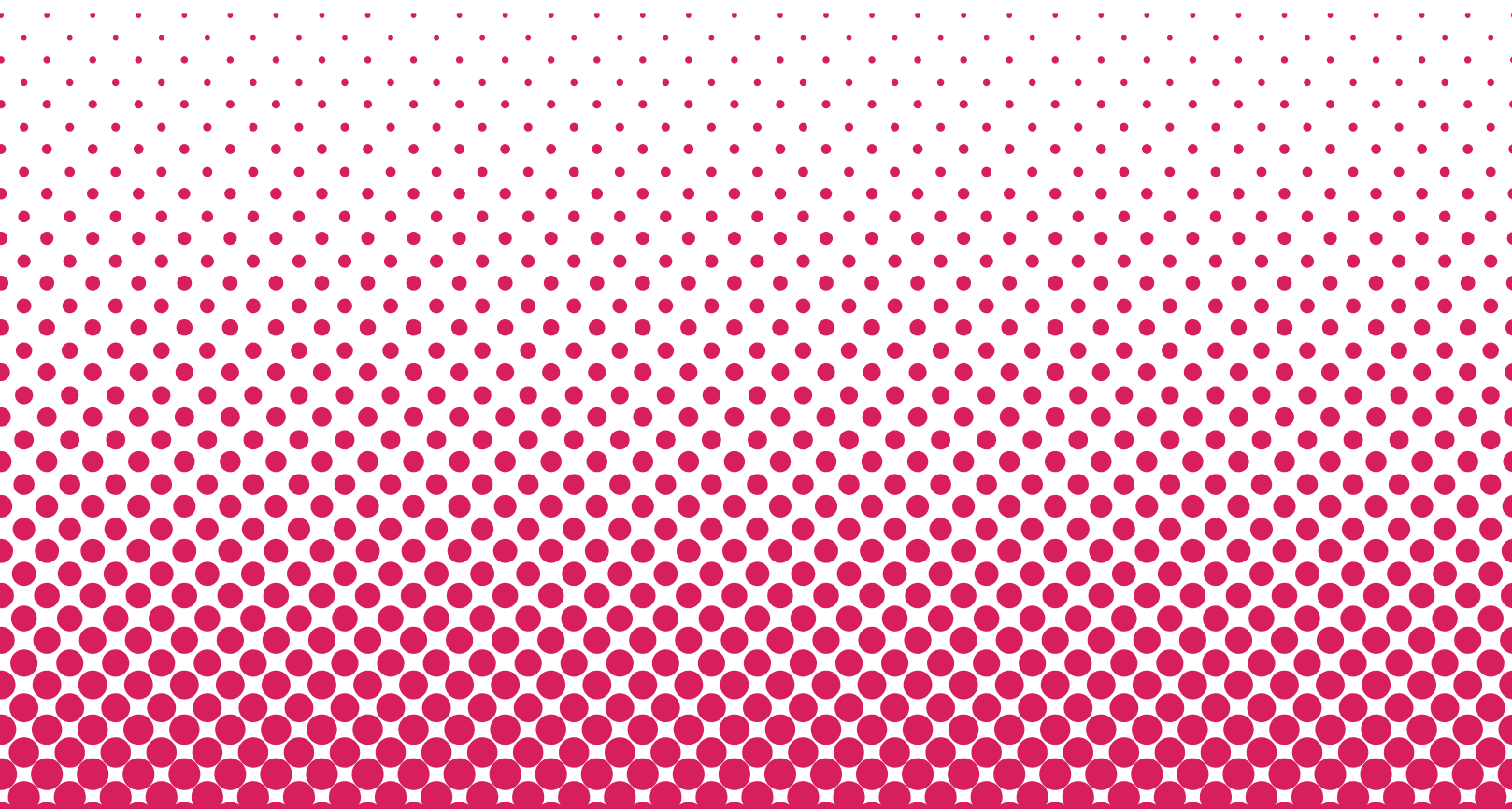


Laboratoriediagnostik av borreliainfektion

En översyn av europeiska rekommendationer och aktuell metodik



Laboratoriediagnostik av borreliainfektion

En översyn av europeiska rekommendationer och aktuell metodik

Bindningar och jäv

För Smittskyddsinstitutets (SMI) egna experter och sakkunniga som medverkat i kunskapsproduktioner bedöms eventuella bindningar och jäv inom ramen för anställningsförhållandet.

När det gäller externa experter och sakkunniga som deltar i SMI:s arbete avseende kunskapsproduktioner kräver myndigheten att de lämnar skriftliga jävsdeklarationer för potentiella bindningar eller jäv. Sådana intressekonflikter kan föreligga om en expert till exempel fått eller får ekonomisk ersättning från företag med intressen i utgången av den fråga som myndigheten behandlar. SMI tar därefter ställning till om det finns några omständigheter som skulle försvåra en objektiv värdering av det framtagna materialet och därmed inverka på myndighetens möjligheter att agera sakligt och opartiskt. Bedömningen kan mynna ut i att experten kan anlitas för uppdraget alternativt att SMI föreslår vissa åtgärder beträffande expertens engagemang eller att experten inte bedöms kunna delta i det aktuella arbetet.

De externa experter som medverkat i denna kunskapsproduktion har inför arbetet i enlighet med SMI:s krav inlämnat deklARATION rörande bindningar och jäv. SMI har därvid bedömt att bindningar eller jäv som skulle kunna äventyra SMI:s trovärdighet inte föreligger. Jävsdeklarationerna och eventuella kompletterande dokument utgör allmänna handlingar som normalt är offentliga. Handlingarna finns tillgängliga på SMI.

Citera gärna Smittskyddsinstitutets rapporter, men glöm inte att uppge källan. Bilder, fotografier och illustrationer är skyddade av upphovsrätten. Det innebär att du måste ha upphovsmannens tillstånd för att använda dem.

Utgiven av: Smittskyddsinstitutet 171 82 Solna. Tel: 08–457 23 00, fax: 08–32 83 30
smi@smi.se, www.smittskyddsinstitutet.se.

September, 2013. Artikelnummer 2013-101-28

ISBN 978-91-86723-27-9

Förord

Genom kunskapsuppbyggnad och kunskapsspridning har Smittskyddsinstitutet till uppgift att främja befolkningens skydd mot smittsamma sjukdomar och bidra till att landets smittskydd fungerar effektivt. I uppgifterna ingår också att vara ett stöd i kvalitets- och metodutvecklingen vid laboratorier som bedriver diagnostik av betydelse för landets smittskydd. *Borrelia* ingår inte i smittskyddslagen men är en sjukdom som innebär en omfattande sjukdomsburda och där både diagnostik och behandling ofta diskuteras. Det saknas i viss utsträckning en nationell konsensus om hur den ska hanteras.

Med bakgrund i de möjliga oklarheter som finns gällande *borrelia* och de frågor som kommit in till myndigheten, vände sig Socialstyrelsen till SBU och SMI för att de skulle ta fram ett underlag som beskriver den aktuella kunskapen kring *borrelia*. SBU inledde arbetet med att göra en systematisk kunskapssammanställning av olika behandlingar och SMI har sammanställt den kunskap som finns om diagnostiska metoder. Syftet är att dels ge Socialstyrelsen underlag för sitt arbete, dels ge sjukvården tillgång till bästa tillgängliga kunskap om diagnostik vid misstänkt *borrelia*infektion.

Arbetet har genomförts av överläkare Magnus Thore med hjälp av experter inom området.

Anders Tegnell
Statsepidemiolog
Smittskyddsinstitutet

Deltagare

För projektet ansvarar

- Magnus Thore, överläkare, konsult vid SMI, projektledare
- Sirkka Vene, mikrobiolog, SMI
- Marika Hjertqvist, epidemiolog, SMI

Deltagande nationella experter

- Torbjörn Kjerstadius, överläkare, klinisk mikrobiologi, Karolinska universitetssjukhuset, Solna
- Ivar Tjernberg, överläkare, klinisk kemi, Kalmar
- Ingvar Eliasson, överläkare, klinisk mikrobiologi, NU-sjukvården, Västra Götaland.

Innehållsförteckning

Förord.....	5
Deltagare.....	6
Innehållsförteckning	7
Sammanfattning	9
Utredning om laboratoriediagnostik av borreliainfektion	
– bakgrund och beskrivning av genomförandet	11
Inledning.....	11
Smittskyddsinstitutets åtagande	11
Projektbeskrivning.....	12
Syfte	12
Genomförande	13
Smittskyddsinstitutets slutsatser	14
Borreliainfektion	16
Kronisk borreliainfektion.....	17
Epidemiologi.....	18
Dubbelinfektioner (co-infektioner)	19
Mikrobiologisk metodik för diagnostik av borreliainfektion.....	21
Översikt av metoder för laboratoriediagnostik av borreliainfektion.....	22
Granskning av metoder som inte rekommenderas i aktuella officiella vägledningar.....	35
Rekommendationer från nationella myndigheter, professionella föreningar och referenslaboratorier inom EU	41
Sverige	42
Danmark.....	42
Norge	43
Finland	44
Nederländerna	44
Storbritannien.....	45
Tyskland.....	45
Frankrike	46

Referenser.....	48
Förkortningar.....	66

Sammanfattning

Borrelia burgdorferi sensu lato (Bb) överförs exklusivt via fästingar och ger upphov till distinkta kliniska manifestationer (erytema migrans (EM), lymfocytom, kronisk akrodermatit (ACA), neuroborrelios (NB), artrit, kardit, ögonaffektion). Alla manifestationer ska antibiotikabehandlas. Vaccinprövningar planeras. Eftersom borreliainfektion (BI) inte är anmälningspliktig i Sverige är omfattningen inte systematiskt dokumenterad, men sannolikt ökar den i takt med en ökad fästingförekomst. Kronisk borreliainfektion som varar längre än 6 månader förekommer vid obehandlade infektioner som ACA, kronisk artrit eller sen (kronisk) NB som alla är mycket ovanliga efter tidig antibiotikabehandling. Långvariga besvär (post-Lyme disease syndrome, PLDS) drabbar en betydande andel patienter som har antibiotikabehandlats för NB. Det är osannolikt att PLDS beror på en kvarstående aktiv infektion. Dubbelinfektioner är sannolikt ovanliga i Sverige men bör övervägas vid fästingrelaterade infektioner, särskilt vid allvarligare symptomatologi, och kopplas till patientens ålder, immunstatus och geografiska hemvist.

Diagnostik av BI ska primärt alltid baseras på den kliniska bilden och en bedömning av sannolikheten för fästingbett i det enskilda fallet. Serologi som utförs enligt rekommenderade indikationer utgör i de flesta fall ett gott stöd för diagnosen. Det ska observeras att serologi inte rekommenderas för diagnostik av EM. Serologi kan oftast inte skilja på en aktuell eller genomgången infektion och BI i ett tidigt skede kan vara seronegativ. Kommersiella tester är inte standardiserade och ger ofta olika testresultat med åtföljande tolkningssvårigheter. Att upprepa provtagningen vid positiv serologi är ofta meningslöst. Korsreaktivitet med andra patogener och sjukdomstillstånd är vanligt. Immunoblot kan vara värdefullt som ett komplement till primär serologi vid artrit och ACA. För att ställa diagnosen NB krävs csv-pleocytos och förekomst av intratekalt producerade specifika antikroppar. CXCL13 kan vara ett värdefullt komplement för att diagnosticera tidig NB. Odling och PCR kan användas som ett stöd i vissa situationer, PCR utförs på ett fåtal laboratorier i Sverige men odling görs inte alls. Det samma gäller histopatologi. Det vetenskapliga underlaget för att rekommendera datortomografi eller magnetkamera är alltför knapphändigt. I samtliga åtta nationella vägledningar som har granskats råder stor samstämmighet beträffande rekommendationerna för laboratoriediagnostik av BI. Utredarnas förslag för laboratoriediagnostik av BI presenteras i **tabell 1** och tolkningen av serologi i **tabell 2**.

CDC har i sin publikation [Morbidity and Mortality Weekly Report \(MMWR\)](#) uppmärksammat att vissa laboratorier erbjuder alternativ diagnostik i strid med officiella rekommendationer. Man uppmanar därför patienter att fråga sin läkare om de tester som används är godkända och validerade, samt om de används enligt gällande riktlinjer. I utredningen har vi granskat ett antal sådana metoder (urinantigentest, påvisande av borreliainducerad cytokinsekretion, LTT, CD57+, gråskaletest, påvisande av atypiska borreliaformer, samt faskontrast-

/mörkfältsmikroskopi av bloddroppe). Vi konstaterar att det finns ett primärt forskningsintresse kring att använda olika metoder, exempelvis de som räknas upp här, för att studera möjligheten av BI vid olika kliniska syndrom som PLDS. Enligt utredningen har detta inte kunnat påvisas på ett otvetydigt sätt, vilket innebär att vi anser att det inte är berättigat att använda dessa metoder i diagnostiskt syfte. De bedöms vara bristfälligt validerade för klinisk laboratoriediagnostik när det gäller dokumentation, indikationer och prestanda.

Utredning om laboratoriediagnostik av borreliainfektion – bakgrund och beskrivning av genomförandet

Inledning

Utredningen begärdes av Socialstyrelsen i maj 2011. Myndigheten pekade då på att det finns obesvarade frågor kring en ökad rörlighet av människor, sällskapsdjur och andra migrerande djur och risken för fästingburen smitta. Tillförlitlig diagnostik och behandlingsduration är andra frågor som behöver beröras. Ett särskilt problemområde är ”kronisk borreliainfektion”. Där vill Socialstyrelsen att SMI gör en översyn av problemet, nationellt och internationellt, för att optimera handläggningen. Till stöd bifogar Socialstyrelsen en artikel om kronisk Lyme Disease av Feder och medarbetare (2007) och ett brev från en privatperson till Socialstyrelsen år 2007, med uppmaningen att bredda kunskaperna i läkarkåren angående diagnos och behandling av borrelia, samt kronisk borreliainfektion. I brevet framhölls sju områden: utslagens utseende, symptom, analys, tolkning av analysvar, behandling, behandlingstid och begreppet kronisk borreliainfektion.

Smittskyddsinstitutets åtagande

Utredningsuppdraget från Socialstyrelsen omfattar ett antal frågor inom problemområdet som är svåra att täcka inom ramen för en enda utredning. I sin utredning ansåg Smittskyddsinstitutet att det var lämpligt att utreda diagnostiken av olika manifestationer av borreliainfektion (BI), med fokus på den mikrobiologiska diagnostiken. Statens beredning för medicinsk utvärdering (SBU) har samtidigt fått i uppdrag av Socialstyrelsen att granska det vetenskapliga underlaget för behandling av BI.

Senare har det framkommit att ECDC har utsett RIVM, Nederländerna, till att göra en utredning, projektet *Critical appraisal of the reliability of laboratory test for Lyme borreliosis in the EU*. Projektet ska granska den vetenskapliga evidensen bakom den laboratoriediagnostik av BI som i dag används och rekommenderas inom EU. Den 5 mars 2013 meddelade ECDC att RIVM koncentrerar sin utredning kring det vetenskapliga underlaget för rekommendationer för serologisk diagnostik och lymfocyttransformationsstestning (LTT), men inte för odling, PCR, histologi, CXCL13 eller andra kliniskt kemiska analyser som används som stöd vid NB-diagnostik. Inte heller studeras underlaget för ett antal tester som hittills inte är tillräckligt validerade för att tas upp i officiella rekommendationer. ECDC anser att frågan om anmälningsplikt av NB för närvarande får stå tillbaka för en kartläggning av diagnostiken och en utveckling av europeiska falldefinitioner. Man beräknar att ha en rapport klar i oktober 2013 för en diskussion i en tredje expertgruppskonferens i november–december 2013.

SMI:s utredning har inriktats på att göra dels en litteraturoversikt över olika aspekter på laboratoriediagnostik, dels att inventera rekommendationer i olika länder avseende diagnostiken. Ett delmål är också att se över den svenska mikrobiologiska referensdiagnostiken för BI. Utredningen görs i samråd med SBU.

Projektbeskrivning

Den svenska mikrobiologiska laboratoriediagnostiken av BI som rekommenderas i dag uppdaterades senast år 1997. Den är publicerad i avsnittet Borrelia i "Referensmetodik för laboratoriediagnostik vid kliniskt mikrobiologiska laboratorier" (<http://www.referensmetodik.smi.se/w/Borrelia>).

Som komplement till den mikrobiologiska diagnostiken av NB beskrivs referensmetodiken i ett antal kliniskt kemiska analyser i artiklarna:

"Klinisk kemisk diagnostik vid misstänkt CNS-infektion"

(http://www.referensmetodik.smi.se/w/Klinisk_kemisk_diagnostik_vid_misst%C3%A4nkt_CNS-infektion)

"Metoder för evaluering av specifikt immunsvar i CNS"

(http://www.referensmetodik.smi.se/w/CNS-infektioner-metoder_f%C3%B6r_evaluering_av_specifikt_immunsvar)

Uppfattningen är att dagens referensmetodik för laboratoriediagnostik av BI behöver ses över.

Det saknas ännu officiella europeiska falldefinitioner med rekommendationer för laboratoriediagnostiken. År 2009 publicerade Läkemedelsverket falldefinitioner som skulle ligga till grund för svenska rekommendationer för bland annat klinisk och laborierstödd diagnostik av BI. Sedan Läkemedelsverket publicerade sina expertrekommendationer har nya rekommendationer publicerats inom ramen för European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID, genom expertgruppen ESGBOR [2011] och expertgruppens webbsida EUCALB [<http://www.eucalb.com>] som uppdaterades 2012) och European Federation of Neurological Societies (EFSN 2010). Rekommendationerna för laboratoriediagnostiken i dessa skiljer sig på några punkter från de svenska, vilket ytterligare understryker behovet av en översyn av referensmetodiken.

Syfte

Utredningens huvudsyfte är att skapa underlag för en uppdatering av den laboriemedicinska referensdiagnostiken som används i dag. För att åstadkomma detta har följande frågor belysts:

- Vilka är de nuvarande svenska och europeiska rekommendationerna för laboratoriediagnostiken av BI?
- Vilka internationella rekommendationer finns för viss stödjande diagnostik?
- Finns det stöd för rekommendationer av andra diagnostiska metoder (avser urinantigentest, lymfocyttransformations-test (LTT), PCR-detektion i blod-

och urin, gråskaletest, alternativa indikationer och tolkningar av immunoblot-tester (WB), CD57⁺/CD3⁻, påvisande av atypiska borreliaformer och mikroskopi av bloddroppe)?

Genomförande

Först gjordes en övergripande kartläggning av de aktuella nationella rekommendationerna och policyerna i Europa och EUCALB (**Bilaga 1**), samt av litteraturhänvisningarna och förslagen till europeiska falldefinitioner som gavs vid *Second expert consultation on tick-borne diseases with emphasis on Lyme disease and tick-borne encephalitis. Stockholm, Sweden, 22–23 november 2011* (**Bilaga 2**). I flera fall utvidgades granskningen av de publikationer som citerades i dessa skrifter (**Bilaga 3**). Kartläggningen kompletterades med en granskning av icke systematiskt sökta publikationer av diagnostisk metodik, med avseende på serologi (inklusive Western blot), lymfocyttransformations tester (LTT) och kliniskt kemiska tester för diagnostik av NB. Granskningen av systematiskt sökta publikationer omfattade odling, molekylärbiologiska metoder, CXCL13, datortomografi och magnetkameraundersökning, urinantigentest, molekylärbiologiskt påvisande av Bb i blod och urin, CD57⁺/CD3⁻, synundersökning med gråskaletest, påvisande av ”atypiska” bakterieformer, samt direktmikroskopi av bloddroppe. Med utgångspunkt från litteraturgranskningen ges ett detaljerat förslag för hur den svenska mikrobiologiska referensmetodik för diagnostik av borrelia ska uppdateras för att vara ett optimalt stöd för de enskilda laboratorerna i landet.

Litteratursökningen gjordes i samråd med SBU. Den baserades på Pubmed via NLM och utgick från populationerna (MeSH) Lyme disease/blood/cerebrospinal fluid/diagnosis/immunology/Borrelia burgdorferi group mot referenstester (serologi) och indextester. Totalt hittades 3 315 abstracts. Av dessa berörde 1 874 serologiska undersökningsmetoder och lymfocyttransformations test (LTT), 1 300 odling/PCR och 141 resterande metodik. Granskningen har genomförts på SMI med stöd av externa experter och har stämts av mot nationella rekommendationer och referensartiklar: dels de som föreslås som bas för Europeiska falldefinitioner (Mygland och medarbetare, 2010, Stanek och medarbetare, 2011, EUCALB 2012), dels ett antal översiktsartiklar som presenterar nuvarande kunskaper inom ämnesområdet. Områdena serologi och LTT berörs översiktligt eftersom ECDC via RIVM (Nederländerna) granskar dessa områden under 2013. En systematisk gradering av den vetenskapliga evidensen i de granskade artiklarna har inte gjorts eftersom detta nyligen har genomförts av andra (Stanek och medarbetare, 2011, Mygland och medarbetare, 2010) eller pågår (ECDC via RIVM, 2013 på gång). Publikationerna har istället bedömts med avseende på hur slutsatserna och rekommendationerna överensstämmer med referensartiklarnas för att kartlägga eventuella skiljelinjer.

Smittskyddsinstitutets slutsatser

Syftet med denna utredning har varit att ta fram ett underlag för att revidera borreliaavsnittet i den svenska referensmetodiken för diagnostik vid mikrobiologiska laboratorier. Smittskyddsinstitutet har därför kartlagt aktuella svenska och andra nationella rekommendationer inom EU för laboratoriediagnostik av borreliainfektion (BI). Den granskning av mikrobiologisk diagnostik som för närvarande pågår vid RIVM på uppdrag av ECDC har också inkluderats. SMI har även gjort en översiktlig granskning av den aktuella laboratoriediagnostiken: dels den som oftast rekommenderas, dels den som är under utveckling och fortfarande saknar tillräcklig validering. Utredningen berör också metoder där det finns olika uppfattningar beträffande deras användbarhet.

Smittskyddsinstitutet konstaterar att det saknas gemensamma falldefinitioner och enhetliga rekommendationer för laboratoriediagnostiken av BI i Europa. Däremot har många länder gett ut mer eller mindre officiella nationella rekommendationer, genom egna myndigheter eller genom publikationer av expertgrupper. I Sverige gav Läkemedelsverket år 2009 ut sådana rekommendationer med en presentation av svenska kriterier för klinik, diagnostik och behandling. I de europeiska rekommendationerna finns en relativt omfattande konsensus kring användningen av primärdiagnostiska metoder, men också för metoder som rekommenderas som komplement vid mer komplicerade fall. I några fall har man också beskrivit metoder som man anser inte bör användas. I de flesta fall framför de olika författarna argument för sina ståndpunkter.

Inom EU pågår för närvarande ett arbete med att granska den vetenskapliga evidensen för de metoder som rekommenderas i nationella rekommendationer för laboratoriediagnostiken av BI. Arbetet som leds av ECDC utförs av Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven, Nederländerna (RIVM), och fokuserar på den serologiska diagnostiken (ELISA och immuno-/Western blot) och lymfocyttransformations tester (LTT). Utredningen inkluderar däremot inte de metoder som ofta rekommenderas som komplement: odling, molekylärbiologisk påvisning och histologi. Nyare metoder som påvisning av CXCL13-kemokin vid NB ingår inte heller. RIVM:s arbete beräknas vara färdigt för rapport under senhösten 2013. Målet är att det ska vara en grund för europeiska falldefinitioner av BI, inklusive NB. Som bas för arbetet med att ta fram europeiska falldefinitioner har ECDC angivit två publikationer (Stanek och medarbetare 2011, Mygland och medarbetare, 2010) som lägger fram detaljerade förslag och presenterar omfattande argument för möjliga europeiska falldefinitioner. Förslagen stöds också av European Concerted Action on Lyme Borreliosis (EUCALB, 2012). Läkemedelsverkets rekommendationer från år 2009 avviker på några punkter från dessa rekommendationer. SMI anser att det är lämpligt att det görs en översyn av de svenska rekommendationerna, men att man bör avvakta med denna tills man är överens om de europeiska falldefinitionerna.

SMI konstaterar att epidemiologin för BI och NB inom Europa är bristfälligt kartlagd. Detta har flera orsaker. BI är visserligen anmälningspliktig i flera länder, men statistiken är inte jämförbar eftersom falldefinitioner med diagnostiska

kriterier skiljer sig mellan länderna. Den pågående utredning som görs av RIVM för att bidra till att definiera falldefinitioner som är gemensamma för EU, kan komma att aktualisera frågan om anmälningsplikt för i första hand NB.

SMI konstaterar också att i de nationella rekommendationer och publikationer som föreslås som grund för kommande europeiska falldefinitioner, råder det enighet om att sen (kronisk) NB förekommer med påvisbara infektionstecken som komplikation till obehandlad NB, men endast mycket sällan efter antibiotikabehandlad NB. Beträffande tillståndet post-Lyme disease syndrome (PLDS) är publikationerna eniga om att det rör sig om ett post-infektiöst tillstånd, utan objektiva infektionstecken efter genomgången och behandlad NB. Motargumenten som har framförts baseras på vissa forskningsresultat med innebörden att PLDS är en persisterande infektion (kronisk NB).

Referensmetodik för laboratoriediagnostik vid kliniskt mikrobiologiska laboratorier, avsnitt borrelia, bör i fortsättningen också rekommendera serologi med ELISA-metodik som ett diagnostiskt förstahandsval för alla manifestationer av BI utom EM (**tabell 1**). EM bör omdefinieras och sorteras in under ”övrig metodik”, samt kompletteras med tolkningskriterier (**tabell 2**). Diagnostik av NB bör omfatta ett påvisande av csv-pleocytos och metodiken bör uppdateras så att det går att beräkna specifikt antikroppsindex, korrigerat för en eventuell skada i blod-hjärnbarriären. SMI konstaterar att flera länder rekommenderar immunoblot (WB) för verifiering av ELISA-screeningen, men detta är kontroversiellt. Nyttan med förfarandet har inte klarlagts, i jämförelse med dagens screening med andra eller tredje generationens ELISA-tester. Referensmetodik bör ge tydliga anvisningar till i vilka situationer WB kan vara värdefullt och vilka tolkningskriterier som i så fall bör gälla. Ytterligare bidrag om den serologiska metodiken kan förväntas från RIVM:s pågående utredning.

Odling bör beskrivas i referensmetodik och definieras som referensmetodik eftersom specificiteten är nästan 100 procent, Indikationsområden bör definieras. Ett molekylärbiologiskt påvisande med PCR bör beskrivas och indikationsområden definieras. Odling och PCR ska inte rekommenderas för generellt bruk utan anvisas till referenslaboratorier. Histologi bör också omnämnas.

Under övrig diagnostik bör CXCL13-test beskrivas och möjliga indikationsområden anges.

Ett särskilt avsnitt bör innehålla en översikt över den diagnostiska metodik som i dag saknar ett vetenskapligt underlag och därför inte kan rekommenderas. Hit hör datortomografi och magnetkameraundersökning, LTT (påvisande av borreliainducerad cytokinproduktion, med reservation för RIVM:s pågående utredning), urinantigentest, CD57⁺/CD3⁻, gråskaletest, påvisande av atypiska borreliaformer, samt mikroskopi av bloddroppe.

Borreliainfektion

Borreliainfektion (BI), som i USA kallas *Lyme disease* och i Europa *Lyme borreliosis*, är en vektorburen bakteriell zoonos som sprids via fästingar av släktet *Ixodes*. Infektionen orsakas av ett antal närbesläktade bakteriearter, så kallade spiroketer, med samlingsbeteckningen *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Bb). Ett annat kliniskt infektionssyndrom, helt skilt från BI, är den lusöverförda återfallsfebern som huvudsakligen förekommer i Afrika. Den orsakas också av borreliabakterier, vanligen *Borrelia recurrentis* men berörs inte i denna utredning.

Bb överförs till människa med fästingbett. Olika värddjur för fästingar, framför allt smågnagare och fåglar, är reservoar för spiroketen. Större djur som exempelvis rådjur och hjortar är visserligen värddjur för fästingar, men de utgör inte reservoar för bakterierna (Jaenson och Tälleklint, 1992). Möjligheten att Bb överförs via andra vektorer än fästingar, eventuellt också mellan människor som transfusionsöverförd smitta, sexuellt eller som mor-till-barn-smitta, har inte verifierats (Elliott och medarbetare, 2001, Schoenstadt, 2009). I Europa dominerar två arter av Bb: *Borrelia afzelii* som orsakar cirka 60 procent av BI och *B. garinii* med drygt 20 procent. Andra arter som *B. valaisiana* och *B. burgdorferi sensu stricto* förekommer mer sällan (Rauter och medarbetare, 2005). Den senare bakterien dominerar helt på den nordamerikanska kontinenten. Alla bakteriearterna kan på stället för fästingbettet orsaka erytema migrans (EM). Typiskt för en *B. afzelii*-infektion är ett EM som breder ut sig långsamt, med central uppkläring. Samma bakterie orsakar också godartat lymfocytom och kronisk akrodermatit (ACA), ofta med ett perifert nervengagemang, som inte ska förväxlas med neuroborrelios (NB, infektion i nervrötter och meningier). *B. garinii* är associerad med NB (Strle och medarbetare, 2006, EUCALB, 2012) och *B. burgdorferi* ss med ledinflammation, ofta som långvariga eller intermittenta besvär i större leder (artrit), något som är vanligt i USA men ovanligt i Europa. Andra manifestationer av BI är kardit och ögonaffektion. Helt asymptomatiska infektioner förekommer också med Bb. I Europa förekommer i begränsad omfattning andra varianter av Bb (genotyper) som sannolikt kan orsaka BI. Att påvisa specifika antikroppar mot Bb i blod eller cerebrospinalvätska (csv) utgör hörnstenen i den mikrobiologiska diagnostiken av BI, förutom av EM. Alla stadier av BI antibiotikabehandlas, i majoriteten av fallen med klinisk utläkning som följd (Svenska Läkemedelsverket 2009). Vaccin mot BI saknas, men prövningar av ett nytt vaccin planeras i Europa. För en fördjupad översikt, se Svenska Läkemedelsverket 2009.

Sammanfattning: Bb överförs exklusivt via fästingar och ger upphov till distinkta kliniska manifestationer (EM, lymfocytom, ACA, NB, artrit, kardit, ögonaffektion). Alla manifestationer ska antibiotikabehandlas. Vaccinprövningar planeras. För detaljerad beskrivning av symptom, se föreslagna europeiska falldefinitioner i **bilaga 3 a-c**.

Kronisk borreliainfektion

Kronisk BI förekommer inte enbart som ACA och kronisk artrit, utan även som sen (kronisk) NB med persisterande symptom och objektiva infektionstecken i ryggmärgsvätska (csv) och blod med en varaktighet på över sex månader. Tillstånden förekommer vid obehandlad BI, men anses vara mycket ovanliga om rätt antibiotikabehandling sätts in i ett tidigt skede. En mindre andel av de patienter som har antibiotikabehandlats för artrit har långvariga kvarstående ledbesvär. Post-Lyme disease syndrome (PLDS) är ett tillstånd efter genomgången antibiotikabehandling av NB som kännetecknas av långvariga besvär, bland annat trötthet, diffus värk, minnesstörningar och koncentrationssvårigheter. Tillståndet drabbar en betydande andel av patienterna (Cimperman och medarbetare, 1999, Ljostad och Mygland, 2010). Långvariga symptom innan antibiotikabehandling och uttalad csv-pleocytos har identifierats som riskfaktorer för PLDS. Kvinnor drabbas oftare än män (Ljostad och Mygland, 2010). Feder och medarbetare (2007) samt Lantos (2011) anser att PLDS är ett resttillstånd utan objektiva infektionstecken, ett synsätt som genomsyrar de flesta nationella rekommendationer kring BI. Orsaken till PLDS är oklar och många teorier har förts fram, som exempelvis ett kvarstående inflammatoriskt svar som orsakas av spiroketter och reaktiva antigen (Fallon och medarbetare, 2010), ett uppreglerat immunsvår som orsakar vävnadsskada (Widhe och medarbetare 2004) eller en autoimmun reaktion (Sigal och Williams, 1997). Motsvarande diskussioner förs också kring långvariga artritbesvär som drabbar mer än 10 procent av de patienter som har infekterats med *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, trots antibiotikabehandling av BI (Nardelli och medarbetare, 2008). PLDS har också associerats med psykiatriska och psykologiska faktorer (Hassett och medarbetare, 2009). Andra anser att tillståndet är ett uttryck för en kvarvarande infektion med Bb-spiroketer eller atypiska former av dessa och därför bör betraktas som en form av kronisk borreliainfektion. Den uppfattningen har lett till att vissa laboratorier erbjuder alternativa testmetoder för att påvisa infektion vid PLDS. I dessa fall används resultaten, i strid med nationella rekommendationer, som grund för en långvarig antibiotikabehandling. Bland annat Cameron (2010) argumenterar till stöd för dessa ståndpunkter. Utanför de nationella rekommendationerna används också begreppet kronisk borreliainfektion för patienter med ospecifika symptom, ofta utan en spårbar koppling till tidigare BI eller fästingbett. Donta (2012) framför argument till stöd för uppfattningen att PLDS och andra tillstånd av trötthet, värk etcetera är tecken på kronisk borrelios. För denna grupp är standardtester ofta, men inte alltid, negativa och författaren menar att ytterligare forskning måste göras för att bringa klarhet i om symptomen beror på en persisterande infektion, en förbisedd co-infektion, autoimmunitet mot en persisterande antigen, eller på ett eventuellt bakterietoxin.

Sammanfattning: Kronisk borreliainfektion som varar längre än sex månader förekommer som ACA, kronisk artrit eller sen (kronisk) NB. Kronisk BI är mycket ovanlig efter antibiotikabehandling. Långvariga besvär (post-Lyme disease syndrome, PLDS) drabbar en betydande andel patienter som har antibiotikabehandlats för NB, men är inte ett uttryck för en kvarstående aktiv

infektion. Vissa forskare hävdar att PLDS, liksom tillstånd av ospecifik symptomatologi utan direkt koppling till fästingbett, är uttryck för en kvarstående infektion och därför en kronisk BI. Detta har lett till att vissa kliniker erbjuder alternativ diagnostik och långvarig antibiotikabehandling, i strid med nationella rekommendationer.

Epidemiologi

I Europa är den beräknade incidensen av BI drygt 65 000 personer per år (i Nordamerika 16 500 per år och i Ryssland-centralasien 3 500 per år). I Afrika förekommer endast enstaka fall. Sannolikt är den faktiska incidensen i Europa 2-3 gånger högre än den rapporterade på grund av underdiagnostik och underrapportering. Visserligen är BI redan i dag anmälningspliktig i ett antal länder i Europa, Amerika, Asien och Australien (Hubalek 2009), men inte i till exempel Österrike, Sverige, Schweiz, Frankrike, Belgien, Nederländerna, Irland och Storbritannien. Det har argumenterats för att åtminstone NB borde vara en anmälningspliktig sjukdom i Europa (Hubalek 2009, Rizzoli 2011). Som skäl för detta framför Hubalek i första hand en ökad medvetenhet om sjukdomen, vilket skulle kunna leda till bättre klinisk förståelse och bättre diagnostik på sikt.

Rizzoli och medarbetare (2011) har publicerat argument för att det behövs ett övervakningssystem som är kopplat till en standardisering av diagnostiska tester och behandling. Författarna anser att det är viktigt eftersom sjukdomen sannolikt ökar och övervakningen kan bidra till utvecklingen av effektivare prediktiva modeller. Man anser också att inte minst under- och överdiagnostik är orsak till att kunskapen om den verkliga förekomsten av BI är bristfällig. Enligt författarna är 13,7 procent av fästingarna i Europa Bb-smittade, men det är stora variationer mellan olika regioner samt inom och mellan länder. Den högsta prevalensen finns i Centraleuropa (Österrike, Tjeckien, Tyskland, Slovenien och Slovakien). Författarna konstaterar att rapporteringen av BI baseras på icke standardiserade falldefinitioner. Inte heller diagnostiken är standardiserad i Europa och den borde för övrigt utvecklas. Beträffande behandlingen konstaterar man att det saknas en officiell europeisk konsensus.

Kartläggning av förekomsten i Sverige. I Sverige förekommer borreliainfektioner (BI) i större delen av landet, men främst i landets södra och mellersta delar och längs Östersjöns och Bottenhavets kuster. Risken för smitta efter ett fästingbett uppskattas till 1 på 150 observerade bitt, baserat på epidemiologiska studier i Sverige (Läkemedelsverket, Dotevall, 2009). Den mest omfattande studie som har gjorts i Sverige utfördes 1992–1993 i sju län i södra delen av landet och uppskattade antalet fall i Sverige till mellan 5 000 och 10 000 per år (Berglund och medarbetare 1995). Incidensen i studieområdet var 69 fall per 100 000 invånare, men skillnaden mellan länen var stor: 26–160 fall per 100 000 invånare. Incidensen var högst i de östra delarna av studieområdet. EM svarade för 77 procent av fallen, följt av NB med 16 procent och övriga manifestationer på 13 procent.

Eftersom fästingarna har ökat i antal och utbredning under de senaste decennierna (Jaenson och medarbetare 2012), har sannolikt även antalet fall ökat sen studierna

genomfördes. Ingen form av BI är anmälningspliktig i Sverige, vilket i praktiken innebär att problematikens omfattning inte är systematiskt dokumenterad. I en studie som inkluderade 23 av Sveriges dåvarande 25 län visade Gustafson och medarbetare att borreliaprevalensen i fästingar varierade från 3 procent i Jämtland till 23 procent i Södermanland. Generellt var andelen borreliapositiva fästingar signifikant högre i de södra länen än i de norra (Gustafson och medarbetare 1995). Senare har andra forskare kunnat påvisa borreliaspecifika nukleinsyror i 19 procent av de fästingar som sugit blod från människor i Östergötland. Sex arter identifierades i fästingarna. *B. afzelii* var vanligast (53 procent), följt av *B. garinii* (20 procent), *B. valaisiana* (11 procent), *B. burgdorferi sensu stricto* (1 procent), *B. lusitaniae* (1 procent) samt *B. miyamotoi*-lik (1 procent) (Wilhelmsson och medarbetare 2010).

Dubbelinfektioner (co-infektioner)

Fästingar kan överföra olika infektioner till människa, varav några kan överföras samtidigt som Bb. Sådana situationer påverkar både epidemiologi, klinik, diagnostik och behandling av BI (EUCALB 2012). Det är särskilt problematiskt när fästingöverförd encefalit förekommer samtidigt som tidig NB (Cimperman och medarbetare, 1998) eftersom det kan äventyra behandlingen av NB. Det är också svårare att diagnosticera granulocytär anaplasmos om BI förekommer samtidigt (Wormser och medarbetare, 1997).

Att fästingburna smittor som förekommer i Sverige överförs samtidigt med Bb är sannolikt ovanligt, men bör beaktas vid sjukdomsfall som associeras med fästingbett. Vid feber och allmänsymptom som huvud- och muskelvärk bör differentialdiagnostik övervägas, kopplat till patientens ålder, immunstatus och geografiska hemvist.

Ovaccinerade individer i främst södra och mellersta Sveriges kustområden löper störst risk att få en dubbelinfektion med Bb och TBE. Risken minskar betydligt längre norrut i landet. I Syd- och Mellansverige kan dubbelinfektion med *Anaplasma phagocytophilum* förekomma, vilket sannolikt förbises ibland eftersom den infektionen (granulocytär anaplasmos) ofta förlöper med endast milda allmänsymptom. I en studie av 206 patienter med fästingrelaterade sjukdomssymptom, beskriver Nordberg och medarbetare (2012) att 186 hade BI (174 av dessa hade även EM), 20 hade granulocytär anaplasmos och 2 hade TBE. De två sistnämnda hade en samtidig co-infektion med Bb eller *Anaplasma*. Till bakteriegruppen räknas också *Candidatus Neohrlichia mikurensis* med sorkar och möss som huvudsakliga värddjur. Bakterien överförs till människa via fästingbett och kan orsaka högfebril sjukdom med risk för blodproppar (Welinder-Olsson och medarbetare, 2010). *Rickettsia helvetica* finns också bland fästingar i Syd- och Mellansverige. Endast några få inhemska fall av klinisk sjukdom orsakad av *R. helvetica* har beskrivits, men seroprevalensen bland friska blodgivare i Sverige har angivits till 2,6 procent (Elfving och medarbetare, 2008). Förekomsten i Sverige av *Anaplasma* och *Rickettsia* har nyligen kartlagts (Severinsson och medarbetare, 2010). Författarna drar slutsatsen att förekomsten av *Anaplasma* (1,3–15,0 procent,

beroende på område) och *Rickettsia* (1,5–17,3 procent, beroende på område) är utbredd bland fästingar. De bör därför finnas i åtanke som möjliga etiologiska agens vid fästingburen smitta. *Coxiella* orsakar Q-feber som är en global zoonos. Smittspridningen sker oftast genom inandning av en luftburen aerosol, men smittan kan också överföras via fästingar, även om det är sällsynt (Hildebrandt och medarbetare, 2011). Sedan Q-feber blev anmälningspliktig 2004 har 1 till 11 fall rapporterats årligen och majoriteten har smittats i Medelhavsområdet. Harpest (tularemi) orsakas av bakterien *Francisella tularensis* och överförs huvudsakligen via myggor, men kan i sällsynta fall överföras av fästingar. Bakterierna är vattenlevande i amöbor som konsumeras av mygglarver, vilket medför att harpestår är kopplade till regniga somrar då flera generationer myggor kan produceras per säsong. I Sverige rapporterades sjukdomen tidigare framför allt från Norrland, men numera förekommer den i såväl Götaland som Svealand. Babesios är en ovanlig parasitsjukdom som liknar malaria i och med att den infekterar röda blodkroppar. Smittämnet, i Europa i första hand *Babesia divergens*, förekommer bland annat i de södra delarna av Sverige och i norra Europa (Welc-Faleciak och medarbetare, 2010). Det är nästan uteslutande mjältextirperade individer som får en symptomatisk infektion med *Babesia*-parasiter.

För ytterligare information om respektive mikroorganism, se svensk mikrobiologisk referensmetodik:

<http://www.referensmetodik.smi.se/w/Huvudsida>

Sammanfattning: Dubbelinfektioner är sannolikt ovanliga i Sverige men bör övervägas vid fästingrelaterade infektioner, särskilt vid allvarigare symptomatologi, och de bör kopplas till patientens ålder, immunstatus och geografiska hemvist.

Mikrobiologisk metodik för diagnostik av borreliainfektion

Allmänt: Utredarnas förslag till laboratoriediagnostik av BI redovisas i **tabell 1**. I **tabell 2** listas utredarnas förslag på bedömningsalternativ för tolkning av serologiska resultatprofiler, kopplade till kliniska manifestationer.

Tabell 1: Översikt av föreslagna rekommendationer för laboratoriediagnostik och förväntat analysresultat vid sju kliniska manifestationer av borreliainfektion, enligt Stanek och medarbetare (2011), Mygland och medarbetare (2010) samt EUCALB (2012), modifierad av utredarna.

Klinisk manifestation	Primär (engelska: essential) laboratoriediagnostik	Stödjande (engelska: supporting) diagnostik
Erytema migrans (EM)	Ingen.	Odling/PCR ¹ från hudbiopsi.
Lymfocytom	Serologi: Serokonversion eller enstaka positiv serologi ² . Histopatologi: Undersökning av biopsi i oklara fall.	Odling/PCR ¹ från hudbiopsi. Koppling till aktuellt fästingbett eller EM.
Neuroborrelios (NB)	Serologi (serum+csv) och differentialräkning av celler i csv: Pleocytos och intratekal produktion av specifika antikroppar.	Odling/PCR ¹ från csv. Påvisande av CXCL13: Förhöjd nivå CXCL13 i csv ³ . Serologi: Specifika serumantikroppar ⁴ . Förhöjt total-IgM index. Koppling till aktuellt fästingbett eller EM.
Kronisk akrodermatit (ACA)	Serologi: Enstaka starkt positiv serologi, kompletterad med WB (två eller flera specifika IgG-band).	Histopatologi. Odling/PCR ¹ från hudbiopsi.
Artrit	Serologi: Enstaka (starkt) positiv serologi, kompletterad med WB (två eller flera specifika IgG-band).	Odling/PCR ¹ från synovia eller ledvävnad.
Kardit	Serologi: Positiv serologi.	Odling/PCR ¹ från myokardbiopsi. Koppling till aktuellt fästingbett eller EM.
Ögonmanifestation (kopplad till andra BI-manifestationer)	Serologi: Positiv serologi.	Odling/PCR ¹ från ögonmaterial.

¹ PCR utförs på ett fåtal laboratorier i Sverige och odling utförs inte alls. Metoderna är alltså bara aktuella i utvalda fall.

² Begreppet positiv serologi avser att ett serologiskt stöd ges för diagnosen genom att specifika antikroppar (IgM eller IgG) påvisas med den metod som har valts. I några länder i Europa, Sverige är ett av undantagen, rekommenderas en verifiering av den initiala serologiska screeninganalysen med immunoblot (WB) för att om möjligt få högre specificitet för antikroppspåvisningen. Utredningen föreslår WB enbart för ACA- och artritdiagnostiken (Tjernberg, avhandling 2011).

³ Utredarna föreslår att CXCL13 påvisas för tidig diagnostik av NB, innan ett specifikt antikroppssvar kan påvisas i csv (Tjernberg och medarbetare, 2011, Sillampää och medarbetare, 2013).

⁴ Beroende på den metod som har valts för att påvisa serumantikroppar, talar ett negativt resultat vid symptom som varar längre än 30–42 dagar starkt emot aktuell NB hos patienter äldre än 12 år. (Tjernberg och medarbetare, 2008, Hansen och Lebech, 1991).

Sammanfattning: De publicerade förslagen presenterar rekommendationer för laboratoriediagnostik vid olika manifestationer av BI för framtida falldefinitioner inom EU.

Översikt av metoder för laboratoriediagnostik av borreliainfektion

I det enskilda fallet ska diagnostik av BI primärt baseras på den kliniska bilden och en bedömning av sannolikheten för fästingbett (Stanek och medarbetare, 2011).

Ingen riktad laboratoriediagnostik rekommenderas för EM som i princip är en klinisk diagnos (Stanek och medarbetare 2011, EUCALB 2012), men i vissa oklara fall kan prov för odling/PCR på material från hudbiopsi övervägas. I samtliga nationella rekommendationer som har granskats finns en principiell samstämmighet om detta. Bland differentialdiagnostiska överväganden märks bettreaktion (inträffar tidsmässigt i nära anslutning till bittet och antibiotikabehandlas inte), kontaktallergier, svampinfektioner, erysipelas (vid homogen rodnad) och granuloma annulare (okänd etiologi).

Serologi. Som bas för BI-diagnostiken (alla stadier utom EM), rekommenderas inom EU en indirekt infektionsdiagnostik som går ut på att påvisa specifika antikroppar mot Bb, i serum eller csv (Stanek och medarbetare 2011, EUCALB 2012). För laboratoriediagnostik av NB är rekommendationen att serologiskt påvisa att antikroppar har producerats intratekalt genom att analysera prov från csv och blod från ett och samma provtagningsstillfälle.

Det är känt att Bb har en omfattande uppsättning av immunologiskt relevanta antigener (Hunfeldt och medarbetare, 1999) och att immunsystemet successivt svarar med att producera specifika antikroppar. Vid ett tidigt immunsvår förekommer påvisbara antikroppar som är riktade mot Bb-flagellprotein och membranassocierat antigen, OspC och VlsE. I vissa test användes VlsE:s invariabla region, även benämnd C6-peptid. Även om variationer är vanliga, följer gradvis ett senare immunsvår med antikroppar riktade mot bakteriella antigen p39, p41, p58 och senare också p83/100, p43, p30, p21, p14 och Osp17 (Hunfeldt och medarbetare, 1999, Dessau och medarbetare 2010). De serologiska testerna som rekommenderas är huvudsakligen kommersiella enzyme-linked immunoassays (ELISA-tester) med vilka det går att påvisa antikroppar av IgG och IgM-klass. Den första generationens ELISA-tester för borreliadiagnostik använde ultrasonikat av hela bakterier som testantigen. Den andra generationens ELISA-tester använder kombinationer av renad flagellantigen, OspC, p100, p18 och p41, medan den tredje generationens använder rekombinanta antigen. Avsikten med de senare generationernas tester är att nå högre sensitivitet och specificitet än med den första generationens tester (Aguero-Rosenfeldt och medarbetare, 2005, Wilske, 2005).

Luminexbaserade tester som utnyttjar en panel av rekombinanta antigen finns också kommersiellt tillgängliga. Förutsättningarna att tolka det tidsmässiga förloppet av svar mot olika antigen är samma som för WB, men möjligheterna att reproducera kvantifieringen är bättre.

Ett problem med att låta enbart antikroppspåvisning vara hörnstenen i laborierediagnostiken av BI är att det i det enskilda provet inte går att skilja mellan förekomsten av antikroppar mot Bb i en pågående infektion och kvarvarande antikroppar från en tidigare genomgången asymptomatisk eller symptomatisk infektion eftersom antikroppar kan kvarstå i årtal efter en genomgången infektion (Hammers-Berggren och medarbetare, 1994, Stanek och medarbetare, 2011). Detta medför också att behandlingseffekten inte kan följas serologiskt. På ECCMID-mötet i maj 2011 redogjorde Ram Dessau för arbetet med att ta fram en metod som kan påvisa signifikanta titerförändringar i repetitiva serumprover och som baseras på kliniska kriterier (Dessau 2011). I studien testades med standardiserad antikroppsscreening (ELISA) 22 342 prov från 18 193 patienter och på 2 779 av patienterna togs ytterligare prov med 0–3 000 dagars mellanrum. Det konstaterades att titerförändringar inte kunde påvisas för IgG i 90 procent och för IgM i 82 procent av fallen, vilket innebär att det ofta inte är motiverat att begära nya prov om den initiala screeningen har utfallit positivt.

I rekommendationerna (Stanek och medarbetare 2011, EUCALB 2012) understryks behovet av att göra en noggrann anamnestisk och klinisk utvärdering som visar på en möjlig BI-diagnos och som kan tolkas tillsammans med resultatet av en serologisk undersökning. Enligt undersökningar av populationer inom EU, förekommer anti-borrelia antikroppar (framför allt av IgG-klass) hos 4–20 procent av dem som är friska (Mygland och medarbetare, 2006, Tjernberg och medarbetare, 2007). Detta innebär att det positiva prediktiva värdet för borreliaserologi blir lågt när det finns en misstanke om BI är liten, som exempelvis vid en utredning om en eventuell subklinisk infektion eller vid ospecifika symptom som inte är kopplade till tidigare BI. Ett annat problem för diagnostiken av tidiga stadier av BI är att specifika antikroppar uppträder med en fördröjning på upp till några veckor efter symptomdebuten. Tidig antibiotikabehandling av BI kan också medföra att antikroppssvar helt uteblir. Vid EM utvecklas inga påvisbara antikroppar ens på sikt i cirka 50 procent av fallen. EUCALB (<http://www.EUCALB.com/>) uttrycker den officiella inställningen att å ena sidan negativ serologi inte utesluter BI i tidigt skede, men också att å andra sidan förekomsten av antikroppar inte verifierar sjukdomen vid oklar symptomatologi.

Floran av de olika kommersiella ELISA-tester som finns tillgängliga, med olika antigenkombinationer och olika fokus på Ig-klasser, innebär en brist på standardisering och riskerar också att försvåra tolkningar av resultaten, framställningen av enhetliga rekommendationer och jämförelser mellan olika laboratorier. Som exempel kan nämnas en rapport av Marangoni och medarbetare (2008) som redovisar serologiska resultat för patienter med EM. Resultaten i rapporten bygger på olika Vlse-baserade tester som alla uppvisar olika känslighet och specificitet. I en nyligen publicerad studie som jämför olika ELISA-kit och WB-kit, pekar Busson och medarbetare (2012) på specificitetsproblem för framför allt IgM.

I EQUALIS program finns ett årligt panelutskick för serologisk diagnostik av BI utom NB. Testet omfattar fyra kliniska prover med anamnestiska uppgifter och fördefinierade bedömningsalternativ. Slutsatsen från 2012 års panelutskick, med 39

deltagande laboratorier som använder ELISA-tester från sex olika leverantörer och ett egentillverkat test, var att överensstämmelsen var relativt god mellan de laboratorier som använder samma kit, medan det var tydliga variationer mellan fabriken (EQUALIS; Borreliaantikroppar 2012-18/1-4). Generellt var valet av fördefinierat bedömningsalternativ korrekt, sett till de olika anamneserna och testresultaten. Det är viktigt att laboratoriet bifogar en tolkning av det serologiska resultatet eftersom många kliniker är osäkra på hur de ska tolka de serologiska laboratoriesvaren. Det finns paneler för serologisk diagnostik av NB (Instand, Tyskland) men de används endast av enstaka laboratorier i Sverige.

Problem som förtjänar att uppmärksammas är en korsreaktivitet av antikroppar vilket leder till en risk för en falsk positiv borreliaserologi, något som förekommer vid tillstånd som inte är relaterade till BI. Hit hör Epstein-Barr virusinfektion (mononukleos eller körtelfeber), cytomegalovirus (CMV), reumatoid artrit, syfilis och anaplasma (EUCALB 2012). Detta innebär att antikroppar som påvisas hos friska personer eller personer med ospecifika symptom inte kan hänföras till vare sig en aktuell eller tidigare genomgången borreliainfektion eftersom de kan vara ett uttryck för en annan aktuell eller tidigare genomgången sjukdom. Valideringen av kommersiella serologiska tester på det enskilda laboratoriet bör omfatta en utvärdering av korsreaktivitet mot syfilis, EBV, CMV och reumatoid faktor (falskt positiv IgM-reaktion, EUCALB 2012).

Sammanfattning: Primärt ska diagnostik av BI alltid baseras på den kliniska bilden och en bedömning av sannolikheten för ett fästingbett i det enskilda fallet. Serologisk diagnostik ska endast utföras i de fall de kliniska manifestationerna talar för BI. Om serologi utförs enligt rekommenderade indikationer ger den ett gott stöd för diagnosen, framför allt vid utdragna förlopp som artrit och ACA. Serologi förknippas med ett antal problem: det är ofta svårt att skilja mellan aktuell och genomgången infektion och seroprevalens i den vuxna, friska befolkningen är hög. BI i ett tidigt skede kan vara seronegativ. Kommersiella tester är inte standardiserade, ger ofta olika testresultat och åtföljande tolkningssvårigheter. Upprepad provtagning är enbart motiverad i vissa fall och tillför ofta mycket litet information. Korsreaktivitet är vanligt. Utredarnas förslag för laboratediagnostik av BI framgår i **tabell 1**.

Verifiering med Western Blot (WB). I USA (CDC 1995) och i flera Europeiska rekommendationer anges att ett positivt eller oklart resultat i den första ELISA-screeningen bör konfirmeras med ett andra test, immunoblot med Western blot-teknik (WB, Wilske, 2005, Stanek och medarbetare, 2011, EUCALB 2012). Förfarandet betecknas "tvåstegsstrategi". Tolkningskriterierna för WB-resultatet varierar något mellan USA och Europa, beroende på förekomsten av olika genospecies som orsakar BI (Wilske, 2005). Den allmänna uppfattningen är att ett prov som är ELISA-negativt men WB-positivt ska betraktas som antikroppsnegativt (Johnson och medarbetare 1996, Wilske och medarbetare, 2007). Det finns ett antal fabrikat med separata WB tester för IgG och IgM. De består i princip av borreliaantigen som har fördelats efter molekylvikt i ett membran av nitrocellulosa eller [polyvinylidendifluorid](#). Antikroppar i provet reagerar sedan med antigenen. De framträder som synliga band via ett

framkallningssteg med sekundära antikroppar som är länkade till [enzym](#). WB-kiten innehåller i princip samma antigener som första eller andra generationens ELISA med hög eller oklar specificitet. Av dessa är ett fåtal högspecifika för borrelia: OspC från olika borrelia-genospecies och p39. Dessa är, tillsammans med några andra antigen, lämpade som tidiga markörer för IgM medan andra, som p58 och p100, är mer lämpade att följa IgG-svaret (Robertson och medarbetare, 2000). I vissa fall har WB-test för IgG kompletterats med rekombinant VlsE för att öka både känslighet och möjligheten att detektera ett tidigt IgG-svar. Flagellantigen (p41) är mindre specifikt för Bb och korsreagerar med andra spiroketer.

Varje fabrikat bifogar egna tolkningsmallar men förslag till europeiska tolkningskriterier har publicerats av bland andra Robertson och medarbetare (2000). WB-verifiering är inte oberoende av den initiala ELISA-testen, utan båda kan exempelvis ge ett falskt positivt svar för ett och samma prov. En tvåstegsstrategi (ELISA-screening + WB) är ett sätt att höja specificiteten i antikroppstestningen, samtidigt som sensitiviteten i viss mån sänks. Utvärderingen av strategin gjordes för den första generationens ELISA-kit (Johnson och medarbetare 1996). Utvecklingen av mer specifika ELISA-test, med en noggrannhet på över 95 procent för att påvisa specifika antikroppar mot Bb, har inneburit att denna strategi ifrågasätts. Enligt en undersökning av Dessau och medarbetare (2011) använder endast 16 laboratorier av 43 tillfrågade i de nordiska länderna tvåstegsstrategi. I en studie konstaterades att resultatet av primärscreeningen med ELISA visserligen modifierades i vissa fall på grund av resultatet av WB-testningen, men att den kliniska hanteringen inte påverkades av detta (Blaauw och medarbetare, 1999). Kostnadseffektiviteten med tvåstegsstrategin har ifrågasatts i svenska rekommendationer (Läkemedelsverket 2009). WB kan ha ett mervärde vid diagnostik av artrit och ACA. Avsaknaden av ett svar mot multipla antikroppar mot olika borreliaantigen vid positiv IgG-ELISA innebär i de fallen att dessa diagnoser kan avfärdas som osannolika (Tjernberg, 2011, avhandling).

Det tyska borreliasällskapet (Deutsche Borreliose-Gesellschaft, 2010), som är en oberoende intresseförening, anser att all serologisk diagnostik av BI måste göras med WB eftersom man endast då kan bedöma antikroppsprofilens specificitet. Trots de nya specifika primärscreeningstesterna som använder rekombinanta antigen som Vlse eller C6-peptid, anser man också att man med enbart ELISA riskerar upp till 15 procent falska negativa prover. Mot detta synsätt argumenteras (Weinstein, 2008) att problemet med immunoblottester är att det finns stor risk att resultatet övertolkas. Metoden är semikvantitativ, vilket innebär att det ofta förekommer även svagt synliga band med subjektiv gränsdragning. Det finns en särskild risk vid tolkningen av IgM-band, bland annat vid tolkningskriterier enligt ILADS, där minimikriterier anges för positiv WB till synliga band för p41 (flagellantigen) och ytterligare ett specifikt band (Burrascano 2008). IgM-WB anses lämpligast att använda vid tidig BI när det är störst sannolikhet att positiv IgM-WB är sant positiv (Steere och medarbetare, 2008). Jämförande studier, exempelvis av Mogilyansky och medarbetare (2004), har jämfört tredje generationens ELISA (C6-peptid) med WB. Det var samstämmiga resultat av IgG-WB med C6-ELISA, medan

specificiteten för IgM-WB varierade mellan de tre fabrikaten som ingick i studien. Författarna argumenterar för att WB inte är nödvändigt för att verifiera ett positivt ELISA-resultat. Analogt med detta rapporterade Seriburi och medarbetare (2012) att vid en retrospektiv uppföljning av 182 patienter som fått antibiotikabehandling för borreliainfektion som diagnostiserats via immunoblottestning, hade 50 (27,5 procent) falskt positiv IgM-immunoblot. Författarna anser att IgM-WB inte alls bör användas för diagnostik av BI. Weinstein (2008) drar slutsatsen att det inte räcker med enbart ett positivt IgG-WB-resultat för att diagnosticera en pågående infektion eftersom resultatet kan spegla en tidigare symptomatisk eller asymptomatisk infektion med Bb.

Ang och medarbetare (2011) jämförde 8 olika ELISA-tester ur de tre generationerna, inklusive C6-ELISA, mot 89 patienter och 5 olika immunoblottester på 31 av patienterna. Resultaten tolkades enligt fabrikanternas anvisningar. Seropositiviteten i ELISA-testerna varierade mellan 34 och 59 procent och endast 18 procent var positiva i alla testerna. Skillnaderna kunde inte korreleras till testernas antigen. Resultatet med immunoblottesterna visade ännu sämre överensstämmelse än ELISA-testerna. Man konstaterade att prov som tagits från patienter som varit sjuka en kortare tid, oftare var positiva med ELISA-test än med immunoblot. Man såg också att några immunobloter uppvisade ett positivt resultat oavsett antigen, medan ELISA-resultaten var negativa. Författarna drog slutsatsen att idag går det inte att identifiera den enskilt bästa testkombinationen när det gäller ELISA-immunoblot.

Sammanfattning: Metodiken för en initial screening med ELISA och verifierande immunoblot granskas för närvarande av RIVM. Immunoblot kan vara särskilt värdefull som ett komplement till primär serologi vid artrit och ACA. Utredarnas förslag återfinns i **tabell 1**.

Laboratoriediagnostik av neuroborrelios. För diagnostik av NB tas samtidigt ett prov från ryggmärgsvätskan och serum för beräkning av intratekal produktion av specifika anti-borreliantikroppar. Enligt Dessau och medarbetare (2010) kan antikroppsproduktion i serum (IgM+IgG) dessutom påvisas i upp till 80 procent av patienterna inom två veckor från symptomdebut, och när sjukdomen har varat i över sex veckor hos 100 procent i ett flagellinbaserat ELISA-test. På motsvarande sätt har Tjernberg och medarbetare (2008) visat 93 procent seropositivitet efter fyra veckor med C6-ELISA. Index talade för att intratekal produktion av specifika antikroppar har ett högt prediktivt värde för NB i ett tidigt skede. Vid slutet av den andra sjukdomsveckan kan den typen av antikroppar påvisas i 85 procent av fallen. Vid obehandlad NB kan sådan antikroppsproduktion påvisas hos alla patienter efter 8–10 veckor och kvarstå i upp till flera år.

Ett antal metoder kan användas för att indirekt, via algoritmer, påvisa en intratekal produktion av antikroppar. Förekommer sådana antikroppar är det tecken på en pågående eller genomgången infektion i CNS (Mygland och medarbetare, 2010). Prov från csv och serum som har tagits vid samma tillfälle undersöks samtidigt avseende förekomst av specifika antikroppar och resultatet uttrycks som ett index. En jämförelse mellan mängden specifika antikroppar i csv och serum kan endast

göras om samma mängd immunglobulin från csv och serum analyseras. De här metoderna används dock sällan på mikrobiologiska laboratorier, utan i stället används ELISA-baserade tester. Den vanligaste är *IDEIA (Lyme neuroborreliosis kit, Oxoid Limited, UK)* som använder captureteknik för att analysera hur stor andel av respektive Ig-isotyp från csv respektive serum som är specifik. Med metoden går det att påvisa antikroppar mot flagellantigen. Reiber och medarbetare (Reiber och Lange, 1991, Reiber och Peter, 2001) har föreslagit en annan metod som används på vissa laboratorier. Med den metoden, som är ELISA-baserad, korrigeras med hjälp av totalkoncentrationer av referensmolekyler som Ig eller albumin i serum och csv för läckage i blod-hjärnbarriären. Andra metoder med korrektionsfaktor för blod-hjärnbarriärskada har också publicerats. De har jämförts och befunnits rimligt likvärdiga (Kaiser och Lücking, 1993). Ett ytterligare sätt att direkt påvisa en intratekal antikroppsproduktion är att jämföra serum och csv med isoelektrisk fokusering. Då kan IgG-band som är unika för csv påvisas, men däremot kan deras specificitet inte avgöras. Metodiken är användbar för differentialdiagnostik av andra kroniska CNS-tillstånd som till exempel multipel skleros (MS).

Alternativ till dessa tester har föreslagits, exempelvis antigendetektion i csv och detektion av dissocierade, bundna immunkomplex vid tidig NB, men det saknas ännu tillräcklig vetenskaplig evidens för att rekommendera dessa metoder (Mygland och medarbetare, 2010).

Monocytär csv-pleocytos, mer än $5 \times 10^6/L$, är ett baskriterium för diagnosen aktuell NB (EUCALB, 2012, Mygland och medarbetare, 2010, **bilaga 3c**). Dock har långvariga symptom från CNS som talar för kronisk NB, beskrivits med positivt odlingsfynd av Bb (*B. afzelii*) från csv, men utan pleocytos eller en påvisbar intratekal produktion av specifika antikroppar (Strle och medarbetare, 2006). Trots att man i detta fall kan påvisa intratekalt viabla bakterier, uppfylls inte kriterierna för säkerställd NB enligt de föreslagna falldefinitionerna. Författarna argumenterar för att *B. afzelii*-spiroketer kan ha förmågan att penetrera blod-hjärnbarriären, men att de sällan förmår inducera inflammation i CNS. Enligt samma författare är *B. garinii* nästan alltid associerad med akuta kliniska symptom på NB med pleocytos och intratekal antikroppsproduktion.

Monocytär csv-pleocytos och intratekal antikroppsproduktion förekommer också vid MS. I regel är dock pleocytosen vid MS mindre uttalad än vid NB, antikroppsproduktionen ses bäst med isoelektrisk fokusering som oligoklonala IgG-band (2-<10 band, Schmutzhard, 2002). Den senare metoden kan vara av värde vid differentialdiagnostik mellan MS och kronisk, progressiv borreliaencefalit. Möjligheten att MS orsakas av Bb har studerats men inte verifierats (Schmutzhard, 2002).

Beträffande odling, molekylärbiologiska metoder, påvisande av CXCL13, CD57⁺, lymfocyttransformations tester, påvisande av atypiska Bb-former, samt mörkfältsmikroskopi för diagnostik av NB: se under respektive rubrik nedan.

Sammanfattning: Samtliga nationella rekommendationer, liksom Mygland och medarbetare (2010), förespråkar ett positivt csv/serumindex av specifika

antikroppar för att diagnosticera NB, varvid en pågående infektion styrks genom förekomsten av csv-pleocytos. Odling eller PCR kan vara stödjande vid tidig NB (Mygland och medarbetare, 2010). Se utredarnas förslag i **tabell 1**.

Tolkningskriterier för borreliaserologi. Laboratoriet bör eftersträva att svaret till klinikerna ger ett adekvat kliniskt stöd, vilket även innefattar utbildning av kund och kommentar som hjälper kunden att tolka resultatet. En serologisk undersökning för borreliainfektion, oavsett vilken metodik som har valts, kan endast tolkas under förutsättningen att provet har tagits med en adekvat frågeställning (definieras i **tabell 2**). Klinikerna bör uppmuntras att ange en tydlig frågeställning på remissen. Eftersom en betydande andel av befolkningen har antikroppar mot borrelia utan att det finns någon koppling till en aktuell infektion (se ovan under serologi), finns det ingen indikation för en borreliascreen utan en riktad frågeställning. Om provet baseras på en ospecifik symptomatologi där misstanken om borreliainfektion är svag, är det positiva prediktiva värdet mycket lågt.

Det ska observeras att erytema migrans är en klinisk diagnos och att endast cirka hälften av patienterna serokonverterar i samband med okomplicerat EM. Borreliaartrit karaktäriseras ofta av recidiverande artrit i en större led, exempelvis ett knä. Vid artrit i små leder, symmetriska artrit och diffus, kronisk ledvärk, är borreliaetiologi osannolik. Om det finns anamnes på fästingbett eller en rimligt stark misstanke om fästingexponering med influensaliknande allmänsymptom som feber, muskel- eller ledvärk, med eller utan leverpåverkan, trombocytopeni, EM eller blåxantem, kan behandlingen med fördel anpassas så den täcker både en borreliainfektion och anaplasmos (doxycyklin 200 mg/dag i 14 dagar).

Vid misstänkt NB bör serologi tolkas tillsammans med kliniska uppgifter och resultatet av en differentialräkning av celler i csv. Intratekal produktion av specifika IgM- eller IgG-antikroppar med samtidig csv-pleocytos talar för en aktuell NB. En förhöjning av total-IgM-index ger ytterligare stöd för diagnosen. Avsaknaden av påvisbara antikroppar vid samtidig csv-pleocytos kan vara tecken på NB i ett tidigt skede, men andra diagnoser bör övervägas. Alternativa diagnostiska metoder för NB kan användas om en klinisk misstanke om NB kvarstår (**tabell 1**). I den situationen talar en förhöjd csv-CXCL13 för diagnosen tidig NB.

Förekomsten av intratekalt producerade specifika antikroppar (i första hand IgG), utan samtidig csv-pleocytos, är kopplad till en tidigare genomgången NB. Om det förekommer neurologiska symptom när csv-pleocytos saknas bör differentialdiagnoser alltid övervägas, även om det finns en intratekal specifik antikropsproduktion.

Tabell 2. Bedömningsalternativ för tolkning av serologiska resultatprofiler i serum¹⁾

Klinisk frågeställning	Serumantikroppar påvisade ²⁾	Serumantikroppar ej påvisade eller ej konfirmerade
Neuroborrelios	Antikroppar IgM/IgG påvisade, vilket är förenligt med en aktuell eller tidigare genomgången borreliainfektion. Provtagning av serum och csv vid samma tillfälle rekommenderas.	Inga antikroppar mot borrelia påvisade. Detta talar mot neuroborrelios vid symptom som varat längre än 30–42 dagar hos patienter över 12 år. I andra fall rekommenderas att serum- och csv-provtagning sker samtidigt.
Kronisk akrodermatit (ACA) / Borreliaartrit	Antikroppar av klass IgG påvisade, vilket är förenligt med akrodermatit/borreliaartrit och/eller tidigare exponering. Antikroppar mot borrelia av klass IgM påvisade i immunoblot. Detta är ett ovanligt mönster vid en sen eller spridd borreliainfektion.	Inga antikroppar mot borrelia påvisade, vilket talar mot akrodermatit/borreliaartrit Antikroppar mot borrelia påvisade i screeningtest men konfirmationstestet (immunoblot) är negativt. Detta talar mot akrodermatit/borreliaartrit
Borrelialymfocytom/Borreliakardit	Antikroppar IgM/IgG påvisade, vilket är förenligt med borrelialymfocytom/borreliakardit, men även med tidigare exponering. Antikroppar mot borrelia av klass IgM påvisade i immunoblot, vilket möjligen är förenligt med borrelialymfocytom/borreliakardit . Om provet har tagits tidigt i sjukdomsförloppet kan det vara av värde att ta ett nytt prov om 4–6 veckor.	Inga antikroppar mot borrelia påvisade. Om provet har tagits tidigt i sjukdomsförloppet kan det vara av värde att ta ett nytt prov om 4–6 veckor. Antikroppar mot borrelia påvisade i screeningtest men konfirmationstestet (immunoblot) är negativt. Bilden tillåter ingen säker bedömning. Om provet har tagits tidigt i sjukdomsförloppet kan det vara av värde att ta ett nytt prov om 4–6 veckor.

¹⁾ De föreslagna tolkningskriterierna förutsätter att provet är taget vid en korrekt indikation, det vill säga för att stödja diagnostiken vid misstanke om någon av de kliniska manifestationerna borrelialymfocytom, ACA, borreliaartrit, borreliakardit eller neuroborrelios. ²⁾ För diagnostiken av ACA och borreliaartrit anges i tabellen också resultatet av det konfirmerande immunoblot (Western blot) som utförts. Motsvarande kommentar ges också för borrelialymfocytom/borreliakardit.

Odling. En systematisk sökning på abstracts gav 598 träffar. Bb är en långsamväxande bakterie. Eftersom den inte kan syntetisera byggstenar som aminosyror, fettsyror eller nukleotider kräver den ett specialmedium för laboratoriekultur (Samuels och Radolf, 2010). Vanligen används Barbour-Stoenner-Kelly II (BSK II) som odlingsmedium. Inkubering sker i 30–34 °C i mikroaerofil eller anaerob miljö. I den senare miljön förbättras bakterieväxten markant på fasta BSK-medier (De Martino och medarbetare, 2006). Tillväxthastigheten är så pass långsam, med en generationstid på 7–20 timmar, att inkuberingen lämpligen bör pågå i upp till 12 veckor innan en odling betraktas som negativ för Bb (Aguero-Rosenfeld och medarbetare, 2005). Traditionellt påvisas spiroketer i odlingsmediet med mörkfältsmikroskopi, men på senare tid används också PCR. Generellt sett är det lämpligt att verifiera ett positivt mikroskopifynd med PCR för att korrigera för en subjektiv tolkning av fynden (Mygland och medarbetare, 2010). Lämpliga odlingsmaterial är biopsier från EM, ACA, leder och hjärtvävnad, liksom csv, ledvätska och blod (Aguero-Rosenfeld och medarbetare, 2005). Känsligheten för odlingar är låg, från mindre än 1 till cirka 70–80 procent, beroende på provmaterial, provtagningstillfälle och infektionstyp. Odlingspåvisning från ledvätska har lägst känslighet och från EM och ACA högst. Odlingar från csv vid tidig NB har en känslighet på cirka 10–17 procent. Odlingar från blod, synovialvätska eller hjärtvävnad rekommenderas inte på grund av metodens låga känslighet (Stanek och medarbetare, 2011). Det har emellertid visat sig att det går att öka känsligheten vid odling från blod om man istället odlar plasmafraktionen av provet och ökar volymen upp till 9 ml (Wormser och medarbetare, 2001). Känsligheten kan ökas och detektionstiden förkortas ytterligare genom direktpåvisning av spiroketer i odlingsmediet med kvantitativ PCR (Liveris och medarbetare, 2011). I normalfallet påvisas levande spiroketer i odlingsmediet med mörkfältsmikroskopi efter 2–12 veckors inkubering. Med PCR kan 90 procent av de odlingspositiva proven påvisas redan inom en vecka från provsättningen. Med den här metoden ökade känsligheten från 45 procent till drygt 70 procent på blodprov från EM-patienter (Liveris och medarbetare, 2011). Liknande resultat har uppnåtts av Sapi och medarbetare (2013). De modifierade BSK-mediet genom att tillsätta kollagenmatrix för långtidsinkubering och påvisande av spiroketer med polyklonala antikroppar och PCR.

I en rapport framför Phillips och medarbetare (1998) hypotesen att PLDS orsakas av persisterande spiroketer i blod. Gruppen fann levande Bb i blodprov hos 43 av 47 patienter som fått en långvarig antibiotikabehandling för kronisk BI/PLDS. Bakterierna påvisades med ett nytt odlingsmedium (MPM) som utvecklats av gruppen. Emellertid visade Marques och medarbetare (2000), verifierat av Tilton och medarbetare (2001), att MPM inte var bättre än det traditionella BSK. I de två sistnämnda studierna lyckades man inte påvisa viabla spiroketer i blod från någon av 10 respektive 25 patienter med PLDS. Det visade sig också att MPM var toxiskt för de inkluderade kontrollstammarna som inom några dagar blev icke-viabla. Mot Phillips slutsatser talar också andra arbeten, vilka har sammanfattats av Feder och medarbetare (2007). Eftersom Bb inte kunde påvisas i två stora studier (Klempner och medarbetare, 2001, Klempner, 2002) som omfattade 843 prover från blod eller csv, varken genom odling eller med PCR, drar författarna slutsatsen att det är högst

osannolikt att PLDS orsakas av en ockult infektion i det centrala nervsystemet. Enligt de senare studierna kan det också förmodas att varken odling eller PCR är lämpliga metoder för att påvisa en sådan hypotetisk infektion vid PLDS.

Sammanfattning: På grund av sin höga specificitet anges visserligen odling med BSK-medium som ”gold standard” för att påvisa en pågående borreliainfektion vid BI, men metodiken är arbets- och tidskrävande och har dessutom en suboptimal känslighet. Idag anses den därför mindre lämpad att ingå i rutinen för primärdiagnostik av BI, men den kan komma i fråga som ett komplement för att stödja diagnosen i oklara fall (ESGBOR:s websida EUCALB (<http://www.EUCALB.com/>, Stanek och medarbetare, 2011) inklusive NB (Mygland och medarbetare, 2010). I Sverige rekommenderas inte odling för något av de kliniska stadierna av BI (Läkemedelsverket, 2009) och det utförs inte heller på något svenska diagnostiskt laboratorium. Utredarnas förslag presenteras i **tabell 1**.

Molekylärbiologiska metoder. En systematisk sökning på abstracts gav 702 träffar. Med PCR-metodik kan specifika DNA-sekvenser hos *Bb* påvisas direkt i ett kliniskt prov och ge starkt stöd för diagnosen. Känsligheten med metoden motsvarar ungefär den för odling, med undantag för prov från leder där känsligheten kan nå upp till cirka 90 procent (Jaulhac och medarbetare 1996, Wilske och medarbetare, 2007). Målgener för PCR-amplifiering är den plasmidburna *ospA*-genen och kromosomal gen för 16S rRNA (Aguero-Rosenfeld och medarbetare, 2005). Metodens känslighet är låg, cirka 15 procent för blod och upp till 40 procent i csv vid tidig NB. Den är väsentligt lägre vid långvarig och kronisk NB, men med nära 100 procent specificitet. I en metaanalys av publicerade resultat med PCR-diagnostik av hudbiopsier vid EM varierade känsligheten mellan 59–84 procent, med ett medelvärde på 68 procent. Specificiteten bedömdes vara 100 procent (Dumler, 2001). Skälet till den låga känsligheten i olika provmaterial är oklart och kan ha olika förklaringar: att spiroketer sällan förekommer i blod och csv eller att det finns PCR-inhibitorer i proven (Aguero-Rosenfeld och medarbetare, 2005). Motsägande resultat i olika studier av urin-PCR har medfört att metoden inte rekommenderas som rutin för sådana prov (Stanek och medarbetare 2011, Feder och medarbetare, 2007). Bayer och medarbetare (1996) rapporterade att man med PCR påvisat DNA i urinprov från 71 av 97 patienter med PLDS. Möjligen fanns det specificitetsproblem (att amplikonen inte var sekvenserad) eftersom andra studier visar att mindre än 10 procent av urinproven är positiva hos patienter med en aktiv borreliainfektion (EM, Rauter och medarbetare, 2005). I en översiktsartikel (Nolte, 2012) framhålls att ingen kommersiell CE-märkt produkt för PCR-analys av borreliainfektion finns tillgänglig. Detta innebär att de laboratorier som utför PCR använder metoder som påvisar olika målgener och har olika valideringsgrunder. Det finns en risk för falskt positiva resultat på grund av att analyspecificiteten är otillräckligt definierad. Extraktionsprocessen är inte heller enhetligt definierad. Sammantaget medför detta att det inte säkert går att tolka resultaten av PCR-undersökningar för borrelia. Författaren anser att det finns ett stort behov av standardisering, eftersom antalet patienter som diagnosticeras med en borreliainfektion ökar.

Sammanfattning: Endast ett fåtal laboratorier i Sverige erbjuder sig att påvisa Bb med PCR och metodiken rekommenderas endast som stödjande vid diagnos av borreliartrit (Läkemedelsverket 2009). På ESGBOR:s webbsida EUCALB (<http://www.EUCALB.com/>) framhålls att det finns specifika och känsliga PCR-metoder som kan identifiera olika genospecies av Bb. PCR kan användas som stöd vid diagnostik av olika stadier av BI, exempelvis BI-artrit, EM eller ACA (Stanek och medarbetare 2011) inklusive NB (Mygland och medarbetare, 2010). Vid diagnostik av NB kan PCR vara särskilt användbar vid immunbristtillstånd, men metoden lämpar sig inte för diagnostik av kronisk NB eller för uppföljning efter behandling. Se **tabell 1** för utredarnas förslag.

Histopatologi. En systematisk sökning gav träffar i 44 abstracts. Histopatologin vid BI beskrivs översiktligt på bland annat franska av Moquelet (2007) och på engelska av de Konig, J., Duray, P.H. Aspects of Lyme borreliosis, Springer Verlag 1993. Chapter 6. Histopathology of human Lyme borreliosis.) Tidigt i förloppet efter fästingbettet uppstår ödem och infiltrat av inflammatoriska celler i området. Förekomsten av plasmaceller och lymfocyter bland andra celltyper i hudbiopsier anses tala för EM. Ibland kan förekomst av mundelar från fästingen stärka diagnosen EM. Diagnosen lymfocytom (pseudolymfom), som oftast lokaliseras till en örnsnibb, bröstets vårtgård eller skrotum, kan ställas histopatologiskt, men den måste vägas mot kliniska fynd för att centro-follikulärt B-cellslymfom säkert ska kunna uteslutas. Diagnosen ACA kan ställas genom förekomsten av plasmaceller, atypiskt löpande blodkärl och hudskleros. Prov från leder kan karaktäriseras av en ospecifik hyperplastisk synovit. Axonal neuropati kan påvisas vid BI-neuropati. Påvisande av Bb med immunhistokemi eller silverfärg är inte tillgängligt för rutinbruk. Spiroketer – hoprullade, krökta eller som långa stavar – kan påvisas i vävnad. Ofta är spiroketerna adhererade till kollagenfibrer, vilket möjligen kan förklara atrofin vid ACA. Sporadiskt kan de påvisas i kärlväggar eller i kärllumen. De anses inte förekomma intracellulärt (de Konig och Hoogkamp-Korstanje, 1986). Eisende och medarbetare (2007) presenterade metoden flytande fokuskopiering (**Focus Floating Microscopy**) för att påvisa Bb i hudbiopsier vid misstänkt EM. I den studien användes polyklonala anti-Bb-antikroppar som bas för den immunhistokemiska proceduren. I princip används 3–4 µm tjocka snitt som analyseras i två plan i 200–400 gångers förstoring. Antalet påvisbara Bb varierade mellan enstaka till mer än 10 per granskat område. Ofta förekom de i medusaform (koloni) med talrika spiroketer. Inom ett inflammatorisk fokus kunde degenerativa spiroketer iaktas som svullna, granulerade eller hopklumpade material. Andra har också noterat att spiroketer ofta fanns i eller runt kollagen. Bb kunde också ses i kärl, men aldrig i epitel. Författarna angav att metodens känslighet var bättre i jämförelse med samtidig PCR och hade jämförbar specificitet. Metoden är ny och har inte utvärderats när det gäller dess användbarhet för diagnostik av olika manifestationer av BI.

Sammanfattning: Prov för histologi rekommenderas som en stödjande diagnostisk åtgärd för ett differentialdiagnostiskt övervägande vid (EM), lymfocytom och ACA (Stanek och medarbetare, 2011). Det anges även som stödjande diagnos vid ACA i de svenska rekommendationerna (Läkemedelsverket 2009). Den nya metoden

flytande fokusmikroskopi har inte utvärderats när det gäller dess användbarhet för diagnostik av olika manifestationer av BI. Se **tabell 1** för utredarnas förslag.

CXCL13. En systematisk sökning gav träffar i 14 abstracts. Cytokinen C-X-C motif ligand 13 (CXCL13) hör till CXC-kemokinfamiljen och är selektivt attraherande (genom kemotaxis) för antikroppsproducerande lymfocyter av typ B-celler. Kemokinen bildas tillsammans med en kaskad av andra proinflammatoriska cytokiner av monocyter och dendritceller som inducerats av borreliaspiroketer. I csv mognar sedan B-celler till antikroppsproducerande plasmaceller som producerar specifika anti-borreliantikroppar av IgM- och IgG-klass. Rupprecht och medarbetare (2005) beskrev att CXCL 13 kunde påvisas i csv hos patienter med NB, men inte vid andra inflammatoriska eller icke inflammatoriska tillstånd i centrala nervsystemet. Trots det är CXCL13 inte en helt specifik markör för Bb, utan uppträder också vid andra infektioner som neurosyfilis och asymptomatisk hiv-infektion (Rupprecht och medarbetare, 2009, Marra och medarbetare, 2010, Bremell och medarbetare, 2013). Fortsatta studier på kliniska material talar emellertid för att CXCL13 kan vara en känslig och specifik biomarkör i csv vid tidig NB. Markören ser ut att vara högre i csv vid akut NB, kan påvisas tidigare än antikroppar och faller snabbt vid insatt antibiotikaterapi (Schmidt och medarbetare, 2011, Ljostad och Mygland, 2008, Tjernberg och medarbetare, 2011). Tjernberg och medarbetare (2011) visade att en positiv csv/serum-kvot av CXCL13 hade en känslighet på 99 procent och en specificitet på 96 procent för NB. Den kunde relateras till typisk klinik vid NB som verifierats genom pleocytos, samt senare intratekalt producerade specifika antikroppar. Detta är också i samklang med erfarenheter från Åland (Dag Nyman, personligt meddelande). Metoden skulle därmed vara lämpad för monitorering av behandlingseffekten vid NB (Borde och medarbetare, 2012) och tidig NB hos barn (Tjernberg och medarbetare, 2011, Sillanpää och medarbetare, 2013). Det är inte utrett om CXCL13 kan användas som markör vid kronisk, tidigare behandlad samt obehandlad NB eller PLDS. Detta har medfört att de tyska rekommendationerna avråder från att försöka påvisa CXCL13 i sådana fall (AWMF 2008).

CXCL13 påvisas med kommersiellt tillgänglig ELISA. Detta innebär att metodiken är relativt lättillgänglig för många laboratorier, men den används ännu inte i någon större omfattning.

Sammanfattning: Varken svenska eller övriga europeiska vägledningar rekommenderar en analys för att påvisa CXCL13, men Mygland och medarbetare (2010) skriver att CXCL13 kan vara ett stöd för NB-diagnosen. CXCL13 har uppmärksamats relativt sent och ytterligare studier bör göras för att definiera markörens roll i diagnostiken av NB. Se **tabell 1** för utredarnas förslag.

Datortomografi och magnetkamera vid NB. En systematisk sökning gav träffar i 6 abstracts. Hildebrand och medarbetare (2009) och Fallon och medarbetare (2009) rapporterade att man med datortomografi kunnat påvisa cerebral heterogent spridd hypoperfusion i vita substansen vid NB. Förändringarna kan påvisas hos cirka 70 procent av patienterna med långvariga besvär, men är inte specifika för NB. De kan också ses vid andra sjukdomar i centrala nervsystemet

som hiv- eller annan viral encefalopati, vaskuliter och hos narkotikamissbrukare. En cerebral påverkan orsakad av NB skulle vara en möjlig diagnos när andra orsaker har uteslutits. Det är oklart om metoden är specifik nog för att kunna användas för att påvisa NB hos seronegativa individer med mer ospecifika symptom..

Även med magnetkamera (magnetic resonance imaging, MRI) har man vid olika stadier av NB upptäckt punktformade förändringar som är spridda i vita substansen och är tecken på multifokal encefalit (Oksi och medarbetare, 1996). Sådana förändringar finns också vid multipel skleros, SLE och cerebrovasculära sjukdomar (Donation basket, 2011). Aalto och medarbetare (2007), konstaterade i en undersökning av patienter med verifierad kronisk NB, att magnetkamera inte kan användas för diagnostik av kronisk NB. Man iakttog visserligen ett antal förändringar i basala ganglier hos tolv av de undersökta patienterna med kronisk NB, men samma förändringar kunde iakttas också hos matchade, friska kontroller.

Sammanfattning: Det knapphändiga underlaget när det gäller datortomografi och magnetkamera som hjälpmedel vid diagnos av NB, eller som prognostisk indikator vid antibiotikabehandling, gör att metoderna inte rekommenderas i någon av de nationella rekommendationerna.

Granskning av metoder som inte rekommenderas i aktuella officiella vägledningar

I Notice to readers (MMWR 2005) konstateras att CDC och FDA har uppmärksammat att ett antal kommersiella laboratorier bedriver diagnostik av BI, i synnerhet förmodad kronisk borrelios, enligt icke accepterade definitioner och med metoder vars kliniska användbarhet inte har utvärderats. Bland dessa nämns urin-antigen test, immunfluorescensfärgning av cellväggsdefekt Bb, LTT, samt PCR på icke rekommenderade provmaterial som blod och urin. I vissa fall tolkas WB-resultat efter kriterier som inte är accepterade med risk för en felaktig diagnos. Patienterna uppmanas av MMWR att fråga sin läkare om de tester som används är godkända och validerade och om de används enligt gällande vägledningar. Stanek och medarbetare (2011), HPA (Guidelines for Diagnosis and treatment of Lyme borreliosis, 2012) samt tyska rekommendationer (AWMF 2008 och 2009) anser att följande tester inte ska användas: urinantigentester och antigenpåvisning i prov från vävnad, lymfocytstimulering (LTT), CD57⁺/CD3⁻, gråskaletest (visual contrast sensitivity test), samt mikroskopi av bloddroppe för att hitta rörliga spiroketer. Man avråder också från att använda PCR för att analysera serum-och urinprover. Dessa tester anses ha låg specificitet. Man avråder också från att använda immunoblot (WB) som ett primär test eller att tolka det utanför accepterade kriterier eftersom det har associerats med fler fall av felaktiga diagnoser. Man anser också att det saknar relevans att söka efter sfäroplaster och andra atypiska former av Bb som tecken på sjukdomsaktivitet.

Utredningen har granskat om det finns något stöd för att rekommendera de alternativa diagnostiska metoder som beskrivs ovan. Begreppet alternativa metoder avser i detta sammanhang metoder som används på vissa kliniker i Europa, men där det saknas vetenskaplig konsensus om nyttan av dessa och att de av detta skäl inte tas upp i officiella rekommendationer.

Urintantigentest. En systematisk sökning gav träffar i 2 relevanta abstracts.

Monoklonala antikroppar används för att med ELISA-metodik eller WB påvisa Bb-antigen i urinprov, enligt beskrivning av Hyde och medarbetare (1989). Antikropparna var riktade mot de Bb-specifika antigenerna OspA, OspB och flagellantigen 41 kD. Genom monoklonala antikroppar i en antigen-capture ELISA, påvisade Coyle och medarbetare (1993) antigen i csv hos patienter med långvariga symptom. Dorward och medarbetare (1991) detekterade med elektronmikroskopi (immuncapture modell) fragment av bakteriella spiroketantigen i urin.

Trots att känsligheten är låg, knappast över 30 procent, erbjuder vissa laboratorier analyser för urinantigenpåvisning och immunfluorescensfärgning för cellväggsdefekta Bb i prov från urin, ledvätska och csv. Eftersom metoderna inte anses vara vetenskapligt utvärderade har detta kritiserats (Aguero-Rosenfelt, 2005).

Douglas och medarbetare (2011) anser att det vore värdefullt om ett väl fungerande screeningstest fanns på marknaden så det gick att påvisa borreliaantigen i urin och ställa en tidig diagnos av BI. Vid BI finns i normalfallet endast mycket låga

koncentrationer antigen i urinen, vilket kan förklara den låga sensitiviteten hos befintliga tester. Författarna presenterar metoden ”hydrogel biomarker capturing microparticles” som en tänkbar kandidat för att förbättra den diagnostiska kapaciteten. Metoden påstås kunna koncentrera Bb-antigen i urin upp till 100 gånger, vilket erbjuder en känslighet för immunoassays på cirka 700 pg/mL. Författarna efterlyser kontrollerade kliniska studier för att utvärdera metodens känslighet och precision.

Sammanfattning: Urinantigentest rekommenderas för närvarande inte i någon av de nationella rekommendationerna. För att utvärdera de förbättrade metoderna efterlyses kontrollerade studier.

Påvisande av borreliainducerad cytokinsekretion. Sedan länge pågår försök att effektivisera BI-diagnostiken med att komplettera antikroppspåvisningen (ELISA+WB) och påvisa aktiviteten hos det cellbundna specifika (adaptiva) immunsystemet genom sekretion av cytokiner från lymfocyter i närvaro av borreliantigen. Olika typer av cytokiner är viktiga intercellulära mediatorer vid generering av immunsvar. De möjliga fördelarna med att använda metodik för att påvisa cytokinsekretion är att diagnosticera BI innan antikropparna har hunnit bildas och också att avgöra om infektionen är aktiv. En vanlig metod för att påvisa cytokiner (här borreliaspecifik interferon (IFN)-gamma producerat av T-lymfocyter av typ Th-1 och Th-2) på detta sätt är med ELISPOT (Czerkinsky och medarbetare, 1988). Det är i grunden en ELISA-teknik som här har anpassats för borrelia av Forsberg och medarbetare (1995). I metoden används renade yttre yttre proteiner från Bb för att trigga T-lymfocyter i färiska blodprov. Metodiken finns i Sverige men används huvudsakligen för forskningsändamål, inte i rutindiagnostiken. Zoschke och medarbetare (1991) använde Bb som antigen och fann att T-celler från individer med BI stimulerades, men även att T-celler från friska individer också ofta gjorde det. Författarna uttryckte tvivel kring metodens användbarhet för klinisk diagnostik av BI. Det finns ett antal publikationer där metoden har använts med skiftande resultat. I en nyare publikation har von Baehr och medarbetare (2012) använt lysatantigen från tre species av Bb och rekombinant OspC för ett lymfocyttransformationsstest (LTT). Författarna anger resultatet av LTT utförda på prov från 1 480 patienter och analyserade retrospektivt mot klinik och resultaten av immunoblot. De fann att serologi och LTT överensstämde i 79,8 procent av fallen. Av dessa var 18 procent seropositiva och LTT-negativa, huvudsakligen patienter som fått antibiotikaterapi. Författarna drog slutsatsen att metoden är lämplig att användas för uppföljning efter antibiotikaterapi. Valentine-Thon och medarbetare (2007) presenterade en metod, LTT-MELISA, där de använde fyra rekombinanta antigen (OspC, p41-1, p-41-2, p100). Även i den studien ansåg man att resultaten korrelerade till aktiv BI. En aktuell studie på ett definierat patientmaterial konkluderade att LTT som utfördes med de rekombinanta antigenerna p18, p100 och OspC inte kunde visa om NB var pågående eller läkt (Blocher och medarbetare, 2012).

På grund av LTT-metodikens ofta motstridiga resultat i olika studier, användningen av olika antigener och avsaknaden av standardisering, samt att ingen studie ännu har lyckats definiera diagnostisk sensitivitet och specificitet på ett

övertygande sätt (Mygland och medarbetare, 2010), är dess roll i diagnostiken av BI oklar. Metodiken ingår inte i någon av de officiella rekommendationerna inom EU eller Sverige (Läkemedelsverket 2009). Däremot rekommenderar tyska borreliasällskapet (Deutsche Borrelien-Gesellschaft 2012) att LTT-metodiken ska användas vid oklar klinik och för att monitorera behandlingseffekten. Trots att metodiken inte rekommenderas officiellt finns den kommersiellt tillgänglig som Borrelia-ELISPOT LTT.

Sammanfattning: LTT rekommenderas inte i någon av de nationella rekommendationerna för klinisk laboratoriediagnostik av någon form av BI. RIVM granskar för närvarande relevanta artiklar inom området.

CD57⁺/CD3⁻. En systematisk sökning gav träffar i två abstracts. Stricker och Winger (2001) rapporterade att kronisk BI är kopplad till ett förändrat, ospecifikt cellulärt immunförsvar. Författarna som genomfört en studie med 73 individer, konstaterade att antalet aktiverade, så kallade naturliga, mördarceller CD3⁻ och CD57⁺ minskar vid en kronisk borreliainfektion. I första hand minskar antalet CD57-celler i blod och författarna ansåg att detta var särskilt märkbart vid fall av kronisk NB. Så snart antibiotikaterapi hade satts in och haft en positiv effekt på tillståndet, rapporterades om en mätbar ökning av antalet CD57-celler. Man föreslog därför att analyser som registrerar kvoten CD57⁺/CD3⁻ eller bara antalet CD57-celler kan användas för att monitorera terapieffekten vid NB. Baserat i huvudsak på denna rapport erbjuder vissa laboratorier analys (flödescytometri) av detta.

Det har framförts varningar om att det finns en risk för över- eller feldiagnos om man förlitar sig på resultatet av en CD57⁺/CD3⁻ analys för att ställa diagnosen kronisk borreliainfektion, med erbjudande om långvarig antibiotikaterapi. I en senare studie av Marques och medarbetare (2009), som från början omfattade 30 individer men senare kompletterades med ytterligare 40 individer (Marques och medarbetare, 2009b), noterades inga onormala nivåer av CD57⁺-celler när PLDS-patienter jämfördes med friska kontrollindivider eller individer som hade behandlats framgångsrikt med antibiotika för NB. Metoden anses för närvarande inte ha någon plats i diagnostiken av NB (Mygland och medarbetare, 2010).

Sammanfattning: CD57⁺/CD3⁻ test rekommenderas inte i någon av de nationella rekommendationerna.

Gråskaletest. Visual contrast sensitivity test, VCST (inga träffar i den systematiska sökningen) testar patientens förmåga att urskilja kontraster (gråskalor) i enkla testsystem. Varianter av testerna används av ögonläkare för att diagnosticera synrubbningar, i första hand optikusneurit vid multipel skleros (MS) (<http://www.contrastsensitivity.net/faqs.html>), men också för monitorering av färgseendet vid etambutolbehandling mot tuberkulos (personligt meddelande, ögonmottagningen, Västerås lasarett). Det finns en, uppenbarligen föga underbyggd, uppfattning att Bb utsöndrar ett neurotoxin med affinitet till fett- och nervvävnad som återcirkulerar i kroppen via det enterohepatiska kretsloppet. Neurotoxinet har hittills inte påvisats, men en förmodad toxingen har varit föremål för patentansökan (Donta och medarbetare, 1998). Det eventuella toxinet antas inte

förekomma i blodet och kan därför inte påvisas med någon av dagens testmetoder. Enligt förespråkarna är toxinet en av de bidragande orsakerna till PLDS ("kronisk borreliainfektion") och svarar för symptom som dimsyn och muskelvärk (VCSCenter: <http://www.chronicneurotoxins.com/learnmore/lymedisease.cfm>). Om VCST är positivt, anser VCSC att patienten med stor sannolikhet är drabbad av en kronisk borreliainfektion. Behandling med kolestyramin (som normalt används som blodfettsänkande medel) per oralt binder till borreliatoxin i tarmen, varvid detta utsöndras och på detta sätt hindras från att återresorberas.

Det finns emellertid inga studier som bekräftar förekomsten av exotoxin hos Bb, och inte heller några studier som definierar sensitivitet och specificitet för VCST när det gäller NB. Beträffande det sistnämnda så anses det av förespråkarna befintliga lipofila neurotoxinet som angriper synnerven inte existera, varför testen inte kan användas för diagnos av NB (Wilske och Fingerle 2005). Risken finns också att vid ett positivt test bortse från möjligheten att det är MS.

Sammanfattning: Gråskaletest rekommenderas inte i någon av de nationella rekommendationerna. Däremot ska visus självfallet undersökas på sedvanligt sätt, med bland annat gråskaletest, om en patient upplever symptom från ögonen, med eller utan misstanke om NB.

Påvisande av atypiska borreliaformer. Ett antal forskargrupper argumenterar för att den gängse antibiotikabehandlingen av BI inte leder till en verklig utläkning. I stället leder behandlingen till att Bb, för att skydda sig i den fientliga miljö som uppstår av antibiotika, omvandlas till atypiska former som RB (spiroketinnehållande cystor, sfäroplaster eller L-former) och biofilmlänkande kolonier som ofta innehåller RB. Man anser sig ha belägg för att sådana atypiska bakterieformer är livskraftiga och under gynnsamma omständigheter kan utvecklas till spridningsbenägna spiroketer igen. Förespråkare anser att RB kan stanna kvar i kroppen i årtal och underhålla en inflammatorisk process med åtföljande symptom som uttrycker en kronisk borreliainfektion, snarare än PLDS. RB och biofilmen har också förmågan att utestänga antibiotika och skyddar dessutom bakterierna för verkningar av immunsystemet (Benach och Coleman, 2003, Brorson och medarbetare, 1999, 2002, 2004, 2009). Argumenten förs fram genom jämförelser med återfallsfeber (*Borrelia recurrentis*) som förlöper med asymptomatiska perioder mellan febertopparna. Man pekar också på att det inte finns något diagnostiskt test som kan användas för att definiera en mikrobiologisk end-point (bakteriefrihet) efter den gängse antibiotikabehandlingen. Även tertiär syfilis anges som exempel på möjlig årtiondelång persistens av icke påvisbara spiroketer (Benach och Coleman, 2003). Flera grupper har studerat olika antibiotikas tendens att framkalla RB in vitro och funnit att såväl penicillin, ceftriaxon som doxycyklin orsakar bildning av RB (Kersten och medarbetare, 1995). Sapi och medarbetare (2011) bestämde effekten av doxycyklin, amoxicillin, tigeckyklin, metronidazol och tinidazol mot Bb i ordinär spiroketform. Spiroketerna minskade med 80–90 procent för samtliga. Däremot uppvisade medlen olika förmåga (fluorescerande mikroskopi och mörkfältmikroskopi) att reducera antalet RB. För doxycyklin uppmättes en dubbling av RB, för de övriga en minskning på 68–90 procent. Tinidazol reducerade antalet viabla koloniformer med 90 procent, medan de övriga medlen

gjorde detta till endast 15–30 procent. Författarna anser att fynden stärker uppfattningen att RB och biofilmskolonier kan förklara terapivikt och persisterande symptom vid BI. Miklossy och medarbetare (2008) mikroskopade preparat från hjärnor från patienter med säkerställd NB. Man iakttog cystformer av borrelia i dessa, men det var inte möjligt att bedöma viabiliteten hos cellerna. Tidigare arbeten av samma huvudförfattare visade samma resultat. Yrjänäinen (2009) har i en musmodell visat att Bb kan undgå effekten av ceftriaxon och persistera i kroppen, i första hand i lederna, om terapin sätts in sent. Det framgick inte i vilken form bakterierna gömde sig i vävnaden.

Mot ovanstående slutsatser talar andra arbeten, sammanfattade av Feder och medarbetare (2007). Författarna pekar på en rapport av Phillips och medarbetare (1998) som ofta citeras för att stödja hypotesen om persisterande BI. Spiroketer fanns i blod hos 43 av 47 patienter (odlingspåvisning) som fått en lång antibiotikabehandling för kronisk BI. Resultatet har inte kunnat reproduceras av andra. Substratet de använde visade sig senare vara toxiskt för Bb (Marques och medarbetare, 2001). Bb kunde inte hittas via odling eller PCR i 843 prov från blod eller csv, varför författarna konkluderar att det är högst osannolikt att PLDS orsakas av en ockult infektion i CNS. Enligt författarna stärks slutsatsen av att det inte finns inflammatoriska celler i csv, att odling och PCR är negativa, att parenkymet är normalt och de neurologiska funktionerna utan anmärkning, samt att antibiotikaterapi saknar effekt, utöver placebo. Det saknas därmed bevis att cystformer skulle ha en klinisk betydelse. Bb kan penetrera in i celler in vitro, men detta innebär inte att de kan undgå antibiotika på det sättet. Gruntar och medarbetare (2001) rapporterade att de hade lyckats etablera en borreliainfektion genom att utsätta möss för exponering av experimentellt inducerade cystformer av borreliaspiketer. Hos 2 av 15 djur utvecklades typiska spiroketer. Författarna ansåg därmed att cystformer kan ge upphov till infektioner och förordade fortsatta studier av detta problemområde.

Sammanfattning: Den hypotetiska roll atypiska borreliaformer spelar vid PLDS måste ytterligare studeras för att klargöra om de uppfyller mikrobiologiska principer för att kunna betecknas som infektiösa agens. Att använda metoder för att påvisa atypiska borreliaformer i samband med klinisk laboratoriediagnostik av BI rekommenderas inte i någon av de nationella rekommendationerna, och inte heller för diagnostik av NB (Mygland och medarbetare, 2010).

Faskontrastmikroskopi (FKM) och mörkfältmikroskopi (MFM) av bloddroppe från finger för att påvisa rörliga borreliaspiketer och atypiska former vid bland annat PLDS. En systematisk sökning gav träffar i 73 relevanta abstracts. Endast 2 abstracts berör direktmikroskopi av blod.

Direktmikroskopi med FKM eller MFM av ofärgat blod kan användas vid diagnostik av olika spiroketinfektioner. Metoden används ofta för att påvisa Bb i fästingar, för att verifiera anrikningen av Bb i odlingsmedier och för att påvisa Bb i humana vävnadsprov vid EM. För forskningsändamål, men sällan i klinisk praxis, används elektronmikroskopi för att bland annat påvisa lokalisering av antigen i spiroketer. MFM har också använts för att påvisa Bb i histologiska preparat från bland annat hjärnvävnad (Miklossy och medarbetare, 2008). Som ett komplement

vid diagnostiken av leptospiros kan MFM användas för direktpåvisning i blod, men metoden kräver 10^7 bakterier/L. Dessutom är fibrin och annat svårt att skilja från spiroketer (Referensmetodik för laboratoriediagnostik vid kliniskt mikrobiologiska laboratorier,

<http://www.referensmetodik.smi.se/w/Leptospira#Laboratoriediagnostik>, 1997).

Däremot används direktmikroskopi av blod som referensmetod för återfallsfeber (Referensmetodik för laboratoriediagnostik vid kliniskt mikrobiologiska laboratorier, http://www.referensmetodik.smi.se/w/Borrelia_recurrentis, 2003).

Den största chansen till positiv mikroskopi finns i början av feberperioden då spiroketkoncentrationen är som störst. Barbour (1988) beskrev i en översiktsartikel om experimentella infektioner på försöksdjur, att levande Bb-spiroketer kunde påvisas i blod i ett tidigt skede, med en känslighet på cirka 10^6 – 10^7 CFU/L. I en artikel från 2013 beskriver Laane och Mysterud metodiken för mikroskopi av bloddroppe med faskontrastmikroskop. De förespråkar att denna eller liknande metoder används, eventuellt kompletterad med akridinorange för

fluorescensmikroskopi, för diagnostik av bland annat misstänkt kronisk BI.

Metodiken kan också användas för videoinspelningar. Författarna argumenterar för att de atypiska spiroketstrukturer som kan iaktas i synfältet vid sidan av mer typiska spiroketformer, ofta kan utgöras av Bb som L-former (cellväggsdefekta former), cystor eller pärlliknande kedjor. Eftersom andra anser att det man iaktar snarare är artefakter, som fibrinfibrer, proteinläckage från blodkroppar och liknande, menar författarna att ytterligare forskning är nödvändig för att klargöra detta. Studiens värde måste ifrågasättas eftersom man inte har använt kontrollgrupper eller har försökt att verifiera fynden med alternativ metodik. Mantovani och medarbetare (2007) rapporterar att man med mikroskopi har kunnat påvisa men inte lyckats odlingsverifiera spiroketer i blod hos ett antal patienter med BI-liknande sjukdom i Brasilien.

Sammanfattning: Vid mikroskopi av blod eller csv för diagnos av BI, särskilt vid långvariga besvär efter behandlad NB eller vid symptom som är okaraktäristiska för BI, ser det vetenskapliga underlaget ut att vara otillräckligt. Andra studier, sammanfattade av Feder och medarbetare (2007), har inte kunnat påvisa spiroketer med odling eller PCR vid sådana tillstånd. Faskontrastmikroskopi eller mörkfältsmikroskopi av bloddroppe för diagnostik av BI rekommenderas inte i någon av de nationella rekommendationerna.

Rekommendationer från nationella myndigheter, professionella föreningar och referenslaboratorier inom EU

Sammanfattning: Följande text beskriver huvuddragen i aktuella, officiella och nationella rekommendationer och vägledningar för hanteringen av BI i Sverige, Danmark, Norge, Finland, Nederländerna, Storbritannien, Tyskland och Frankrike. Liknande rekommendationer finns också i Tjeckien, Polen, Slovenien och Schweiz. Det råder en principiell enighet beträffande laboratoriediagnostiken, medan det finns vissa skillnader när det gäller rekommendationerna om bruket av immunblot (WB) för att verifiera en initial positiv screeningsserologi. I huvudsak råder det också enighet beträffande valet av antibiotika för behandlingen, även om det finns vissa skillnader när det gäller bland annat valet av penicillin för behandlingen av EM och behandlingstidens längd. Allmänt råder det enighet beträffande principerna för karaktärisering och värdering av kliniska fynd, inklusive PLDS som betraktas som ett långvarigt och kvarstående symptom, men inte är tecken på en aktiv infektion. Man anser även att PLDS inte ska behandlas med antibiotika.

De svenska rekommendationerna skiljer sig från de som tagits fram av ESGBOR genom att de senare i flera fall anger odling och PCR som möjliga stödjande diagnostiska metoder. De svenska rekommendationerna anger dessa metoder endast för borreliaartrit (PCR).

De europeiska länderna verkar eniga beträffande användningen av serologisk antikroppspåvisning för den primära diagnostiken: i inget fall rekommenderas serologi vid EM. I ett antal länder inom EU har man i falldefinitionerna definierat bruket av andra tester som stöd för diagnostiken av BI. Hit hör odlingspåvisning av Bb, en metod som anges som ”gold standard”, men som är behäftad med problem såväl avseende känslighet som tidsåtgång. Molekylärbiologisk metodik för att påvisa Borrelia-DNA (PCR) är också en metod som har vissa begränsade användningsområden.

I ett gemensamt skandinaviskt projekt (Dessau, Eliasson, Skarpaas, Nyman, 2011) kartlades vilka diagnostiska metoder som användes av 43 tillfrågade nordiska laboratorier, samt i vilken omfattning och med vilka resultat. Tretton olika diagnostiska kit användes för primär ELISA och seropositiviteten varierade från 5 till över 60 procent. Tvåstegsstrategi (ELISA-screening + WB) användes av 16 laboratorier, medan 27 enbart gjorde en primärscreening. PCR erbjöds av 6 laboratorier, och 2,4 procent av sådana undersökningar var positiva för prov från csv mot 13,1 procent för prov från leder eller hud. Ett enda laboratorium använde metoden för att detektera skada av blod-hjärnbarriären på prov vid misstänkt NB.

Sverige

Läkemedelsverket publicerade år 2009 en rapport från en tvådagars workshop med ledande svenska experter inom området: *Läkemedelsbehandling av borreliainfektion: Bakgrundsdokumentation och ny rekommendation. Information från Läkemedelsverket 4:2009*. Rapportens **falldefinitioner** ansluter nära till dem som senare rekommenderas av ESGBOR för klinik och diagnostiska tester för varje tillstånd. De svenska rekommendationerna skiljer sig dock från dessa genom att de senare anger detektion av Bb genom odling eller PCR som stödjande diagnostiska verktyg för erytema migrans, lymfocytom, NB, artrit och kardit. I de svenska saknas även en falldefinition för okulär BI, vilka finns i ESGBOR-definitionerna. De svenska behandlingsrekommendationerna presenteras också i tabellform, i likhet med falldefinitionerna. De medel som rekommenderas är penicillin V (valet motiveras i en artikel i Läkartidningen av Bennet och medförfattare, 2006), doxycyklin, azitromycin och ceftriaxon i ett tidsintervall mellan 5–14 dagar (–21 för ACA).

Avsnittet bakgrundsdokumentation beskriver att Immunoblot (WB) kan göras i särskilda fall om ELISA-resultatet är osäkert, men en generell rekommendation om tvåstegsstrategi anges inte.

Terapisvikt är sällsynt, men kan förekomma vid behandling för EM vid samtidig NB. En detaljerad beskrivning av begreppet kronisk borreliainfektion och långtidsbehandling ges i två artiklar i dokumentet (av Dag Nyman, Susanne Stiernstedt och Mats Karlsson), med utförliga referenser till genomförda studier. Det konstateras bland annat att kontrollerade studier på långtidsbehandling av PLDS har visat ringa eller ingen effekt, förutom en möjlig effekt på trötthet i en av fyra studier. Eventuella persisterande spiroketer (cystor) i kroppen efter behandlingen är med största sannolikhet försvagade, underhåller ingen inflammation och kan knappast ge en fortsatt infektion. Frågan är dock inte slutgiltigt löst. Långtidsbehandling kan övervägas i vissa fall där den initiala behandlingen inte har gett tillräckligt resultat. I dokumentet konstateras att det är vanligt med resttillstånd efter behandlad NB: 12–25 procent kan ha långvariga besvär.

Danmark

År 2006 gav en grupp experter från Dansk Selskab for Klinisk Mikrobiologi, Dansk Selskab for Infektions medicin och Dansk Neurologisk Selskab ut riktlinjer för klinik, diagnostik och behandling av BI. (Dessau, R.B., Bangsborg, J.M., Ejlertsen, T., Hansen, K., Lebech, A-M., Ostergaard, C. Lyme Borreliose. Klinik, diagnostik og behandling. Forfattergruppen er nedsat af Dansk Selskab for Klinisk Mikrobiologi, Dansk Selskab for Infektions medicin og Dansk Neurologisk Selskab, april 2006, uppdaterad 2010.)

Beträffande patogenesen skriver man att Bb har förmågan att minska uttrycket av OspA och OspC i kroppen, vilket gör det möjligt för bakterierna att överleva trots ett relativt kraftigt antikroppssvar. OspC aktiverar också fästingproteinet Salp 15

redan i fästingens saliv, vilket undertrycker antikroppsproduktion och förhindrar en komplementmedierad avdödning av bakterierna (Schuijt och medarbetare, 2008). Detta kan bidra till Bb:s förmåga att etablera sig i människokroppen. I Danmark inträffar 1–2 fall per år av verifierad kronisk NB, med allvarliga neurologiska bortfallsymptom, och den kan därför betraktas som mycket ovanlig. För PLDS anses det att bevis för persisterande infektion saknas. Man varnar för fatala följder, inklusive dödsfall, om sådana patienter får en långvarig antibiotikabehandling, samtidigt som en annan diagnos missas.

Rapporten avråder från att använda metoden att påvisa antigen i urin. Författarna skriver att de ursprungliga författarna (Hyde och medarbetare, 1989) inte själva längre rekommenderar metoden. Serologi med ELISA är förstandsvalet för primär diagnostik. Man anser inte att ELISA-tester av tredje generationen erbjuder några fördelar framför den andra generationens. Europeiska studier har angett tolkningskriterier för WB (Robertson och medarbetare, 2000), men författarna anser att tvåstegsstrategin (ELISA+WB) är behäftad med flera problem: metoden har inte utvärderats för dagens ELISA-tester av andra och tredje generationen, WB är inte fristående från ELISA, WB är dyr och – åtminstone i tidigare versioner – ofta svårtolkad. WB kan därför inte rekommenderas som obligatoriskt verifiering av ELISA-resultatet. För behandlingen rekommenderas penicillin V, penicillin G, doxycyklin, ceftriaxon/cefotaxim i 10–14 (–21) dagar.

Norge

I en artikel i Tidskrift for den norske legeförening (Ljostad U, Mygland A. Lymeborreliainfektion hos voksne, *Nor Legeforen* 2008;128:1175-8) och i en text i Norsk läkemedelshandbok

(<http://legemiddelhandboka.no/Terapi/683/?ids=684#i684>) beskriver författarna översiktligt klinik, diagnostik och behandling av BI hos vuxna. Odling beskrivs som ”gold standard”, men metodiken har ringa betydelse på grund av problem med känsligheten. PCR kan visserligen vara användbar vid diagnostik av EM och ACA, men behovet är inte stort. Antikropps påvisning är standard, men tvåstegsstrategin med WB efter ett positivt ELISA-test för att höja specificiteten, anses inte kostnadseffektiv. Nyare ELISA-tester som baseras på C6-peptid kan sannolikt ersätta behovet av WB. Vid diagnostik av NB måste en intratekal produktion av specifika antikroppar verifieras med kvotbestämning. Det positiva, prediktiva värdet för antikropps förekomst avtar väsentligt om den kliniska misstanken om BI är låg. CXCL 13 i csv kan ha ett värde vid tidig NB, innan antikroppsproduktionen har kommit igång. LTT är inte tillräckligt validerat för att kunna rekommenderas. För behandling av BI rekommenderas amoxicillin (EM) eller doxycyklin i 14 dagar. För NB rekommenderas ceftriaxon eller doxycyklin 2–4 veckor.

I en publikation ger Ljostad och Mygland (2013) en översikt över ämnet kronisk borreliainfektion. De konstaterar att tillståndet är ovanligt och att det kan definieras som en pågående, långvarig infektion med Bb. Vanligen förekommer progressiv encefalomyelit, myelit, artrit och ACA. Nästan 100 procent av de drabbade är seropositiva (IgG) men oftast odlingsnegativa. Om ELISA utfaller negativt ska

seropositivitet inte anses föreligga, även om WB indikerar förekomsten av antikroppar mot Bb. Kronisk NB är praktiskt taget alltid förenad med pleocytos i csv och intratekal antikroppsproduktion. Antibiotikakurer i kombination eller längre tid än fyra veckor rekommenderas inte. Patienter som anser sig ha en kronisk borreliainfektion ska erbjudas diagnostik av BI, men vid behov också av differentialdiagnoser som neurologiska sjukdomar, reumatologiska åkommor, PLDS och kroniskt trötthetssyndrom.

Finland

De finska rekommendationerna har skrivits av Oksi J, Seppala IJ och Hytonen J. (Lymen borreliosin diagnostiikka ja hoito. Duodecim 2008;124:1483-91).

Vid EM ställs diagnosen i första hand kliniskt och laboratorieanalyser anses inte nödvändiga. Vid NB eller en disseminerad infektion är serologi värdefull, framför allt IgG-antikroppar. Rekommendationen är att akut- och konvalescentprov tas med minst en månads mellanrum för att fånga serokonversion eller titerstegring. I allmänhet används ELISA (VlsE, C6) med WB som konfirmerande analys. Vid misstänkt NB bestäms också de intratekala antikropparna. PCR görs på csv och ledvätska eller ledkapselbiopsi, om dessa prover tas. Författarna föreslår också PCR på plasmaprover från högfebrila patienter med misstänkt NB eller disseminerad infektion.

På Åland undersöks årligen cirka 4 000 patientprover (Dag Nyman, personligt meddelande). Där betonas att den kliniska bilden måste utgöra grunden för alla laboratorieundersökningar. För att optimera den diagnostiska känsligheten använder man initialt två ELISA-tester (C6 och panel av rekombinanta antigen), följt av immunoblot vid ett gränsvärde eller ett positivt resultat. IgM-antikroppar analyseras inte eftersom de inte anses vara till någon diagnostisk hjälp. Vid diagnostik av NB utvärderas den intratekala produktionen av specifika antikroppar med "Reibermetoden" (Reiber och Lange, 1991, Reiber och Peter, 2001) som korrigerar antikroppsindex för en skada på blod-hjärnbarriären. Som aktivitetsmått vid NB påvisas CXCL13 i csv. Enligt ett åländskt material har positiv pleocytos och CXCL13 högst prediktivitet för diagnosen NB (Dag Nyman, personligt meddelande).

Nederländerna

I Nederländerna finns publicerade riktlinjer på holländska från 2004 (Speelman P, de Jongh BM, Wolfs TF, Wittenberg 2004. CBO (Dutch Institute for Healthcare Improvement) Richtlijn Borreliainfektione 2004).

En senare översiktsartikel på engelska av Coumou och medarbetare (2011) beskriver BI-situationen i Nederländerna med detaljerade rekommendationer avseende klinik, diagnostik och behandling, med koppling till CBO:s rekommendationer. PLDS drabbar mellan 10–20 procent av patienterna med behandlad BI. Förekomsten av liknande symptom hos en del av den övriga befolkningen, liksom förekomsten av anti-borrelia antikroppar hos 4–8 (i några

regioner upp till 20) procent hos de som är friska i Nederländerna och i resten av Europa, samt att långtidsbehandling med antibiotika inte visat sig ge någon lindring, gör det osannolikt att PLDS beror på en persisterande infektion. För diagnostiken av BI rekommenderas serologi. Positiv ELISA ska verifieras med WB. Baserat på jämförelser med friska kontroller, slås fast att det prediktiva värdet för positiv borreliaserologi hos individer med ospecifika symptom är mycket lågt. Som stödjande diagnostik anges för de flesta stadierna PCR, histopatologi eller odling. Man avråder från diagnostik med PCR i blod och urin eftersom känsligheten är låg och specificiteten okänd. Inte heller mikroskopi av blod eller CD57 rekommenderas. Behandlingens längd varierar från 10 till 30 dagar, den längre tiden för sen NB, artrit och ACA. Antibiotikavalet är amoxicillin, doxycyklin eller ceftriaxon.

Storbritannien

Brittiska riktlinjer, publicerade i maj 2012 (Diagnosis and treatment of borrelia infections. Health Protection Agency. Guidelines. 29 May 2012), beskriver att ett litet antal av patienterna med BI utvecklar PLDS som liknar kroniskt trötthetssyndrom eller fibromyalgi. Liknade symptom kan emellertid uppträda även efter andra infektiösa eller icke-infektiösa åkommor. De aktuella riktlinjerna betonar vikten av en noggrann klinisk undersökning, inklusive en utvärdering av risken att ha blivit utsatt för ett fästingbett innan en laborietestning ordinerades.

På prov med positiva eller oklara resultat rekommenderar riktlinjerna en serologisk tvåstegsstrategi: en initial antikroppsscreening som följs av WB. Den känsliga screeningmetoden har nackdelen att ibland kunna ge felaktigt positiva resultat i prov från patienter med exempelvis körtelfeber, syfilis, andra infektioner, RA, andra autoimmuna sjukdomar och vissa neurologiska åkommor. I vissa situationer kan ett andra prov behöva analyseras 2–4 veckor efter det första för att konstatera serokonversion. Å andra sidan kan man ha antikroppar utan en aktuell infektion, vilket särskilt kan drabba individer med yrkes- eller fritidsintressen som innebär en risk att de utsätts för repetitiva fästingbett, med en oupptäckt tidigare borreliainfektion eller asymtomatisk infektion. PCR kan användas i vissa fall, med fördel vid borreliartrit eller på prov från hud vid oklara erytem.

För behandlingen hänvisar HPA i första hand till EFNS rekommendationer som presenteras på EUCALB, men även till bland annat ”The treatment guideline” som publicerades av IDSA år 2006. Man påpekar också att andra bakteriella infektioner som anaplasmos, babesios och Q-feber, liksom virusinfektionen TBE, kan överföras via fästingar. En samtidig infektion med Bb och ett annat smittämne kan förorsaka atypisk klinik så att antibiotikavalet kan behöva modifieras.

Tyskland

I Tyskland (Bayern) finns ett fristående referenslaboratorium, Nationales Referenzzentrum (NRZ) für Borrelien (head Volker Fingerle)
http://www.lgl.bayern.de/das_lgl/aufgaben_zustaendigkeiten/ge_aufgaben/ge2_nr

[z_borrelien.htm](#)). Från detta laboratoriet har varit med och tagit fram riktlinjerna för behandling av BI och NB som har getts ut av AWMF ([http://www.awmf.org/Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.](http://www.awmf.org/Arbeitsgemeinschaft%20der%20Wissenschaftlichen%20Medizinischen%20Fachgesellschaften%20e.V.)).

För kutan borreliainfektion gav AWMF år 2009 ut riktlinjerna "Leitlinien der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft" med titeln "Kutane Manifestationen der Borreliainfektion" (http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/013-044.pdf). Riktlinjerna skrevs i samarbete med nio experter, däribland representanter för Nationales Referenz Zentrum für Borrelien (München; http://www.lgl.bayern.de/gesundheits/infektionsschutz/infektionskrankheiten_a_z/borreliainfektion/nrz_borrelien.htm).

Riktlinjerna för kutan borreliainfektion beskriver hur odling kan påvisa bakterien som bevis för en pågående infektion. Odling utförs emellertid bara på ett fåtal laboratorier. För att påvisa bakterier i prov från hud är PCR en mycket pålitlig och användbar metod, särskilt i ett tidigt skede av infektionen innan antikroppar har hunnit utvecklas. Samtidigt varnar man för PCR på urinprov som kan ge falskt positiva resultat. Bland differentialdiagnoser vid hudmanifestationer av BI nämns persisterande insektsreaktion, erysipelas, hypodermis, atrofodermi, morfea, granuloma annulare och herpes simplex. Den senare nämns också vid spridd hudmanifestation.

År 2008 gav AWMF ut riktlinjer för NB (Neuroborreliainfektion): "Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie" (http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/030-0711_S1_Neuroborreliainfektion.pdf). Riktlinjerna har tagits fram av neurologer och representanter för Nationales Referenz Zentrum für Borrelien. De innehåller detaljerade beskrivningar av symptomatologin, inklusive kronisk borreliainfektion och PLDS, samt rekommendationer för diagnos och behandling. Riktlinjerna slår fast att serologi ska användas med påvisande av intratekalt producerade specifika antikroppar, tillsammans med pleocytos, för att säkerställa diagnosen NB. De avråder från behandling med vankomycin, trim/sulfa, isoniazid, flukonazol, amantadin samt väsentligt längre behandlingstider än de som anges här.

Frankrike

I Frankrike gav Societe de Pathologie Infectieuse de langue Francaise ut rekommendationer för klinik, och behandling av BI år 2006 (<http://www.infectiologie.com/site/medias/documents/consensus/2006-lyme-long.pdf>). De innehåller i princip samma rekommendationer som de övriga ländernas. Under rubriken "Möjliga manifestationer" beskrivs ett antal symptom som har beskrivits i litteraturen, men som oftast inte har verifierats laborativt. Hit hör ett antal neurologiska tillstånd som motorneuronskador, demyeliniserande polyneuropatier och cerebrala vaskulära insulter. Psykiatriska symptom har också beskrivits, liksom reumatiska tillstånd och ledbesvär med en möjlig koppling till BI. PLDS (alternativt kronisk BI) beskrivs som asteni, diffus värk,

minnesstörningar och koncentrationssvårigheter. Dessa symptom anses inte bero på en aktiv och behandlingsbar infektion.

För behandlingen varnas för penicillinG, penicillinV, cefuroxim, erytromycin, roxitromycin och azitromycin. Man anger bland annat biverkningsrisker som skäl för detta och rekommenderar istället amoxicillin, ceftriaxon, doxycyklin och minocyklin i 10–21 dagar (28 dagar vid vissa fall av NB och artrit).

Referenser

1. Aalto, A., Sjowall, J., Davidsson, L., Forsberg, P., Smedby, O. Brain magnetic resonance imaging does not contribute to the diagnosis of chronic neuroborreliosis. *Acta Radiol* 2007;48:755–62
2. Agüero-Rosenfeld, M E., Wang, G., Schwartz, I., Wormser, G P. Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:484-509
3. Ang, CW., Notermans, D. W., Hommes, M A., Simoons-Smit, M., Herremans, T. Large differences between test strategies for the detection of anti-Borrelia antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. *Eur J Clin Microbiol. Infect Dis.* 2011;30:1027–1032.
4. AWMF 2009: Leitlinien der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft: Kutane Manifestationen der Borreliainfektion/Borreliainfektionen (http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/013-044.pdf)
5. AWMF 2008: Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie: Neuroborreliainfektionen. ” (http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/030-071I_S1_Neuroborreliainfektionen.pdf).
6. [Baehr](#), Vv., [Doebis](#), C., [Volk](#), HD., [Baehr](#), R v. The lymphocyte transformation test for borrelia detects active borrelia infection and verifies effective antibiotic treatment. *Open Neurol J.* 2012;6:104–112.
7. Barbour, AG. Laboratory aspects of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev.* 1988;1:399-414
8. Bayer, ME., Zhang, L., Bayer, MH. Borrelia burgdorferi DNA in the urine of tested patients with chronic Lyme disease symptoms: a PCR study of 97 cases. *Infection.* 1996;24:347-353.
9. Benach, J.L. and Coleman, J.L. Studies on the cystic form of Borrelia burgdorferi; mechanism of persistence. In *Lyme Disease*, ed. Patricia K. Coyle. St Louis. Mosby-Year Book, Inc. 2003. p 61.
10. Bennet, L., Stiernstedt, S., Berglund, J., Hagberg, L., Karlsson, M., Olsson, I., Ornstein, K. Penicillin-V är förstahandsval vid behandlingen av erytema migrans. *Läkartidningen* no 18, 2006. <http://www.lakartidningen.se/07engine.php?articleId=3924>
11. Berglund, J., Eitrem, R., Ornstein, K., Lindberg, A., Ringér, A., Elmrud, H., Carlsson, M., Runehagen, A., Svanborg, C., Norrby, R. An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. *N Engl J Med* 1995;333:1319-27
12. Blaauw, AA., van Loon, AM., Schellekens, JF., Bijlsma, JW. Clinical evaluation of guidelines and two-test approach for Lyme disease. *Rheumatology* 1999;38(11):1121-6
13. Blocher, J., Wiefek, J., Lange, P., Eiffert, H., Schmidt, H. Experimental and diagnostic aspects of Lyme borreliosis: Value of the lymphocyte transformation test to determine the acuity of neuroborreliosis Monday, April 02, 2012, 13:30 - 14:30. ECCMID 2012 http://registration.akm.ch/einsicht.php?XNABSTRACT_ID=143581&XNSPRACHE_ID=2&XNKONGRESS_ID=161&XNMASKEN_ID=900
14. Borde, JP., Meier, S., Fingerle, V., Klier, C., Hubner, J., Kern, WW. CXCL13 may improve diagnosis in early neuroborreliosis with atypical laboratory findings. *BMC Infect Dis.* 2012;123-44.
15. Bremell, D., Mattsson, N., Edsbacke, M., Blennow, K., Andreasson, U., Wikkelso, C., Zetterberg, H., Hagberg, L. Cerebrospinal fluid CXCL13 in Lyme neuroborreliosis and asymptomatic HIV infection. *BMC neurology* 2013;13:2
16. Brorson, Ø., Brorson, S-H. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of Borrelia burgdorferi to metronidazole. *APMIS* 1999;107:566-76

17. Brorson, Ø., Brorson S-H. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to hydroxychloroquine, *Internat Microbiol*, 2002;5: 25–31
18. Brorson, Ø., Brorson, S-H. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to tinidazole. *Int. Microbiol* 2004;7:139-142
19. Brorson, Ø., Brorson, SH., Scythes, J., MacAllister, J., Wier, A., Margulis, L. Destruction of spirochete *Borrelia burgdorferi* round-body propagules (RBs) by the antibiotic tigecycline. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Nov 3;106(44):18656-61
20. Burrascano, J. In: *Advanced topics in Lyme Disease. Diagnostic hints and treatment guidelines for Lyme and other tick borne illnesses*. 16th Ed. 2008.
21. Busson, L., Reynders, M., Van den Wijngaert, S., Dahma, H., Decolvenaer, M., Vasseur, L., Vandenberg, O. Evaluation of commercial screening tests and blot assays for the diagnosis of Lyme borreliosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012 ;73(3):246-51
Cameron, D J. Proof that chronic Lyme Disease exists, Research article. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. Volume 2010 (2010), Article ID 876450, 4 pages. doi:10.1155/2010/876450
22. Cimperman, J., Maraspin, V., Lotric-Furlan, S., Ruzic-Sabljić, E., Avsic-Zupanc, T., Picken, RN., Strle, F. Concomitant infection with tick-borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in patients with acute meningitis or meningoencephalitis. *Infection*. 1998;26:160–4
23. Cimperman, J., Maraspin, V., Lotric-Furlan, S., Ruzic-Sabljić, E., Strle, F. Lyme meningitis; a one-year follow up controlled study. *Wien Klin Wochensh*. 1999;111:961-963
24. Coumou, J., van der Poll, T., Speelman, P., Hovius, JW. Tired of Lyme borreliosis. Lyme borreliosis in the Netherlands. *The Netherlands Journal of Medicine*. 2011;69:101-111
25. Coyle, PK., Deng, Z., Schutzer, SE., Belman, AL., Benach, J., Krupp, LB., Luft, B. Detection of *Borrelia burgdorferi* antigens in cerebrospinal fluid. *Neurology* 43:1093-1097, 1993.
26. Czerkinsky, C., Andersson, G., Ekre, H. P., Nilsson L.A., Klareskog, L., Ouchterlony, O. "Reverse ELISPOT assay for clonal analysis of cytokine production. I. Enumeration of gamma-interferon-secreting cells," *Journal of Immunological Methods*. 1998;110:29–36
27. de Konig, J., Duray, P.H. *Aspects of Lyme borreliosis*, Springer Verlag 1993. Chapter 6. *Histopathology of human Lyme borreliosis*.
28. de Koning, J., Bosma, RB., Hoogkamp-Korstanje, JA. Demonstration of spirochetes in patients with Lyme disease with a modified silver stain. *J Med Microbiol*. 1987;23:261-267
29. De Martino, S J., Sordet, C., Piémont, Y., Ruzic-Sabljić, E., Thadée Vetter, M., Montell, H., Sibilia, J., Jaulhac, B. Enhanced culture of *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii* strains on a solid BSK-based medium in anaerobic conditions. *Research in Microbiology*. 2006;157:726-729
30. Dessau, R.B. How to detect significant changes in *Borrelia burgdorferi* antibody reactivity in a follow-up sample. *ECCMID 2011*
<http://www.eccmidabstracts.com/abstract.asp?id=91672>
31. Dessau, R.B., Bangsberg, J.M., Ejlersen, T., Hansen, K., Lebech, A-M., Ostergaard, C. *Borreliainfektion. Klinik, diagnostik og behandling*. (Forfattergruppen er nedsat af Dansk Selskab for Klinisk Mikrobiologi, Dansk Selskab for Infektions medicin og Dansk Neurologisk Selskab) Senaste opdatering 2010.
32. Dessau, R.B., Eliasson, I., Skarpaas, T., Nyman, D. Testing for Lyme borreliosis in the nordic countries.-variations in strategies and seropositivity. Reports from a survey of laboratory methods used in Scandinavia. Februari 2011.
<http://www.dskm.dk/pdf/rapporter/Serological%20testing%20for%20Lyme.pdf>.)
33. Deutsche Borreliainfektions-Gesellschaft e.V. Revised 2:nd edition: Diagnosis and treatment of Lyme borreliosis. Guidelines.: December 2010. (<http://www.borreliainfektions-gesellschaft.de/Texte/guidelines.pdf>)

34. Donta, S.T. Issues in the Diagnosis and Treatment of Lyme Disease. *Open Neurol J.* 2012; 6: 140–145
35. Donta, ST., Martin, SE., Meeting IDSA, Denver CO, Cartwright, MJ. A Novel toxin (Bbtox1) of *Borrelia burgdorferi*. *Abstracts of Annual.* 1998.
36. Dorward, DW., Schwan, TG., Garon, CF. Immune capture and detection of *Borrelia burgdorferi* antigens in urine, blood, or tissues from infected ticks, mice, dogs, and human. *J Clin Microbiol* 1991;29:1162-1170.
37. Douglas, T.A., Tamburro, D., Fredolini, C., Espina, B.H., Lepene, B.S., Ilag, L., Espina, V., Petricoin, E.F., Liotta, L.A. and Luchini, A., The use of hydrogel microparticles to sequester and concentrate bacterial antigens in a urine test for Lyme disease. *Biomaterials*, 2011; 32 (4): 1157-66.
38. Dumler, JS. Molecular diagnosis of Lyme disease: review and meta-analysis. *Mol.Diagn.* 2001;6):1-11
39. Eisende, K., Grabner, T., Zegler, B. Focus floating microscopy: "Gold standard for cutaneous Lyme borreliosis? *Am J Clin Pathol* 2007;127:213-222
40. Elfving, K., Lindblom, A., Nilsson, K. Seroprevalence of *Rickettsia* spp. infection among tick-bitten patients and blood donors in Sweden. *Scand J Infect Dis.* 2008;40:74–77
41. Elliott, DJ., Eppes, SC., Klein, JD. Teratogen update: Lyme disease. *Teratology* 2001;64:276-281
42. European concerted action on Lyme borreliosis. EUCALB: ESCMID study group, ESGBOR. October 2012. <http://www.EUCALB.com/> Upp
43. Fallon, BA., Keilp, JG., Corbera, KM., Petkova, E., Britton, CB., Dwyer, E., Slavov, I., Cheng, J., Dobkin, J., Nelson, DR., Sackeim, HA. "A randomized, placebo-controlled trial of repeated IV antibiotic therapy for Lyme encephalopathy," *Neurology*, vol. 70, no. 13, pp. 992–1003, 2008.
44. Fallon, BA., Levin, E. S., Schweitzer, P. J., Hardesty, D. *Neurobiology of Disease*. Vol 37 Issue 3. Special issue "Inflammation in Neuropsychiatric Disease" 2010;7:534-541
45. Fallon, BA., Lipkin, RB., Corbera, KM., Yu, S., Nobler, MS., Keilp, JG., Petkova, Lisanby, SH., Moeller, JR., Slavov, I., van Heertum, R., Mensh, BD., Sackeim, HA. "Regional cerebral blood flow and metabolic rate in persistent Lyme encephalopathy." *Arch Gen Psychiatry.* 2009; 56: 554-63.
46. [Feder, HM Jr.](#), [Johnson, BJ.](#), [O'Connell, S.](#), [Shapiro, ED.](#), [Steere, AC.](#), [Wormser, GP.](#) [Ad Hoc International Lyme Disease Group: Agger, WA.](#), [Artsob, H.](#), [Auwaerter, P.](#), [Dumler, JS.](#), [Bakken, JS.](#), [Bockenstedt, LK.](#), [Green, J.](#), [Dattwyler, RJ.](#), [Munoz, J.](#), [Nadelman, RB.](#), [Schwartz, I.](#), [Draper, T.](#), [McSweegan, E.](#), [Halperin, JJ.](#), [Klempner, MS.](#), [Krause, PJ.](#), [Mead, P.](#), [Morshed, M.](#), [Porwancher, R.](#), [Radolf, JD.](#), [Smith, RP Jr.](#), [Sood, S.](#), [Weinstein, A.](#), [Wong, SJ.](#), [Zemel, L.](#) A critical appraisal of "chronic Lyme disease". *N Engl J Med* 2007;357:1422-30. <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra072023>
47. Forsberg, P., Ernerudh, J., Ekerfeldt, C., Roberg, M., Vrethem, M., Bergström, S. The outer surface proteins of Lyme disease borrelia spirochetes stimulate T-cells to secrete interferon-gamma (IFN-gamma): diagnostic and pathogenic implications. *Clin Exp Immunol.* 1995;101:453-460
48. Gruntar, I., Malovrh, T., Murgia, R. and Cinco, M. Conversion of *Borrelia garinii* cystic forms to motile spirochetes in vivo. *APMIS*, 2001; 109 (5): 383-8.
49. Gustafson, R., Jaenson, T., Gardulf, A., Mejlon, H., Svenungsson, B. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in *Ixodes ricinus* in Sweden. *Scand J Infect Dis* 1995; 27: 597-601.

50. Hammers-Berggren, S., Lebech, AM, Karlsson, M., Andersson, U., Hansen, K., Stiernstedt, G. Serological follow-up after treatment of *Borrelia arthritis and acrodermatitis chronica atrophicans*. *Scand J Infect Dis* 1994;26:339-47
51. Hassett, AL., Radvanski, DC., Buyske, S., Savage, SV., Sigal, LH. Psychiatric comorbidity and other psychological factors in patients with "chronic Lyme disease" *Am J Med.* 2009;122:843-850
52. Health Protection Agency. Guidelines: Diagnosis and treatment of Lyme borreliosis.. 29 May 2012.
<http://www.hpa.org.uk/Topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/LymeDisease/Guidelines/LymDiagnosisofLymeborreliainfektionis/>
53. Hildebrandt, A., Straube, E., Neubaue, H., Schmook, G. *Coxiella burnetii* and coinfections in *Ixodes ricinus* ticks in central Germany. *Vector borne zoon dis.* 2011;11:1205-7
54. Hildenbrand, P., Craven, DE., Jones, R., Nemeskal, P. "Lyme neuroborreliosis: manifestations of a rapidly emerging zoonosis". [American Journal of Neuroradiology](#) 2009; 30: 1079–87.
55. Hubálek, Z. Epidemiology of Lyme borreliosis. *Curr Probl Dermatol.* 2009;37:31-50.
56. Hunfeld, K-P., Oschmann, P., Kaiser, R., Schultze, J., Brade, V. Diagnostics. In; Oschmann, Kriczy, Halperin, Brade eds. *Lyme-Borreliosis and Tick-borne encephalitis.* 1 st revised English edition. Bremen, Germany:Unimed Verlag AG. International Medical Publishers. 1999:80-108.
57. Hyde, FW.,Johnson, RC., White, TJ., SheBlurne, CE. Detection of antigens in urine of mice and humans with *Borrelia burgdorferi*, etiologic agent of Lyme disease. *J Clin Microbiol.* 1989;27:58-61
58. Jaenson, T., Jaenson, D., Eisen, L., Petersson, E., Lindgren, E. Changes in the geographical distribution and abundance of the tick *Ixodes ricinus* during the past 30 years in Sweden. *Parasites and Vectors.* 2012; Jan 10;5:8.
59. Jaenson, T., Tälleklint, L. Incompetence of roe deer (*Capreolus capreolus*) as reservoirs of the Lyme disease spirochete. *J. Med. Entomol.* 1992;29: 813-817.
60. Jaulhac, B., Chary-Valckenaere, I., Sibilia, J., Javier, RM., Piemont, Y., Kuntz, JL., Monteil, H., Pourel, J. Detection of *Borrelia burgdorferi* by DNA amplification in synovial tissue samples from patients with Lyme arthritis. *Arthritis Rheum.* 1996;39:736-745
61. Jenkins, A., Kristiansen, BE., Allum, AG., Aakre, RK., Strand, L., Kleveland, EJ., van de Pol, I., Schouls, L. *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Ehrlichia* spp. in *Ixodes* ticks from southern Norway. *J Clin Microbiol.* 2001; 39:3666-71
62. Johnson, B J., Robbins, KE., Baily, R E et al. Serodiagnosis of Lyme disease:accuracy of a two-step approach using a flagella-based ELISA and immunoblotting. *J Infect Dis.* 1996;174:346-53
63. Kaiser, R., and Lucking, CH. Intrathecal synthesis of specific antibodies in neuroborreliosis. Comparison of different ELISA techniques and calculation methods. *J Neurol Sci.* 1993;118:64-72
64. Kersten, A., Poitschek, C., Rauch, S., Aberer, E. Effects of penicillin, ceftriaxone, and doxycycline on morphology of *Borrelia burgdorferi*. *Antimicrobb Agents Chemother.* 1995;39:1127-1133.
65. Klempner, MS. "Controlled trials of antibiotic treatment in patients with post-treatment chronic Lyme disease," *Vector Borne and Zoonotic Dis,* 2002;2:255–263
66. Klempner, MS., Hu, LT., Evans, J., Schmid, CH., Johnson, GM., Trevino, RP., Norton, DL., Levy, L., Wall, D., McCall, J., Kosinski, M., Weinstein, A. "Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease," *N Engl J Med,* 2001;345:85–92

67. Krupp, B., Hyman, LG., Grimson, R., Coyle, PK., Melville, P., Ahnn, S., Dattwyler, R., Chandler, B. "Study and treatment of post Lyme disease (STOP-LD): a randomized double masked clinical trial," *Neurology*, 2003; 60:1923–1930
68. Laane, MM., Mysterud, I. A simple method for the detection of live *Borrelia* spirochaetes in human blood using classical microscopy techniques. *Biol Biomed Reports*. 2013;3:15-28
69. Lantos, P.M. Chronic Lyme Disease: The Controversies and the Science Expert Rev Anti Infect Ther. 2011;9:787-797
70. Liveris, D., Schwartz, I., Bittker, S., Cooper, D., Iyer, R., Cox, ME., Wormser, GP. Improving the yield of blood cultures from patients with early Lyme disease. *J Clin Microbiol*. 2011;49:2166-2168
71. Ljøstad, U., Mygland, Å. Remaining complaints after treatment for acute Lyme neuroborreliosis; frequency, pattern and risk factors. *Eur J Neurol*. 2010;17:118-123
72. Ljøstad, U., Mygland, Å. Chronic Lyme; diagnostic and therapeutic challenges. *Acta Neurol Scand* 2013;127 (Suppl. 196):38-47
73. Ljøstad, U., Mygland, Å. Tidsskrift for den norske legeförening; Lyme-borreliainfektion hos voksne. *Nor Legeforen* 2008;128:1175-8) och *Norsk läkemedelshandbok* (<http://legemiddelhandboka.no/Terapi/683/?ids=684#i684>)
74. Ljøstad, U., Mygland, Å. CSF B-lymphocyte chemoattractant (CXCL13) in the early diagnosis of acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol* 2008;255:732-37
75. Läkemedelsbehandling av borreliainfektion: Bakgrundsdocumentation och ny rekommendation. Information från Läkemedelsverket 4:2009
76. McGill, S., Wesslén, L., Hjelm, E., Holmberg, M., Auvinen, MK., Berggren, K., Grandin-Jarl, B., Johnson, U., Wikström, S., Friman, G. *Bartonella* spp. seroprevalence in healthy Swedish blood donors. *Scand J Inf Dis*.2005;37:723-730
77. Marangoni, A., Moroni, A., Accardo, S., Cevenini, R. *Borrelia burgdorferi* Vlse antigen for the serological diagnosis of Lyme borreliosis. *Eur J Clin Infect Dis*. 2008;27:349-354
78. Marra, CM., Tantaló, LC., Sahi, SK., Maxwell, CL., Lukehart, SA. CXCL13 as a cerebrospinal fluid marker for neurosyphilis in HIV-infected patients with syphilis. *Sex Transm Dis*. 2010;37:283-7.
79. Marques, AR., Stock, F., Gill, V. Evaluation of a New Culture Medium for *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol*. 2000; 38(11): 4239–4241.
80. A:Marques, A., Brown, MR., Fleisher, TA. Natural killer cell counts are not different in patients with post-Lyme disease syndrome and controls. *Clinical and Vaccine Immunology* 16(8): 1249-1250, 2009
81. B:Marques, A., Brown, MR., Fleisher, TA. Authors reply. *Clin Vaccine Immunol*. 2009; 16: 1704–1706.
82. Miklossy, J., Kasas, S., Zurn, A.D., McCall, S., Yu, S., McGeer, P.L. Persisting atypical and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* and local inflammation in Lyme neuroborreliosis. *J Neuroinflamm* 2008;5:40
83. MMWR Weekly: *Notice to readers*: Caution regarding testing for Lyme disease. 2005;54(05):125
84. Mogilyansky, E., Chien Chang Loa, C.C., Adelson, M.E., Mordechai, E., Tilton R.C. Comparison of Western Immunoblotting and the C6 Lyme Antibody Test for Laboratory Detection of Lyme Disease *Clin Diagn Lab Immunol*. 2004 ;11: 924–929.
85. Moquelet, P. Histopathology of Lyme borreliosis. *Med Mal Infect*. 2007;37:189-193.
86. Mygland, A., Skarpaas, T., Ljøstad, U. Chronic polyneuropathy and Lyme disease. *Eur J Neurol* 2006;13:1213-15

87. Mygland, Å., Ljøstad, U., Fingerle, V., Rupprecht, T., Schmutzhard, E., Steiner, I. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliainfektionis. EFSN Guidelines/CME article. *Europ J Neurol* 2010;17:8-16.
88. Nardelli, DT., Callister, S M., Schell, RF. Lyme Arthritis: Current Concepts and a Change in Paradigm. *Clin Vaccine Immunol.* 2008;15:21–34
89. Nolte, O. Nucleic Acid Amplification Based Diagnostic of Lyme (Neuro-)borreliosis - Lost in the Jungle of Methods, Targets, and Assays? *Open Neurol J*, 2012; 6:129-39.
90. Nordberg, M. Tick-Borne Infections in Humans : Aspects of immunopathogenesis, diagnosis and co-infections with *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum*. Thesis. University of Linköping. 2012.
91. O'Connell, S. Recommendations for diagnosis and treatment of Lyme borreliosis. 2010 (http://www.aldf.com/pdf/ECCMID_Poster_4.22.10.pdf).
92. Oksi, J., Kalimo, H., Marttila, R.J., Marjamaki, M., Sonninen, P., Nikoskelainen, J., Viljanen, MK. Inflammatory brain changes in neuroborreliosis. A report on three patients and review of literature. *Brain.* 1996;119:2143-21540
93. Oksi, J., Seppala, I.J., Hytonen, J. Lymen borreliosin diagnostiikka ja hoito. *Duodecim* 2008;124:1483-91.
94. Phillips, S E., Mattman, L H.-, Hulinska, D., Mouyad, H. A proposal for the reliable culture of *Borrelia burgdorferi* from patients with chronic Lyme disease, even from those previously aggressively treated. *Infection* 1998;26:364–367.
95. Rauter, C., Hartung, T. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Europe: a metaanalysis. *Appl Environm Microbiol.* 2005;71:7203-7216
96. Rauter, C., Mueller, M., Diterich, I., Zeller., S., Hassler, D., Meergans, T., Hartung, T. Critical evaluation of urine-based PCR assay for diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2005;12:910-917.
97. Referensmetodik för laboratoriediagnostik vid kliniskt mikrobiologiska laboratorier (<http://www.referensmetodik.smi.se/w/Borrelia>).
98. Referensmetodik för diagnostic vid kliniskt mikrobiologiska laboratorier: CNS-infektioner-metoder för evaluering av specifikt immunsvar (http://www.referensmetodik.smi.se/w/CNS-infektioner-metoder_f%C3%B6r_evaluering_av_specifikt_immunsvar)
99. Reiber, H., Lange, P. Quantitation of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: sensitive and specific detection of antibody synthesis in brain. *Clin Chem* 1991;37:1153-1160
100. Reiber, H., Peter, J. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluations programs. *J Neurol Sci.* 2001; 184:101-122.
101. Rizzoli, A., Hauffe, HC., Carpi, G., Vourc'h, GI., Neteler, M., Rosà, R. Lyme borreliosis in Europe. Review articles. *Eurosurveillance*, 2011;16, 07 July
102. Robertson, J., Guy, E., Andrews, N., Wilske, B., Anda, P., Granstrom, M., Hauser, U., Moosmann, Y., Sambri, V., Schellekens, J., Stanek, G., Gray, J. A European multicenter study of immunoblotting in serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J.Clin.Microbiol.* 2000;38:2097-102.
103. Rupprecht, TA., Pfister, HW., Angele, B., Kastenbauer, S., Wilske, B., Koedel, U. The chemokine CXCL13 (BLC): a putative diagnostic marker for neuroborreliainfektionis. *Neurology* 2005;65:448-450
104. Rupprecht,TA., Plate,A., Adam,M., Wick,M., Kastenbauer,S., Schmidt,C., Klein,M., Pfister,H_W., Koedel.U. The chemokine CXCL13 is a key regulator of B cell recruitment to the cerebrospinal fluid in acute Lyme neuroborreliosis. *J Neuroinflammation.* 2009;6:42
105. Samuels, DS., Radolf, JD. *Borrelia* molecular biology, host interaction and pathogenesis, Caister Academic Press, UK 2010.

106. Sapi, E., Kaur, N., Anyanwu, S., Luecke, DF., Datar, A., Patel, S., Rossi, M., Stricker, RB.. Evaluation of in-vitro antibiotic susceptibility of different morphological forms of *Borrelia burgdorferi*. [Infection and Drug Resistance](#). 2011;4: 97 – 113
107. Sapi, E., Pabbati, N., Datar, A., Davies, EM., Rattelle, A., Kuo, BA. "[Improved Culture Conditions for the Growth and Detection of Borrelia from Human Serum](#)". *Int J of Med Sci*. 2013;10: 362-376
108. Schmidt, C., Plate, A., Angele, B., Pfister, HW., Wick, M., Koedel, U., Rupprecht, TA. A prospective study on the role of CXCL13 in Lyme neuroborreliosis. *Neurology*. 2011;76:1051-1058.
109. Schmutzhard, E. Multiple sclerosis and Lyme borreliosis. *Wien Klin Wochenschr* (2002) 114/13–14: 539–543
110. Schoenstadt, A. Lyme disease transmission. 2009. <http://lyme-disease.emedtv.com/lyme-disease/lyme-disease-transmission.html>
111. Schuijt, TJ., Hovius, JWR., van Burgel, ND., Ramamoorthi, N., Fikrig, E., van Dam, AP. The tick salivary protein Salp 15 inhibits the killing of serum-sensitive *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates. *Infect. Immun*.2008;76:2888-2894
112. Second expert consultation on tick-borne diseases with emphasis on borreliainfektionBorreliainfektionis and tick-borne encephalitis. Stockholm, Sweden, 22-23 November 2011. ECDC, Meeting report. [tick-borne-diseases-meeting-report.pdf](#)
113. Seriburi, V., Ndukwe, N., Chang, Z., Cox, ME., Wormser, GP. High frequency of false IgM immunoblots for *Borrelia burgdorferi* in clinical practice. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:1236-1240.
114. Severinsson, K., Jaensen, TG., Pettersson J, Falk K, Nilsson, K. Detection and prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia helvetica* in *Ixodes ricinus* ticks in seven study areas in Sweden. *Parasit Vectors*. 2010;3:66
115. Sigal, LH., Williams, S. [A monoclonal antibody to Borrelia burgdorferi flagellin modifies neuroblastoma cell neuritogenesis in vitro: a possible role for autoimmunity in the neuropathy of Lyme disease](#). *Infect Immun*. 1997;65(5):1722-8.
116. Sillanpää, H., Skogman, BH., Sarvas, H., Seppälä, IJT., Lahdenne, P. Cerebrospinal fluid chemokine CXCL13 in the diagnosis of neuroborreliosis in children. *Scand J Infect Dis* (2013) PMID 23521134
117. Societe de Pathologie Infectieuse de Langue Francaise 2006: 16e Conference de Consensus en therapeutique anti-infectieuse : Borreliainfektione de Lyme : demarches diagnostiques, therapeutiques et preventiveshttp://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/consensus/2006-lyme-long.pdf
118. Speelman, P., de Jongh, BM., Wolfs, TF., Wittenberg. CBO Richtlijn Borreliainfektione 2004. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004;148:659-63
119. Stanek, G., Fingerle, V., Hunfeld, K.-P., Jaulhac, B., Kaiser, R., Krause, A., Kristoferitsch, W., O'Connell, S., Ornstein, K., Strle, F., Gray, J. Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:69-79.
120. Steere, AC., McHugh, G., Damle, N., Sikand, VK. Prospective study of serologic tests for Lyme disease. *J Clin Infect Dis*. 2008;47:188-95
121. Stricker R.B. Winger EE. Decreased CD57 lymphocyte subset in patients with chronic Lyme disease. *Immunol Lett* 1, 76 (1) (2001)
122. Strle, F., Ružić-Sabljić, E., Cimperman J., Lotrič-Furlan, S., Maraspin, V. Comparison of Findings for Patients with *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii* Isolated from Cerebrospinal Fluid. *Clin Infect Dis* 2006;43:704-710

123. Tilton, R., Barden, D., Sand, M. Culture of *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol* 2001;39:2747
124. Tjernberg, I., Henningsson, AJ., Eliasson, I., Forsberg, P., Ernerudh, J. Diagnostic performance of cerebro spinal fluid chemokine CXCL 13 and antibodies to the C6-peptide in Lyme neuroborreliosis. *J Infect.* 2011;62:149-158
125. Tjernberg, I., Kruger, G., Eliasson, I. C6 peptide ELISA test in the serodiagnosis of Lyme borreliosis in Sweden. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007;26:37-42
- 126.** Tjernberg, I., Schön, T., Ernerudh, J., Carlsson Wistedt, A., Forsberg, P., Eliasson, I. C6-peptide serology as diagnostic tool in neuroborreliosis. *APMIS* 2008: 116:393-9
127. Tjernberg, I. Proposed diagnostic routines. In *Laboratory diagnosis of Lyme borreliosis*. Thesis. University of Linköping. 2011, p 81.
128. Valentine-Thon, E., Ilsemann, K., Sandkap, M. A novel transformation test (LTT-MELISA) for Lyme borreliosis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007;57:27-34
129. Weinstein, A. Laboratory testing for Lyme disease: Time for a change? *Clin Infect Dis.* 2008;47:196-97
130. Welc-Faleciak, R., Hildebrandt, A., Sinski, E. 2010. Co-infection with *Borrelia* species and other tick-borne pathogens in humans: two cases from Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* 17, 309–13.
131. Welinder-Olsson, C., Kjellin, E., Vaht, K., Jacobsson, S., Wennerås, C. 2010. First case of Human "Candidatus *Neoehrlichia mikurensis*" in a Febrile Patient with Chronic Lymphocytic Leukemia. *Journal of Clinical Microbiology.* 2010. 48(5):1956–1959.
132. Widhe, M., Jarefors, S., Ekerfelt, C., Vrethem, M., Bergstrom, S., Forsberg, P., Ernerudh, J. *Borrelia* -Specific Interferon- γ and Interleukin-4 Secretion in Cerebrospinal Fluid and Blood during Lyme borreliosis in Humans: Association with Clinical Outcome *JID* 2004:189
133. Wilhelmsson, P., Fryland, L., Börjesson, S., Nordgren, J., Bergström, S., Ernerudh, J., Forsberg, P., Lindgren, P-E. Prevalence and Diversity of *Borrelia* species in ticks that have bitten humans in Sweden. *J Clin Microbiol.* 2010;48:4169-4176
134. Wilske, B. Epidemiology and diagnosis of Lyme borreliosis. *Ann Med.* 2005;37:568-79.
135. Wilske, B., Fingerle V. Lyme borreliosis Diagnostik. *Mikrobiologie* 2005; 15:209-220
136. Wilske, B., Fingerle, V., Schulte-Spechtel, U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. *FEMS Immun Med Microbiol* 2007;49:13-21.
137. Wormser, G P., Horowitz, H W., Nowakowski, J., McKenna, D., Dumler, J S., Varde, S., Schwartz, I., Carbonaro, C., Aguero-Rosenfeld, M. Positive Lyme disease serology in patients with clinical and laboratory evidence of human granulocytic ehrlichiosis. *Am J Clin Pathol.* 1997;107:142–147.
138. Wormser, GP., Bittker, S., Cooper, D., Nowakowski, J., Nadelman, RB., Pavia, C. Yield of large-volume blood cultures in patients with early Lyme disease. *J Infect Dis.* 2011;184:1070-1072.
139. Wormser, GP., Ramanathan, R., Nowakowski, J., McKenna, D., Holmgren, D., Visintainer, P., Dornbush, R., Singh, B., Nadelman, RB. Duration of antibiotic treatment for early Lyme disease. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Annals of Internal Medicine.* 2003;138:697-704
140. Yrjänäinen, H. *Borrelia burgdorferi* evades the effects of ceftriaxone treatment in a mouse model of Lyme borreliosis. Department of Medical Microbiology and Immunology, Thesis. University of Turku, Turku, Finland. 2009
- 141.** Zoschke, DC., Skemp, AA., Defosse, DA. Lymphoproliferative Responses to *Borrelia burgdorferi* in Lyme Disease. *Ann Intern Med.* 1991;114:285-289

Bilaga 1 Rekommendationer presenterade av EUCALB 2012

ESGBOR:s webbsida EUCALB (<http://www.EUCALB.com/>) som lanserades 1997 ger detaljerad information om aktuell kunskap om BI, bland annat beträffande mikroorganism, klinik, diagnostik och behandling.

Diagnostik: **Odling** är ”gold standard”, men på grund av låg känslighet utesluter ett negativt resultat inte en aktiv infektion. Odling från hudbiopsier har högst känslighet (EM och ACA, 60–80 procent). Csv-odlingar är positiva i upp till 17 procent. Odlingar från blod, synovialvätska och hjärtvävnad rekommenderas inte på grund av metodens låga känslighet. Specifika och känsliga **PCR-metoder** som kan identifiera de olika genospecies av Bb finns tillgängliga. De kan användas vid BI-artrit, EM eller ACA. Motsägande resultat beträffande urin-PCR i olika studier har medfört att metoden inte kan rekommenderas som rutin vid sådana prov.

Serologi: I vissa länder i Europa används enbart ELISA med en specificitet över 95 procent för att påvisa specifika antikroppar mot Bb. I andra europeiska länder och i USA följer man en tvåstegsstrategi med en ELISA-screening (minst 90 procent specificitet) som följs av verifierande immunblot med över 95 procent specificitet vid positiv eller oklar screening. Negativ serologi utesluter inte BI i ett tidigt skede. På motsvarande sätt verifierar inte förekomsten av antikroppar sjukdomen vid oklar symptomatologi. Parade sera med 3–6 veckors mellanrum för att påvisa serokonversion rekommenderas vid misstänkt tidig NB där intratekal antikropsproduktion inte har kunnat påvisas vid den initiala provtagningen. Validering av kommersiella serologiska tester på det enskilda laboratoriet bör även omfatta en utvärdering av korsreaktivitet mot syfilis, EBV, CMV och reumatoid faktor (falskt positiv IgM-reaktion).

Behandling: EUCALB anger att de flesta infektionerna är asymptomatiska och självbegränsande, vilket innebär att individer med påvisade antikroppar men utan specifika symptom inte behöver behandlas. För patienter med kliniska symptom ska behandling ges för att undvika att sjukdomen utvecklas vidare.

Urvalet av antibiotika och rekommendationer om behandlingstidens längd varierar mellan olika länder. Vilken behandling som rekommenderas beror på typen av klinisk manifestation. Rekommenderade antibiotika är beta-laktamer (penicillin G, penicillin V, amoxicillin, cefuroxim eller ceftriaxon), makrolider (azitromycin) och tetracykliner (doxycyklin) under 5 (azitromycin) – 21 dagar. Behandlingstider längre än 21 dagar saknar stöd i kontrollerade studier, men används ändå i vissa fall. Generellt gäller att korta behandlingstider är att föredra (Klempner och medarbetare, 2001, Wormser och medarbetare, 2011). Vissa patienter svarar inte tillfredsställande på antibiotika, särskilt om icke-rekommenderade makrolider som erytromycin används. Symptom från nervsystemet (PLSD) och leder i form av synoviter (ledinflammationer) kan kvarstå i flera månader efter en genomgången behandling.

Bilaga 1b Recommendations for diagnosis and treatment of Lyme borreliosis: a comparison of guidelines and consensus papers from specialist societies and expert groups in Europe and North America

S. O'Connell* on behalf of the European Union Concerted Action on borrelial infections (EUCALB)

Objective and Background: The European Union Concerted Action on Lyme borreliosis (EUCALB) initiative promotes borrelia infection (BI) research and evidence-based clinical practice through multi-disciplinary collaborations and a highly-regarded, frequently updated website. Its clinical case definitions for BI were published in 1997 and an updated version is to be published. EUCALB's current programme includes a review of diagnosis and treatment recommendations in Europe, and the evidence on which they are based.

The Infectious Diseases Society of America published updated guidelines for BI in 2006. There has since been considerable public dispute internationally regarding BI diagnostic criteria and treatment duration, particularly for patients with persistent symptoms following standard treatment. Some patient support groups and a minority of physicians in North America and Europe are very active in promoting nonspecific diagnostic criteria and prolonged or multiple repeated antibiotic courses. There is significant evidence that some patients have been seriously harmed by these practices, prompting this EUCALB review.

Method: EUCALB participants collated diagnostic and treatment guidelines prepared independently by European specialist societies and expert groups.

Guidelines, including those from the Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, the Netherlands, Norway, Poland, Slovenia, Sweden and Switzerland were evaluated and compared with respect to diagnostic criteria and treatment recommendations (antibiotic agents, dosages and durations) for erythema migrans, neuroborreliosis, Lyme arthritis and persisting symptoms. They were also compared to those of the IDSA and the American Academy of Neurology.

Results: Recommendations and evidence bases of all of the guidelines will be tabulated to permit easy detailed comparison. There are great similarities in diagnostic criteria and antibiotic choice, with some minor differences in dosing and treatment duration, mainly depending on clinical indication. Doxycycline and amoxicillin are the most frequently recommended oral antibiotics; ceftriaxone is the most commonly recommended parenteral agent. The most common treatment durations range from 10-30 days. Notably, none of these guidelines recommends very prolonged treatment courses for patients with persisting symptoms.

Conclusion: There is overall very good concordance between these independently developed, evidence-based European and American guidelines.

Hela postern med en översikt över de elva ländernas rekommendationer i tabellform: (http://www.aldf.com/pdf/ECCMID_Poster_4.22.10.pdf)

Bilaga 2 Rapport från expertkonferens på ECDC i november 2011

Konferensen “Second expert consultation on tick-borne diseases with emphasis on borreliosis and tick-borne encephalitis” hölls i Stockholm den 22-23 November 2011 (ECDC [tick-borne-diseases-meeting-report.pdf](#)). På mötet deltog experter inom området fästingburna sjukdomar. Syftet med mötet var att försöka komma överens om en gemensam falldefinition och att identifiera kvarstående problem inom området. Enligt mötesrapporten har 23 länder i Europa system för övervakning av BI. Sexton länder har obligatorisk rapportering och ytterligare fem har frivillig sådan. Jämförbarheten av rapporterade data är oklar eftersom länderna har olika kriterier för anmälan och det finns ingen central övervakning på EU-nivå i dagsläget. Falldefinitioner saknas i vissa länder och laboratoriediagnostiken är inte standardiserad inom EU, vilket sammantaget medför att epidemiologin på europisk nivå inte är känd.

Mötet konstaterade att övervakning (surveillance) inom EU visserligen vore värdefullt, men att det är oklart om det bäst sker genom obligatorisk rapportering, riktade kartläggningar (surveys), genom sentinelrapportering eller genom frivillig rapportering. Det finns således ingen samstämmighet inom EU om den lämpligaste metodiken för övervakning. Orsaken är att BI har en mångfacetterad symptomatologi, att prevalensen i länderna är olika och varierar, samt att preventiva åtgärder enbart är riktade och sker i form av råd till enskilda individer. Vaccin mot BI saknas, men prövningar av ett nytt vaccin planeras i Europa.

Mötet drog slutsatsen att ett eventuellt övervakningssystem endast bör omfatta NB, vilket bland annat kan motiveras av att diagnosen NB kan ställas med stor säkerhet med tillgänglig laboriemetodik. Dessutom kan sjukdomen förhindras genom tidig antibiotikabehandling av EM. Man konstaterade dock att NB endast utgör toppen på isberget och att den verkliga sjukdomsbördan inte blir känd om övervakningen endast omfattar NB. Rapportering av alla EM skulle ge en mer detaljerad förståelse för sjukdomsbördan. Eventuella sentinelsystem måste vara täta, det vill säga engagera många vårdcentraler, eftersom sjukdomen är relativt ovanlig.

Mötet föreslog följande åtgärder:

Alla länder som har övervakningssystem för BI bör inkludera NB för att möjliggöra en någorlunda säker jämförelse mellan länderna.

En falldefinition för övervakning av NB bör tas fram.

En frivillig NB-rapportering bör stödjas av ECDC. Detta ska utredas.

En evidensbaserad vägledning (guidance) som baseras på EUCALB och EFNS bör utvecklas och sedan omsättas till kommunikationspaket för läkare och laboratorier.

De flesta europeiska länder verkar ha utvecklat nationella falldefinitioner och rekommendationer för diagnostik och behandling av BI i dess olika stadier. Däremot saknas enhetliga officiella rekommendationer, vilket innebär att diagnostik och behandling skiljer sig mellan länderna.

Mötet var överens om att de nuvarande serologiska testerna är rimligt effektiva, men att en biobank bör inrättas för att möjliggöra en oberoende utvärdering av nya tester. EU bör också ordna ett oberoende schema för kvalitetssäkring av serologi och PCR. Mötet efterlyste också en standardiserad testprocedur för diagnostik som bör utvecklas.

Enligt mötet kan två nyligen publicerade artiklar i *Clin Microbiol Infect* (2011) och *Europ J Neurol* (2010), se nedan, med förslag till europeiska falldefinitioner avseende klinik och laborierediagnostik av BI och NB, utgöra en bas vid utvecklingen av sådana officiella europeiska vägledningar. Samma förslag har också publicerats på ESGBOR:s websida EUCALB (<http://www.EUCALB.com/>). Innehållet i artiklarna refereras i **Bilaga 3a**. Falldefinitionerna som föreslås visas i **bilagorna 3b och 3c**.

I linje med mötets rekommendationer gav ECDC i april 2012 RIVM i Nederländerna i uppdrag att genomföra ett projekt med beteckningen *Critical appraisal of the reliability of laboratory test for Lyme borreliosis in the EU*, under ledning av Hein Sprong. Projektet ska granska den vetenskapliga evidensen bakom dagens laborierediagnostik av BI som används och rekommenderas inom EU, med fokus på serologiska metoder och LTT. ECDC anser att frågan om anmälningsskyldighet av NB för närvarande får stå tillbaka för en kartläggning av diagnostiken och utvecklingen av europeiska falldefinitioner.

För EUCALB:s (**Bilaga 1a** och <http://www.EUCALB.com/>) räkning presenterade Susanne O'Connell (HPA, Southampton University Hospital NHS Trust) en poster på ECCMID-mötet 2010 (**Bilaga 1b**): *Recommendations for diagnosis and treatment of Lyme borreliosis* (http://www.aldf.com/pdf/ECCMID_Poster_4.22.10.pdf). Postern beskrev riktlinjer och konsensusdokument från elva europeiska länder, samt amerikanska riktlinjer från IDSA och American Academy of Neurology, med syftet att jämföra de europeiska ländernas officiella praxis (**Bilaga 1b**). Enligt den sammanställningen finns det en relativt stor samstämmighet inom Europa, men också betydande skillnader mellan länderna när det gäller hanteringen av BI. Exempelvis Sverige och Danmark rekommenderar penicillin-V, dessutom med relativt korta behandlingstider, där andra använder amoxicillin. Inget land rekommenderar antibiotikabehandling av PLDS.

Antibiotikaprofylax rekommenderas inte generellt i samband med fästingbett, eftersom risken för att utveckla en borreliainfektion är liten (få fästingar bär på smittan), särskilt om fästingen avlägsnas inom kort tid efter bettet.

Bilaga 3a Föreslagna publikationer som bas för europeiska riktlinjer

1. Stanek, G., Fingerle, V., Hunfeld, K.-P., Jaulhac, B., Kaiser, R., Krause, A., Kristoferitsch, W., O'Connell, S., Ornstein, K., Strle, F., Gray, J. Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:69-79. Författarna är elva experter från sju europeiska länder (Österrike, Tyskland, Frankrike, Storbritannien, Sverige, Slovenien och Irland) som alla är medlemmar av ESGBOR. Litteratursökningen omfattade bland annat Medline, Scopus och Web of Science, samt ett antal artiklar som publicerats före 1996 och ansågs ha särskilt stor betydelse i sammanhanget. Litteraturen klassificerades utifrån kvaliteten på de statistiska analyserna (avser antalet inkluderade patienter), eventuell randomisering, tolkningsbara resultat från fallrapporter och slutligen uppfattningar av exempelvis relevanta auktoriteter, kommittéer etc.

2. Mygland, Å., Ljostad, U., Fingerle, V., Rupprecht, T., Schmutzhard, E., Steiner, I. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborrelia infections. *EFNS Guidelines/CME article. Europ J Neurol* 2010;17:8-16. Rekommendationerna i artikeln representerar den officiella policyn från European Federation of Neurological Societies som år 2012 hade 44 nationella förbund som medlemmar. Artikeln är författad av sex experter inom området NB. Analysen bygger på data som samlats in via MEDLINE, EMBASE och Chocrane databaser, inklusive American Academy of Neurology och IDSA. EFNS riktlinjer för evidens kategorisering användes.

Föreslagna falldefinitioner (klinik och laboratoriediagnostik). Artiklarnas falldefinitioner beskriver den kliniska presentationen och laboratoriediagnostik (serologi för påvisande av antikroppar mot Bb, eventuell histologi vid lymfocytom och ACA, samt pleocytos (ökat antal vita blodkroppar) i csv vid NB. Eventuella ytterligare laborietester kan användas som stöd för diagnosen (odlingspåvisning, molekylärbiolegisk påvisning av bakteriellt DNA med PCR och histologi). Artikeln med EFNS riktlinjer beskriver också översiktligt antibiotikaterapi av NB utifrån tolv publikationer (detta berörs inte mer i denna framställning).

Klinik: I den första artikeln föreslås falldefinitionerna för kliniska manifestationer av BI (EM, lymfocytom, ACA, NB, artrit, kardit och ögonaffektion). I den andra artikeln föreslås en mer detaljerad falldefinition för tidig och sen (kronisk) NB, den senare med en infektion som varat över sex månader. Den formen förekommer i mer än fem procent av NB-fallen. Falldefinitionerna beskrivs i **bilagorna 3b och 3c.**

För en verifierad NB-diagnos krävs att samtliga tre definierade kriterier är uppfyllda: kliniska symptom som är förenliga med NB utan någon annan möjlig förklaring, pleocytos i csv och produktion av specifika antikroppar mot Bb i csv.

Vid misstänkt NB räcker det med två av dessa kriterier. Till den kliniska bilden som är förenlig med NB hör symptom från perifera nerver i form av smärtsam meningoneuroradikulit (Garin-Bujadoux-Bannwarth-syndrom), pareser och huvudvärk. Hos barn är facialispares vanlig. I det centrala nervsystemet (CNS) kan myeliter och encefalit uppstå, vilket dock är ovanligt. Symptom som tyder på engagemang av CNS kan vara konfusion, ataxi, hemipares, Parkinsonliknande symptom och kärlinflammationer i hjärnan som möjligen kan orsaka stroke.

Sen (kronisk) NB är ett ovanligt tillstånd med objektiva tecken till kvarstående infektion i över sex månader efter symptomdebuten. Symptom kan förekomma från perifera nervsystemet, exempelvis polyneuropati, ofta vid samtidig ACA. Symptom från CNS kan vara vaskulit och progressiv borreliaencefalit. Vissa borreliainfektioner läker mycket långsamt trots terapi. Som resttillstånd efter behandlad NB ses ibland kvarstående pareser. Risken för detta ökar med en sent insatt antibiotikabehandling.

Laboratoriediagnostik: Av de laboratoriediagnostiska metoderna som föreslås i falldefinitionerna anges odling från vävnad som "gold standard", även om känsligheten är låg: mindre än 1–70 procent, beroende på infektionens karaktär. Serologiskt påvisande av antikroppar, framför allt av IgG-klass, har en godtagbar känslighet och specificitet om provtagningen följer de indikationer som anges för de olika kliniska stadierna i de föreslagna falldefinitionerna (**bilagorna 3b och 3c**). Analyserna utförs med initial ELISA-screening, följt av ett verifierande immunologisk test (Western blot, WB) om screeningstestet utfallit positivt eller om resultatet är oklart. Gruppen anser att WB fortfarande är värdefullt. Förekomsten av flera genospecies av Bb i Europa med olika immundominanta antigen, kopplade till en möjligen något lägre specificitet i screeningstesten, motiverar en komplettering med WB (Wilske och medarbetare 2007). Samtidigt varnar man för okritiska tolkningskriterier av WB-resultat som kan leda till felaktiga diagnoser (Hunfeldt och medarbetare 1999). För att säkerställa NB-diagnosen krävs att prov från csv (ryggmärgsvätska) uppvisar pleocytos (ett ökat antal inflammatoriska celler) och att ett serologiskt prov påvisat ett specifikt csv/serum antikropsindex, vilket är tecken på en intratekal produktion (produktion av antikroppar riktade mot borrelia bakterier i ryggmärgsvätskan). Molekylärbiologiska metoder (PCR) är inte standardiserade, men PCR kan vara en hjälp vid prov från vävnader. Det ska inte användas på urinprov eftersom risken för falska positiva analysresultat är stor.

Post-Lyme disease syndrome (PLDS): I artikeln från EFNS definieras begreppet Post-Lyme disease syndrome (PLDS, ingen falldefinition föreslås) som kvarstående symptom mer än sex månader efter standardbehandling av NB, i form av trötthet, parestesier, sömnsvårigheter, kognitiva störningar, artralgi och myalgier. (Detta tillstånd drabbar 5–25 procent av patienterna enligt svenska Läkemedelsverket 2009). Flera studier och översikter (Klempner och medarbetare 2001, Fallon och medarbetare 2008, Krupp och medarbetare, 2003, Klempner, 2002, Wormser och medarbetare, 2003, Feder och medarbetare, 2007) talar för att långtidsbehandling med antibiotika (ceftriaxon + doxycyklin) av PLDS saknar effekt utöver placebo, men den kan eventuellt reducera trötthet. Avsaknaden av effekt vid behandling med antibiotika och objektiva fynd som csv-pleocytos har

lett till uppfattningen att PLDS inte är tecken på en kvarvarande aktiv infektion. I Europa förs ofta andra åsikter fram beträffande definition och handläggning av PLDS, vilket innebär att konsensus inte kan anses föreligga..

Bilaga 3b Föreslagna europeiska falldefinitioner för borreliainfektion

Från Stanek, G., Fingerle, V., Hunfeld, K.-P., Jaulhac, B., Kaiser, R., Krause, A., Kristoferitsch, W., O'Connell, S., Ornstein, K., Strle, F., Gray, J. Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. Clin Microbiol Infect. 2011;17:69-79.

Table 1. Summary of clinical case definitions for borrelia infection.

Term	Clinical case definition	Laboratory evidence: essential	Laboratory/clinical evidence: supporting
Erythema migrans	Expanding red or bluish-red patch (≥ 5 cm in diameter) ^a , with or without central clearing. Advancing edge typically distinct, often intensely coloured, not markedly elevated.	None	Detection of <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. by culture and/or PCR from skin biopsy.
Borrelial lymphocytoma (rare)	Painless bluish-red nodule or plaque, usually on ear lobe, ear helix, nipple or scrotum; more frequent in children (especially on ear) than in adults.	Seroconversion or positive serology ^b Histology in unclear cases	Histology. Detection of <i>B. burgdorferi</i> s.l. by culture and/or PCR from skin biopsy. Recent or concomitant EM.
Acrodermatitis chronica atrophicans	Long-standing red or bluish-red lesions, usually on the extensor surfaces of extremities. Initial doughy swelling. Lesions eventually become atrophic. Possible skin induration and fibroid nodules over bony prominences.	High level of specific serum IgG antibodies	Histology. Detection of <i>B. burgdorferi</i> s.l. by culture and/or PCR from skin biopsy.
Lyme neuroborreliosis	In adults mainly meningo-radiculitis, meningitis; rarely encephalitis, myelitis; very rarely cerebral vasculitis. In children mainly meningitis and facial palsy.	Pleocytosis and demonstration of intrathecal specific antibody synthesis ^c	Detection of <i>B. burgdorferi</i> s.l. by culture and/or PCR from CSF. Intrathecal synthesis of total IgM, and/or IgG and/or IgA. Specific serum antibodies. Recent or concomitant EM.
Lyme arthritis	Recurrent attacks or persisting objective joint swelling in one or a few large joints. Alternative explanations must be excluded.	Specific serum IgG antibodies, usually in high concentrations	Synovial fluid analysis. Detection of <i>B. burgdorferi</i> s.l. by PCR and/or culture from synovial fluid and/or tissue.
Lyme carditis (rare)	Acute onset of atrio-ventricular (I–III) conduction disturbances, rhythm disturbances, sometimes myocarditis or pancarditis. Alternative explanations must be excluded	Specific serum antibodies	Detection of <i>B. burgdorferi</i> s.l. by culture and/or PCR from endomyocardial biopsy. Recent or concomitant erythema migrans and/or neurologic disorders.
Ocular manifestations (rare)	Conjunctivitis, uveitis, papillitis, episcleritis, keratitis.	Specific serum antibodies	Recent or concomitant Lyme borreliosis manifestations. Detection of <i>B. burgdorferi</i> s.l. by culture and/or PCR from ocular fluid.

^aIf <5 cm in diameter a history of tick-bite, a delay in appearance (after the tick bite) of at least 2 days and an expanding rash at the site of the tick-bite is required.

^bas a rule, initial and follow up samples have to be tested in parallel in order to avoid changes by inter-assay variation.

^cIn early cases intrathecally produced specific antibodies may still be absent.

Bilaga 3c Föreslagna europeiska falldefinitioner för neuroborrelios

Från Mygland, Å., Ljostad, U., Fingerle, V., Rupprecht, T., Schmutzhard, E., Steiner, I. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. EFSN Guidelines/CME article. *Europ J Neurol* 2010;17:8-16.

Table 2 Suggested case definitions for Lyme neuroborreliosis (LNB)

Definite neuroborreliosis^a All three criteria fulfilled	Possible neuroborreliosis^b Two criteria fulfilled
Neurological symptoms suggestive of LNB without other obvious reasons	
Cerebrospinal fluid pleocytosis	
Intrathecal <i>Bb</i> antibody production	

^aThese criteria apply to all subclasses of LNB except for late LNB with polyneuropathy where the following should be fulfilled for definite diagnosis: (I) peripheral neuropathy (II) acrodermatitis chronica atrophicans (III) *Bb*-specific antibodies in serum.

^bIf criteria III is lacking; after a duration of 6 weeks, there have to be found *Bb*-specific IgG antibodies in the serum.

Förkortningar

AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftliche Medizinischen Fachgesellschaften
Bb	Borrelia burgdorferi sensu lato (B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii, B. garinii)
BI	Borreliainfektion (engelska: Lyme borreliosis, Lyme disease, den senare beteckningen i USA)
CDC	Center for Disease Control, USA
Csv	Cerebrospinalvätska (ryggmärgsvätska)
CXCL13	C-X-C motif ligand 13
DBG	Deutsche Borrelien-Gesellschaft
ECCMID	European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease (årlig kongress i samverkan med ESCMID)
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EFSN	European Federation of Neurological Societies
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EM	Erytema migrans
EQUALIS	External Quality Assurance in Laboratory Medicine in Sweden
ESCMID	European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
ESGBOR	study group on borrelia infection inom ESCMID
EUCALB	European concerted action on borrelia infection. Websida (http://www.EUCALB.com) som drivs av ESGBOR
HPA	Health Protection Agency
IDSA	Infectious Diseases Society of America
ILADS	The International Lyme and associated diseases society
LTT	Lymfocyttransformationstest
MMWR	Morbidity and Mortality Weekly Report
NB	Neuroborreliainfektion
PCR	Polymerase chain reaction
PLDS	Post-Lyme disease syndrome
RB	Round bodies (sfäroplaster, L-former, cystor)

RIVM Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven,
Nederlândia

SBU Statens beredning för medicinsk utvärdering

Smi

SMITTSKYDDSinSTITUTET

Denna rapport kan beställas från:
Smittskyddsinstitutets beställningsservice
c/o Strömberg, 120 88 Stockholm.
Fax: 08-779 96 67
E-post: smittskyddsinstitutet@strd.se
Webbutik: www.smittskyddsinstitutet.se/publikationer

Publikationen kan även laddas ner från:
www.smittskyddsinstitutet.se/publikationer