

Laboratoriediagnostik av Lyme neuroborrelios

En jämförelse mellan tre CSV anti-*Borrelia*
antikroppstester



Malin Lager

Biomedicinsk analytiker / Doktorand

Forskning och utvecklingsenheten, Laboratoriemedicin, Jönköping

Bakgrund



- Hud → blodbana → CNS (2-8 veckor)
- Hjärnhinneinflammation, nervrotsinflammation och halvsidig ansiktsförlamning
- Doxycyklin 10-14 dagar (vuxna och barn >8 år)

Diagnostik

- EFNS riktlinjer 2010:
 - neurologiska symptom
 - pleocytos i likvor (mononukleär cellstegring $>5/\mu\text{L}$)
 - positivt intratekalt *Borrelia*-antikroppsindex
- Antikroppsdetektion – huvudsakligt diagnostiskt verktyg
- Sensitivitet – specificitet.
- Renade antigen → syntetiska/rekombinanta antigen.

Syfte

- Att jämföra IDEIA Lyme Neuroborreliosis testet mot två på marknaden nya tester som inkluderar flera rekombinanta antigen för laboriediagnostik av Lyme Neuroborreliosis (LNB)
- Att använda välkaraktäriserade prov (både kliniska och laborieverifierade) för detta ändamål

Material (Serum + CSV, N=175, 2003-2007)

		Pleocyto <i>s</i> i CSV	CSV anti- <i>Borrelia</i> antikroppsindex*	Serum anti- <i>Borrelia</i> antikroppar*	Symptom-duration (veckor) median
LNB patienter n=56	LNB n=52	+	+	+/-	3.0
	Möjlig LNB n=4	+	-	+/-	1.3
icke-LNB patienter n=119	Pleocyto <i>s</i> av andra orsaker n=29	+	-	+/-	1.0
	Ingen pleocyto <i>s</i> n=90	-	-	-	N.d.

* Lyme borreliosis ELISA kit 2nd Generation, Dako Cytomation

Material (Serum + CSV, N=175, 2003-2007)

		Pleocyto <i>s</i> i CSV	CSV anti- <i>Borrelia</i> antikroppsindex*	Serum anti- <i>Borrelia</i> antikroppar*	Symptom-duration (veckor) median
LNB patienter n=56	LNB n=52	+	+	+/-	3.0
	Möjlig LNB n=4	+	-	+/-	1.3
Icke-LNB patienter n=119	Pleocyto <i>s</i> av andra orsaker n=29	+	-	+/-	1.0
	Ingen pleocyto <i>s</i> n=90	-	-	-	N.d.

* Lyme borreliosis ELISA kit 2nd Generation, Dako Cytomation

Material (Serum + CSV, N=175, 2003-2007)

		Pleocytos i CSV	CSV anti- <i>Borrelia</i> antikroppsindex*	Serum anti- <i>Borrelia</i> antikroppar*	Symptomduration (veckor) median
LNB patienter n=56	LNB n=52	+	+	+/-	3.0
	Möjlig LNB n=4	+	-	+/-	1.3
Icke-LNB patienter n=119	Pleocytos av andra orsaker n=29	+	-	+/-	1.0
	Ingen pleocytos n=90	-	-	-	N.d.

* Lyme borreliosis ELISA kit 2nd Generation, Dako Cytomation

Nuvarande metod för detektion av LNB

IDEIA Lyme Neuroborreliosis (Oxoid)

- capture-ELISA
- Testantigen: renat, antigen från en *B. afzelii*-stam av DK1
- Spektrofotometer / läsare för mikrotiterplattor
- Serum and CSV analyseras parallellt för IgM och IgG. Korrektion för läckage av serumantikroppar över blod-hjärn-barriären är inte nödvändigt

Ny metod I

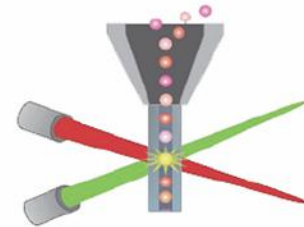
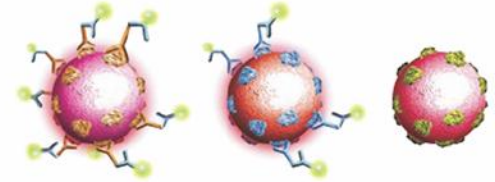
VIDAS Lyme IgG (bioMérieux)

- ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay)
- Rekombinanta antigen:
DbpA, OspC, VlsE
- VIDAS instrument, random access
- Enbart IgG för CSV
- Intratekalt antikroppsindex beräknas manuellt i relation till albumin eller total IgG kvoten

Ny metod II

recomBead Borrelia IgG/IgM (Mikrogen)

- Luminex xMAP teknologi
- Rekombinanta antigen:
OspA, OspC, p100, VlsE, p39, p58, p18
från *B.burgdorferi* ss, *B.afzelii*, *B.garinii*, *B.bavariensis*, *B.spielmanii*
- Intratekalt antikroppsindex beräknas enligt Reiber,
albumin och total IgG/IgM kvot krävs



IDEIA Lyme Neuroborrelios

	LNB patienter		Icke-LNB patienter		Sensitivitet 88 %
	LNB <i>n</i> =52	Möjlig LNB <i>n</i> =4	Pleocytyos av annan anledning <i>n</i> =29	Ingen pleocytyos <i>n</i> =90	
Positivt IgM och/eller IgG index	48	1	1	0	Specificitet 99 %
Negativt IgM och IgG index	4	3	28	90	

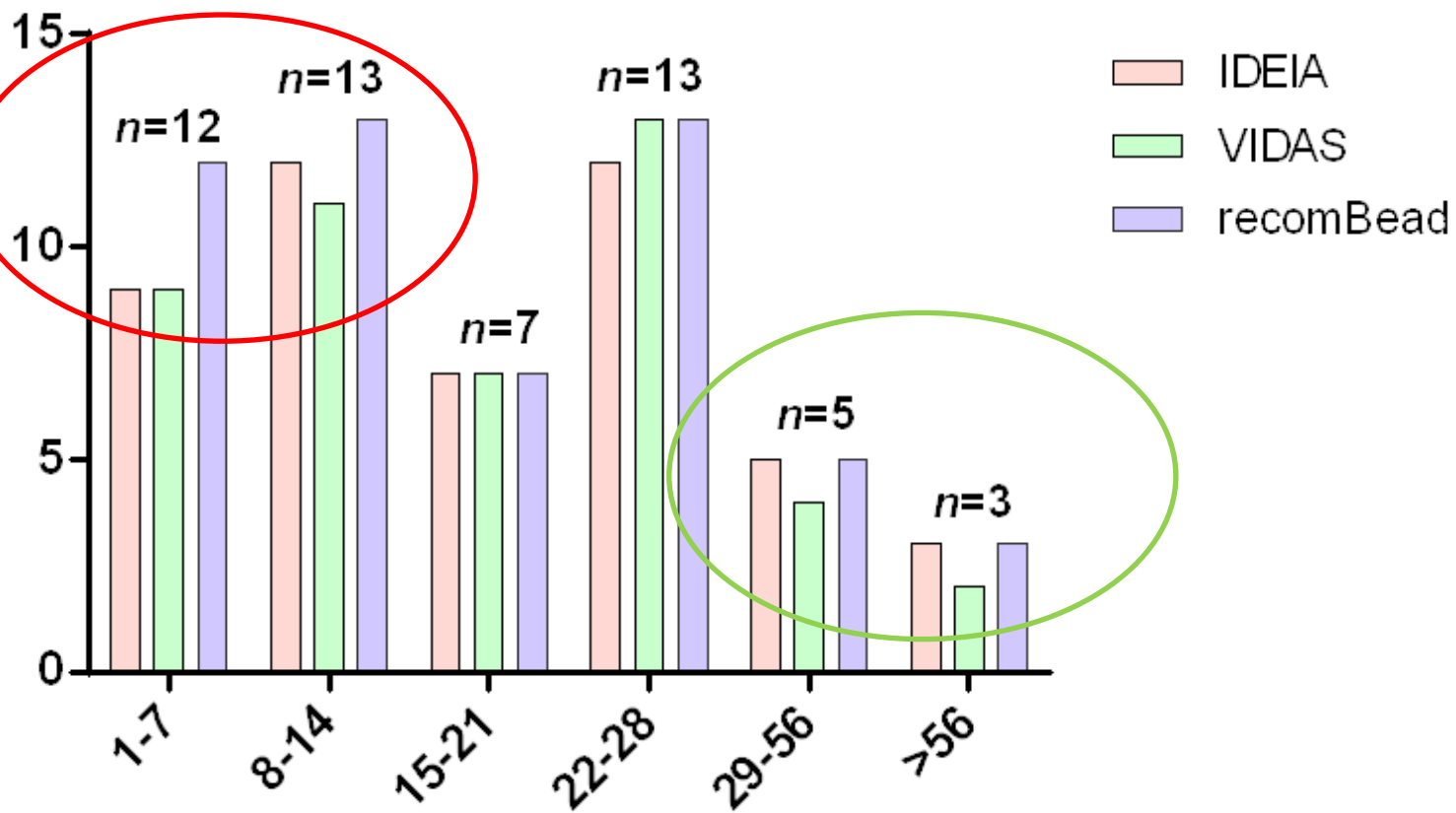
VIDAS Lyme IgG

	LNB patienter		Icke-LNB patienter		Sensitivitet 86 %
	LNB <i>n</i> =52	Möjlig LNB <i>n</i> =4	Pleocytyos av annan anledning <i>n</i> =29	Ingen pleocytyos <i>n</i> =90	
Positivt IgG index	45	3	2	1	Specificitet 97 %
Negativt IgG index	7	1	27	89	

recomBead Borrelia IgM och IgG

	LNB patienter		Icke-LNB patienter		Sensitivitet 100 %
	LNB <i>n</i> =52	Möjlig LNB <i>n</i> =4	Pleocytyos av annan anledning <i>n</i> =29	Ingen pleocytyos <i>n</i> =90	
Positivt IgM och /eller IgG index	52	4	3	1	Specificitet 97 %
Negative IgM och IgG index	0	0	26	89	

Antal patienter med positivt AI



Symptomduration (dagar)

Serum antikroppar

VIDAS Lyme IgM och IgG

	LNB patienter		Icke-LNB patienter		Sensitivitet 93 %
	LNB <i>n</i> =52	Möjlig LNB <i>n</i> =4	Pleocytos av annan anledning <i>n</i> =29	Ingen pleocytos <i>n</i> =90	
Positivt S-IgM och/eller S-IgG	48	4	8	9	Specificitet 86 %
Negative S-IgM och S-IgG	4	0	21	81	

recomBead Borrelia IgM och IgG

	LNB patienter		Icke-LNB patienter		Sensitivitet 86 %
	LNB <i>n</i> =52	Möjlig LNB <i>n</i> =4	Pleocytos av annan anledning <i>n</i> =29	Ingen pleocytos <i>n</i> =90	
Positivt S-IgM och/eller S-IgG	45	3	7	11	Specificitet 85 %
Negative S-IgM och S-IgG	7	1	22	79	

Slutsatser

- Samtliga metoder var enkla att utföra
- VIDAS och recomBead:
 - specialutrustning
 - albumin, total IgG/IgM
 - dyrare
- VIDAS: random access
- Specificiteten för de två nya kiten var jämförbar
- Resultaten visar på förbättrad sensitivitet vid diagnostik med *recomBead* Borrelia testet
- CSV och serum analys

Medarbetare

Jönköping

Anna J. Henningsson, ST läkare, Ph.D
Sture Löfgren, ÖL, Docent
Andreas Matussek, ÖL, Docent

Personal på Avdelningen för Klinisk Kemi,
Länssjukhuset Ryhov, Jönköping

Kalmar

Ivar Tjernberg, ST läkare, Ph.D