

Cellulære borreliatester

Cellulære tester for påvisning av borreliasykdom benyttes av noen utenlandske laboratorier. Disse tillegges av enkelte leger i Norge betydelig vekt i diagnostikken av såkalt kronisk borreliose. Det vitenskapelige grunnlaget for slik bruk er imidlertid svakt.

Diagnosen borreliose stilles vanligvis ved hjelp av anamnese (inkludert opplysninger om flåttbitt eller opphold i flåttbefengt område), klinisk undersøkelse og biokjemiske og serologiske undersøkelser i serum og spinalvæske. Et unntak er ved erythema migrans, der kan diagnosen stilles rent klinisk uten bruk av serologiske undersøkelser.

Hovedproblemene er at vi mangler tester som påviser agens direkte (unntatt i hudbiopsi og leddvæske) samt at en positiv antistofftest ikke nødvendigvis innebærer sykdomsaktivitet. Noen mennesker mener likevel at de har borreliose til tross for gjentatte negative serologiske undersøkelser utført med tradisjonell ELISA-metodikk. Det er først og fremst hos disse at alternative cellulære tester er aktuelle. Av disse er det prinsipielt to typer som benyttes: telling av CD3-negative/CD57-positive naturlige drepeceller (NK-celler, natural killer cells) og ulike lymfocyttransformasjonstester (LTT-MELISA og ELISPOT).

Telling av CD57-positive celler

CD57 er en markør på en undergruppe av modne NK-celler. Markøren uttrykkes på disse cellene hos personer med kronisk immunaktivering (1, 2). Antallet øker normalt med alderen, og det er store individuelle variasjoner (3). Markøren er ikke spesifikk for borreliose eller andre infeksjoner. Det er publisert to artikler (4, 5) og to kasuistiske meddelelser (6, 7) om sammenhengen mellom antall CD57-positive celler og borreliose.

Stricker & Winger inkluderte 73 pasienter hvor det er angitt at diagnosen var stilt etter Centers for Disease Control and Prevention kriterier (4). Av de 73 undersøkte var bare 29 % positive i ELISA-testen, mens 81 % var positive i Western blot. Den anbefalte totrinns testalgoritmen til Centers for Disease Control and Prevention har således ikke vært fulgt, siden Western blot kun skal utføres på ELISA-positive prøver (primærtest med høy sensitivitet og sekundærtest med høy spesifisitet).

42 % av de inkluderte ble testet før oppstart av antibiotikabehandling, 51 % ble testet under behandling og 7 % ble testet etter fullført behandling. 21 pasienter ble testet flere ganger. Forfatterne fant lavere antall CD57-positive celler hos pasientene med nevrologiske symptomer enn hos dem med symptomer fra muskel- og skjelettsystemet, dessuten at antallet CD57-positive celler steg etter vellykket behandling. De

trekker dermed den konklusjon at lavt antall CD57-positive celler kan være en markør for kronisk borreliose og at dette dermed er en nyttig variabel for å følge respons på behandling.

Da man ikke har verdier fra før behandlingsstart, er det vanskelig å trekke sikre konklusjoner. Det er heller ikke angitt resultater fra mer enn fem av de 21 pasientene hvor det er gjort gjentatte analyser. Siden de anbefalte diagnostiske kriteriene ikke er fulgt, er det stor usikkerhet om symptomene til alle de inkluderte virkelig skyldtes borreliainfeksjon.

Marques og medarbeidere undersøkte antall CD57-positive celler hos ni pasienter med vedvarende symptomer etter behandling av borreliose, hos 12 med gjennomgått

«Foreløpig finnes det ikke dokumentasjon på at antall CD57-positive celler eller ulike lymfocyttransformasjonstester kan benyttes i rutinediagnostikken av borreliainfeksjon i noe stadium»

infeksjon uten persisterende symptomer og hos ni friske (5). Alle de inkluderte med borreliainfeksjon hadde både positiv ELISA- og Western blot-test, som er sikre tegn på gjennomgått infeksjon. Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i antall CD57-positive celler mellom gruppene. Studien er imidlertid liten og inkluderer ikke ubehandlede pasienter med sannsynlig smittetidspunkt tilbake i tid. Det er nettopp i denne gruppen man ville forvente å finne lavt antall CD57-positive celler hvis Stricker & Wingers funn (4) var bevis på aktiv sykdom.

Lymfocyttransformasjonstester

Lymfocyttransformasjonstester måler spesifikk aktivering (prolifisering eller gammainterferonproduksjon) av T-celler

etter stimulering med ulike borreliaantigener. Testene er kompliserte å utføre, og valget av antigener er avgjørende for å oppnå tilfredsstillende sensitivitet og spesifisitet.

Det finnes mange studier der man har sett på sammenhengen mellom borreliaspesifikk T-cellereaktivitet hos friske personer og hos personer med positiv serologisk prøve som tegn på aktuell eller gjennomgått borreliainfeksjon. Felles for disse er at man ikke kan påvise forskjell i T-cellereaktivitet mellom friske personer og personer med serologiske tegn på aktuell eller gjennomgått borreliainfeksjon (8, 9).

I fire nyere artikler beskrives bruk av ulike lymfocyttransformasjonstester med diagnostisk formål. Valentine-Thorn og medarbeidere benyttet LTT-MELISA og inkluderte 244 pasienter med mistenkt borreliose samt 30 friske kontrollpersoner (10). Den benyttede testen manglet antigen fra *B. burgdorferi sensu stricto*. I tillegg ble 32 LTT-MELISA-positive fulgt over tid. Serologiske data var tilgjengelig fra 157 (64 %) og kliniske data fra 122 (50 %) av de 244 inkluderte. På grunn av manglende serologiske og kliniske data kunne man ikke konkludere angående testens sensitivitet. Siden bare én av 30 av de friske kontrollpersonene testet positivt, var spesifisiteten god (96,7 %). Hos alle de 32 pasientene som ble fulgt over tid, var det reduksjon i lymfocytreaktivitet, men ingen kontrollgruppe var inkludert.

von Baehr og medarbeidere beskriver bruk av en egenutviklet lymfocyttransformasjonstest med antigener fra alle tre borreliaarter (11). Studien inkluderte 94 pasienter med borreliose og 160 kontrollpersoner. Testen hadde lavere sensitivitet enn ELISA, slik at den hadde lite å tilføre til dagens ELISA-tester ved tidlig borreliose. Spesifisiteten i kontrollgruppen (98,7 %) var tilfredsstillende. Siden prøvene var preselektert som seronegative og ELISA- og lymfocyttransformasjonstester normalt samvarierer, er det ikke usannsynlig at spesifisiteten er overestimert.

I samme studie ble det utført serologisk undersøkelse og lymfocyttransformasjonstest parallelt hos 1 480 personer med ukjent serologisk mønster, men med klinisk mistenkt borreliose. Grenseverdien for positiv prøve varierer, og ikke alle resultatene fra de 1 480 inkluderte er angitt i resultattabellene. Dette gjør resultatene vanskelig tilgjengelige for leseren.

I studien er det ingen korrelater til aktiv infeksjon (PCR eller dyrking). Forfatterens konklusjon om at man ved hjelp av testen kan plukke ut pasienter med aktiv infeksjon og pasienter som trenger antibiotikabehandling, har de således ikke belegg for.

Det er også verdt å merke seg at artikkelens hovedforfatter ikke oppgir noen interessekonflikter – selv om han har forbindelser til et kommersielt laboratorium som tilbyr testen på sin hjemmeside (12).

I en svensk studie benyttet man lymfocyttransformasjonstesten ELISPOT hos 14 pasienter med verifisert nevroborreliose og hos 103 kontrollpasienter (13). Testen hadde en sensitivitet på 36 % og en spesifisitet på 82 % utført i spinalvæske. Forfatterne konkluderte med at testen ikke kan anbefales som et supplement i diagnostikken av klinisk mistenkt nevroborreliose. Innvendingene mot studien kan være at kun ett antigen (Ip90) var inkludert samt at det er vanskelig å sammenlikne prestasjonen av denne testen med de to andre, siden prøvematerialet er helt forskjellig.

Den fjerde artikkelen finnes som et samendrag fra European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2012 (14). Her ble en lymfocyttransformasjonstest benyttet på materiale fra 98 pasienter med mistenkt eller påvist nevroborreliose, i tillegg til materiale fra friske kontrollpersoner. Forfatterne konkluderte med at testen ikke var til hjelp i diagnostikken, da det ikke ble påvist forskjell mellom gruppene.

For lymfocyttransformasjonstesten som benyttes ved InfectoLab i Tyskland, der prøvene fra mange norske pasienter blir undersøkt, finnes det etter vår kjennskap ingen tilgjengelige publikasjoner.

Konklusjon

Det er gjennomført få studier på bruk av tester for CD57-positive celler og lymfocyttransformasjonstester ved borreliainfeksjon. Foreløpig finnes det ikke dokumentasjon på at antall CD57-positiver celler eller ulike lymfocyttransformasjonstester kan benyttes i rutinediagnostikken av borreliainfeksjon i noe stadium. Dette er også konklusjonen i en nyere gjennomgang av laboratoriediagnostikk av borreliainfeksjon utført av det svenske Smittskyddsinstitutet (15).

Testene er, så langt vi kjenner til, heller ikke anbefalt benyttet i noe annet land i Europa eller USA. Fortsatt bruk av testene bør etter vår mening kun foregå i kontrollerte kliniske studier slik at en endelig avklaring av deres eventuelle nytte kan avgjøres.

Yngvar Tveten
yngvar.tveten@sthf.no
Sølvi Noraas
Audun Aase

Yngvar Tveten (f. 1952) er seksjonsoverlege ved Seksjon for laboratoriemedisin og smittevernoverlege ved Sykehuset Telemark. Han er spesialist i indremedisin og i medisinsk mikrobiologi og har mer enn 20 års erfaring med laboratoriediagnostikk av borreliainfeksjon. Forfatter har fylt ut ICMJE-skjemaet og oppgir ingen interessekonflikter.

Sølvi Noraas (f. 1954) er spesialist i medisinsk mikrobiologi og avdelingsleder ved Avdeling for medisinsk mikrobiologi i Sørlandet sykehus. Laboratoriet har nasjonal referansefunksjon for mikrobiologisk diagnostikk av borrelia. Forfatter har fylt ut ICMJE-skjemaet og oppgir ingen interessekonflikter.

Audun Aase (f. 1957) er ingeniør og ph.d. i immunologi. Han er seniorforsker ved Avdeling for bakteriologi og infeksjonsimmunologi, Nasjonalt folkehelseinstitutt. Forfatter har fylt ut ICMJE-skjemaet og oppgir ingen interessekonflikter.

Litteratur

1. Lopez-Vergès S, Milush JM, Pandey S et al. CD57 defines a functionally distinct population of mature NK cells in the human CD56^{dim}CD16⁺ NK-cell subset. *Blood* 2010; 116: 3865–74.
2. Tarazona R, DelaRosa O, Alonso C et al. Increased expression of NK cell markers on T lymphocytes in aging and chronic activation of the immune system reflects the accumulation of effector/senescent T cells. *Mech Ageing Dev* 2000; 121: 77–88.

3. Sun JC, Lopez-Verges S, Kim CC et al. NK cells and immune «memory». *J Immunol* 2011; 186: 1891–7.
4. Stricker RB, Winger EE. Decreased CD57 lymphocyte subset in patients with chronic Lyme disease. *Immunol Lett* 2001; 76: 43–8.
5. Marques A, Brown MR, Fleisher TA. Natural killer cell counts are not different between patients with post-Lyme disease syndrome and controls. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16: 1249–50.
6. Stricker RB, Burrascano J, Winger E. Longterm decrease in the CD57 lymphocyte subset in a patient with chronic Lyme disease. *Ann Agric Environ Med* 2002; 9: 111–3.
7. Stricker RB, Winger EE. Musical hallucinations in patients with Lyme disease. *South Med J* 2003; 96: 711–5.
8. Ekerfelt C, Forsberg P, Svenvik M et al. Asymptomatic Borrelia-seropositive individuals display the same incidence of Borrelia-specific interferon-gamma (IFN-gamma)-secreting cells in blood as patients with clinical Borrelia infection. *Clin Exp Immunol* 1999; 115: 498–502.
9. Horowitz HW, Pavia SC, Bittket S et al. Sustained cellular immune response to Borrelia burgdorferi: lack of correlation with clinical presentation and serology. *Clin Diagn Lab Immunol* 1994; 1: 373–8.
10. Valentine-Thon E, Ilsemann K, Sandkamp M. A novel lymphocyte transformation test (LTT-MELISA) for Lyme borreliosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 57: 27–34.
11. von Baehr V, Doebis C, Volk HD et al. The lymphocyte transformation test for Borrelia detects active Lyme borreliosis and verifies effective antibiotic treatment. *Open Neurol J* 2012; 6: 104–12.
12. Institut für Medizinische Diagnostik Berlin. www.imd-berlin.de/leistungsschwerpunkte/borreliose/klinik-diagnostik-therapie.html (10.12.2013).
13. Nordberg M, Forsberg P, Nyman D et al. Can ELISPOT be applied to a clinical setting as a diagnostic utility for neuroborreliosis? *Cells* 2012; 1: 153–67.
14. Blocher J, Wiefek J, Lange P et al. Experimental and diagnostic aspects of Lyme borreliosis: value of the lymphocyte transformation test to determine the acuity of neuroborreliosis. *ECCMID 2012*. http://registration.akm.ch/einsicht.php?XNABSTRACT_ID=143581&XNSPRACHE_ID=2&XNKONGRESS_ID=161&XNMASKEN_ID=900 (10.12.2013).
15. Smittskyddsinstitutet. Laboratoriediagnostik av borreliainfektion. En översyn av europeiska rekommendationer och aktuell metodikk. SMI 2013. www.smi.se/publikationer/ovriga-publikationer/publikationer-2013/laboratoriediagnostik-av-borreliainfektion/ (10.12.2013).

Mottatt 21.8. 2013, første revisjon innsendt 25.10. 2013, godkjent 12.12. 2013. Redaktør: Are Breaun.

Publisert først på nett.