

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

behandling af kighoste, men clarithromycin og azithromycin har vist samme effektivitet og færre bivirkninger og er derfor at foretrække, men de er kun afprøvet i behandling af kighoste for aldersgruppen over seks måneder. Azithromycin er dog ikke indregistreret til børn under to år i Danmark, hvorfor clarithromycin bør foretrækkes til denne aldersgruppe.

Korrespondance: Birthe Høgh, Børneafdelingen 531, H:S Hvidovre Hospital, DK-2650 Hvidovre. E-mail: Birthe.Hoegh@hh.hosp.dk

Antaget: 29. november 2005
Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

1. Pedersen T, Fisker N, Andersen PH. Spædbarn død af kighoste. EPI-NYT 2005, uge 33.
2. Christiansen AH, Andersen PH. Kighoste 2004. EPI-NYT 2005, uge 22.
3. Christiansen AH, Andersen P, Dragsted D. Kighoste 2001 og kighosteprofylakse. EPI-NYT 2002, uge 45.
4. Lebel MH, Mehra S. Efficacy and safety of clarithromycin versus erythromycin for the treatment of pertussis. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:1149-54.
5. Aoyama T, Sunakawa K, Iwata S et al. Efficacy of short-term treatment of pertussis with clarithromycin and azithromycin. *J Pediatr* 1996;129:761-4.
6. Pillay V, Swingle G. Symptomatic treatment of the cough in whooping cough. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2003, Issue 4. Art. No. CD003257. DOI: 10.1002/14651858.CD003257.
7. Altunajji S, Kukuruzovic R, Curtis N et al. Antibiotics for whooping cough (pertussis). *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005, Issue 1. Art. No. CD004404.pub2. DOI: 10.1002/14651858.CD004404.pub2.
8. www.aapredbook.aappublications.org. Section 3. Pertussis. okt. 2005.
9. www.lmk.dk. Makrolider. okt. 2005.
10. Langley JM, Halperin SA, Boucher FD et al. Azithromycin is as effective as and better tolerated than erythromycin estolate for the treatment of pertussis. *Pediatrics* 2004;114:96-101.

Laboratediagnostik af infektion forårsaget af *Borrelia burgdorferi*

Overlæge Ram B. Dessau, overlæge Jette M. Bangsborg, overlæge Tove P. Ejlersen Jensen, overlæge Klaus Hansen, afdelingslæge Anne-Mette K. Lebech & afdelingslæge Christian Østergaard Andersen

Dansk Selskab for Klinisk Mikrobiologi,
Dansk Selskab for Infektionsmedicin og
Dansk Selskab for Neurologi

Specifik paraklinisk diagnostik for infektioner med *Borrelia burgdorferi* (Lyme-borreliose) blev mulig ved opdagelsen af bakterien i 1982. Siden er diagnostikken blevet forbedret, men den har stadig begrænsninger, og det er vigtigt at tolke et laboratorieresultat i den kliniske sammenhæng (Tabel 1).

Direkte metoder

B. burgdorferi (Bb) kan dyrkes fra klinisk prøvemateriale i specialmedium (Barbour-Stoenner-Kelly), hvilket giver mulighed for en definitiv diagnose. På grund af spirokættens lange generationstid tager det imidlertid 2-6 uger, før en kultur er positiv. Metoden er vanskelig og arbejdskrævende, idet påvisning af spirokæter foretages ved mørkefeltmikroskopi. Polymerasekæde (PCR)-*assays* til påvisning af Bb-DNA er blevet udviklet baseret på såvel kromosomale (f.eks. *flagellin*, *16S rRNA*) som plasmidbårne gener (f.eks. *OspA*). Generelt har sensitiviteten været varierende og et negativt PCR-resultat udelukker ikke Lyme-borreliose. Ingen af de direkte metoder kan bruges i rutinediagnostikken.

Indirekte metoder

Bb har talrige immunologisk relevante antigener. Generelt erkender immunsystemet et stigende antal Bb-antigener i løbet af infektionen. Det tidlige immunrespons (fra tredje uge), der primært er af immunoglobulin (Ig)M-subklassen, er typisk rettet mod flagelproteinet og det ydre membranassocierede *OspC* eller mod *VlsE*. Fra seks uger efter infektionen ses antistofdannelse (IgG) mod en række andre overfladeantigener.

Anvendelse af forskellige *Borrelia*-genospecies i serodiagnostik

Der er konstateret geografisk variation i forekomsten af de tre humanpatogene genospecies af Bb (*B. garinii*, *B. burgdorferi sensu stricto* og *B. afzelii*). Mange af de forskellige diagnostisk interessante Bb-proteiner har interspeciesvariabilitet, men der er ikke fundet klinisk relevante forskelle. For øjeblikket anses det således for at være tilstrækkeligt at anvende antigen fra en enkelt genospecies i ELISA-rutinediagnostik til antistofbestemmelse.

ELISA

Den hidtidig største forbedring i de serologiske test er opnået med udviklingen af andengenerations-*assays* baseret på oprensning af enkelte særligt immunodominante og mere specifikke testantigener. Specielt *assays* baseret på oprenset *flagel* og til dels *OspC* har vist en signifikant øget specificitet sammenlignet med *assays* baseret på sonikeret Bb. Den diagnostiske sensitivitet af specifik Bb-immunoglobulin (Ig)M-detektion kan forbedres ved anvendelse af capture-ELISA-princippet.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Tabel 1. Hvornår er det relevant at ordinere borreliaserologi?

Flåtbid	Nej	Ved et nyligt eller tidligere flåtbid uden symptomer er der ikke indikation for serologisk testning
Erythema migrans	Nej	Diagnosen stilles klinisk. Under 60% af patienter med dyrkningsverificeret erythema migrans er antistofpositive. Den kliniske diagnose anses for at være 80% sikker, og serologi anbefales ikke
Neuroborreliose	Ja	Ved klinisk mistanke skal der foretages lumbalpunktur. Karakteristisk ses lymfocytær pleocytose og let forhøjet sp-protein. Intratekal syntese af specifikke borreliaantistoffer kan ofte først påvises i anden uge efter debut af neurologiske symptomer. Efter tre uger er 80% af neuroborreliosepatienterne positive i intratekal test, og efter otte ugers neurologiske symptomer har 100% intratekal antistofproduktion. En patient, der har neurologiske symptomer i mere end tre måneder og negativ IgG eller IgM, har ikke neuroborreliose
Borreliarthritis	Ja	Patienterne har specifikke Bb-IgG-antistoffer. En patient med positiv IgM og negativ IgG har næppe borrelia arthritis. Borrelia arthritis er formentlig en forholdsvis sjælden sygdom, og den prædiktive værdi af et positivt IgG-svar er derfor lav. En definitiv diagnose kan sjældent stilles, og ofte må terapi gives på mistanken. Patienter med diffuse klager fra bevægeapparatet har ikke borreliarthritis og bør ikke testes. En patient med klinisk arthritis i længere end tre måneder og negativ IgG har ikke borreliarthritis
Borrelialymfocytom	Ja	Der skal tages biopsi, da lymfom er en mulig differentialdiagnose
Karditis	Ja	Diagnosen må mistænkes ved atrioventrikulært blok. Specielt hos yngre patienter og i øvrigt ved forudgående erythema migrans
Acrodermatitis chronica atrophicans	Ja	Alle patienter har specifikke borrelia-IgG-antistoffer i serum, ofte med særdeles højt niveau
Diffuse sygdomsbilleder	Nej	Der er ingen indikation for serologisk testning, hvis der ikke er kliniske manifestationer, der er forenelige med borreliainfektion
Behandlingskontrol	Nej	Mange patienter er seropositive (IgM eller IgG) i lang tid efter overstået infektion

På det seneste er der markedsført diagnostiske test baseret på detektion af antistoffer mod et protein (VlsE) eller en immundominant og konserveret del af dette protein kaldet C6. VlsE udtrykkes in vivo og ikke på dyrkede bakterier, og kan derfor kun fremstilles med rekombinant teknik.

Valg af kommercielt kit til ELISA

ELISA-kit, som indeholder *flagel*- og/eller *OspC*-antigener synes at give høj sensitivitet tidligt i sygdomsforløbet. Den bedst beskrevne og mest anvendte metode i Danmark er baseret på oprenset *flagel*-antigen fra *B. afzelii*. Et evidensbaseret valg mellem de forskellige kits er ikke muligt at foretage ud fra litteraturen, da undersøgelserne er baseret på få patientprøver og kontrolpersoner. Til diagnostik af intratekale antistoffer bruges for tiden i Danmark udelukkende det flagelbaserede assay.

Western blot

Det er anbefalet fra Centers for Disease Control (CDC) i 1995 at benytte en totrinsalgoritme, hvor Western blot (WB) bruges til at konfirmere et positivt/gråzone ELISA-resultat. Denne anbefaling er besluttet på en konsensuskonference og er baseret på to arbejder med tilsammen kun 55 erythema migrans (EM)-patienter og 54 andre klinisk definerede patienter fra USA, hvor WB blev sammenlignet med førstegenerations-helcellesonikat-ELISA. Denne anbefaling er dog ved at blive reevalueret over for de rekombinante tredjegenerations ELISA-metoder. Totrinsstrategien anvendes nogle steder i Europa, og der er forsøgt foreslået europæiske tolkningskriterier af WB.

Især i Europa, hvor der findes flere Bb-genospecies end i USA, har det været svært at fastlægge mere standardiserede kriterier for aflæsning. Derfor anvendes WB ikke i rutinediagnostikken.

Tolkning af serologisk diagnostik

Det humorale immunrespons ved Lyme-borreliose er ligesom ved andre infektionssygdomme en initial IgM-titerstigning, som kan holde sig i op til 18 måneder, efterfulgt af en IgG-stigning, som kan måles i mange år efter veloverstået infektion. Det er dog ikke altid, at borreliaserologien følger denne klassiske model. Borreliaserologien har til trods for løbende forbedringer begrænsninger af følgende årsager:

1. Hos mindre end 60% af patienter med EM udvikles der specifikke antistoffer. En del patienter forbliver således seronegative, især ved kortere sygdomsvarighed og når de ikke har ledsagende almensymptomer. Dette skyldes primært, at infektionen er lokaliseret til huden, og at den systemiske antigenpåvirkning er ringe.
2. Hos patienter med EM ses ikke obligat IgG-respons efter IgM.
3. Patienter med neuroborreliose kan være seronegative op til 6-8 uger efter debut af neurologiske symptomer.

Tabel 2. Diagnostisk sensitivitet (%) af *B. burgdorferi*-specifik antistofmåling i serum ved anvendelse af flagel som testantigen. Afskæringsværdier justeret til 98% specificitet baseret på testning af 200 bloddonorer.

Klinik	Immunglobulin		IgG ± IgM
	IgG	IgM	
Erythema migrans	20-30	50-60	60
Neuroborreliose			
< 2 uger	58	65	80
2-5 uger	81	60	95
≥ 6 uger	100	47	100
Acrodermatitis chronica atrophicans	100	12	100

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Tabel 3. Simulering af den prædiktive værdi af IgM- og IgG-analysen i et bayesiansk netværk. De til grundliggende data for denne model baserer sig på de serologiske gennemsnitsdata fra Københavns Amt fra 2000, data fra faglitteraturen og data fra producenten af testkit (DAKO). Antallet af falsk positive IgM og IgG er sat til hhv. 4% og 2%. Alle værdier er i %. Falsk positiv-raten for IgG er måske højere (3%) hos ældre patienter, typisk for den patientgruppe, der undersøges på grund af ledgener, og dermed er den viste prædiktive værdi af IgG ved langvarig (stadie 3) arthritis måske endnu ringere.

Klinisk stadie	Kombineret sensitivitet af IgM og IgG i serum	Skønnet prævalens i danske rutineprøver	Prædiktive værdier (sandsynlighed for borreliainfektion)			
			IgM - IgG -	IgM + IgG -	IgM - IgG +	IgM + IgG +
Stadie 1	48	20	12	69	33	86
Stadie 2	86	2	0,3	4	38	91
Stadie 3	99,5	0,2	0,0	0,1	11	19

- Hos personer med symptomer i mere end 2-3 måneder er det mest sandsynligt, at positiv IgM uden ledsagende IgG er et falsk positivt fund.
- IgM kan være falsk positiv som led i en polyklonal B-celleaktivering ved forskellige virale infektioner (især Epstein-Barr-virus og cytomegalovirus).
- Tilstedeværelsen af Bb-IgG-antistoffer kan blot være udtryk for tidligere eksposition, og det er vigtigt at være bevidst om, at Bb-IgG-antistoffer kan være til stede hos raske personer.
- IgG-krydsreaktion kan forekomme ved syfilis, da der er slægtskab mellem *Treponema pallidum* og Bb. Er der klinisk begrundet mistanke om den omtalte krydsreaktivitet, bør serologisk differentiering mellem Lyme-borreliose og syfilis ske ved standardtest for syfilis, som er negativ ved Lyme-borreliose.

Tabel 2 viser den diagnostiske følsomhed af ELISA-test baseret på *flagel*-antigen. Dette *assay* er valgt, da det er valideret med danske data og anvendes på hovedparten af de klinisk mikrobiologiske afdelinger i Danmark.

Intratekal antistofproduktion

Patienter med neuroborreliose får et specifikt intratekalt immunrespons med en præferentiel akkumulation af Bb-specifikke B- og T-celler samt specifikt oligoklonalt Bb-immunglobulin i cerebrospinalvæsken. Ved neuroborreliose er måling af specifik antistofproduktion i cerebrospinalvæsken af større diagnostisk værdi end påvisning af specifikke serumantistoffer fordi: 1) den intratekale antistofproduktion ofte kan påvises tidligere, og 2) den diagnostiske prædiktive værdi af et positivt fund i cerebrospinalvæske er meget højere end i serum på grund af den i et endemisk område ikke negligable seroprævalens.

Specifik intratekal antistofsyntese (IgM og/eller IgG) vil være påviselig hos 85% af patienterne i slutningen af anden uge efter debut af neurologiske symptomer og hos alle med ubehandlet neuroborreliose efter senest 8-10 uger. Ligesom i serum ses efter overstået NB ofte årelang persisterende IgG-syntese intratekalt, dog uden tegn på cerebrospinalvæskeinflammation. Påvisning af Bb-specifikke antistoffer i cerebro-

spinalvæske har således diagnostisk interesse og er ikke egnet til terapikontrol.

Prædiktiv værdi

Den prædiktive værdi af borreliaserologi er stærkt afhængig af den sande prævalens af LB i den undersøgte patientgruppe (**Tabel 3**). Antallet af rekvirerede borrelia-antistofanalyser er højt i Danmark, formentlig ca. 50.000 test årligt. Den variende prædiktive værdi af et positivt svar skal have i tankerne ved tolkning af borreliaserologi, især når den kliniske diagnose ikke er oplagt. Hovedbudskabet i Tabel 3 er, at diagnostisk usikkerhed ses både ved negativ og positiv serologi og er afhængig af det kliniske stadie.

Korrespondance: Ram B. Dessau, Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Storstrømmens Sygehus Næstved, DK-4700 Næstved. E-mail: ram.dessau@dadlnet.dk

Antaget: 20. juni 2006

Interessekonflikter: Ingen angivet

Denne statusartikel er et forkortet afsnit fra: Dessau RB, Bangsbo JM, Ejlertsen T *et al.* Lyme-borreliose. Klinik, diagnostik og behandling. En klaringsrapport (www.ugeskriftet.dk/klaringsrapporter). Der henvises hertil for yderligere læsning om klinik, diagnostik, behandling og diagnosekodning af Lyme-borreliose samt detaljeret litteraturliste.

Litteratur

- Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I *et al.* Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:484-509.
- American College of Physicians. Guidelines for laboratory evaluation in the diagnosis of Lyme disease. *Ann Intern Med* 1997;127:1106-8.
- Hansen K. Lyme neuroborreliosis: improvements of the laboratory diagnosis and a survey of epidemiological and clinical features in Denmark 1985-1990. *Acta Neurol Scand Suppl* 1994;151:1-44.
- Hansen K, Asbrink E. Serodiagnosis of erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans by the *Borrelia burgdorferi* flagellum enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1989;27:545-51.
- Hansen K, Hindersson P, Pedersen NS. Measurement of antibodies to the *Borrelia burgdorferi* flagellum improves serodiagnosis in Lyme disease. *J Clin Microbiol* 1988;26:338-46.
- Hansen K, Lebech AM. Lyme neuroborreliosis: a new sensitive diagnostic assay for intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific immunoglobulin G, A, and M. *Ann Neurol* 1991;30:197-205.
- Hansen K, Pii K, Lebech AM. Improved immunoglobulin M serodiagnosis in Lyme borreliosis by using a mu-capture enzyme-linked immunosorbent assay with biotinylated *Borrelia burgdorferi* flagella. *J Clin Microbiol* 1991;29:166-73.
- Lebech AM. Polymerase chain reaction in diagnosis of *Borrelia burgdorferi* infections and studies on taxonomic classification. *APMIS Suppl* 2002:1-40.
- Stane G, O'Connell S, Cimmino M *et al.* European Union Concerted Action on Risk Assessment in Lyme Borreliosis: clinical case definitions for Lyme borreliosis. *Wien Klin Wochenschr* 1996;108:741-7.
(Se også www.oeghmp.at/eucalb/index.htm)