666–71.
- Feder HM, Johnson BJ, O'Connell S et al; the ad Hoc International Lyme Disease Group. A critical appraisal of «chronic Lyme disease». N Engl J Med 2007; 357: 1422–30.
- Hammers-Berggren S, Lebech AM, Karlsson M et al. Serological follow-up after treatment of patients with erythema migrans and neuroborre- liosis. J Clin Microbiol 1994; 32: 1519–25.
- Flemming RV, Marques AR, Klempner MS et al. Pre-treatment and post-treatment assessment of the C(6) test in patients with persistent symptoms and a history of Lyme borreliosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23: 615–8.
- Lyme disease diagnosis. Centers for Disease Control, CDC. www.cdc.gov/ncidod/dvbid/lyme/ld_humanidisease_diagnosis.htm [1.7.2009].
- Brouqui P, Bacellar F, Baranton G et al. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. ESCMID study group report. www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/118802453/HTMLSTART?CRETRY=1&SRETRY=0 [1.7.2009].

Manuskriptet ble mottatt 2.7. 2009 og godkjent 27.8 2009. Medisinsk redaktør Anne Kveim Lie.