

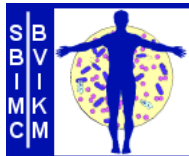
Werkgroep:

Leïla Belkhir, Bénédicte Delaere, Geert De Loof, Paul De Munter, Frédéric Frippiat, Frédérique Jacobs, Benoît Kabamba Mukadi, Patrick Lacor, Tinne Lernout, Koen Magerman, Sophie Quoilin, Hector Rodriguez-Villalobos, Camelia Rossi, Veroniek Saegeman, Steven Van Den Broucke, Dimitri Van der Linden, Yves Van Laethem, Erika Vlieghe, Dirk Vogelaers.

Gevalideerd door de Belgian Antibiotic Policy Coordination Committee (BAPCOC), de Belgische Vereniging voor Infectiologie en Klinische Microbiologie (BVIKM), de Koninklijke Belgische Vereniging van Reumatologie (KBVR), de Vlaamse Vereniging voor Neurologie (VVN), de Belgische Vereniging voor Interne Geneeskunde (BVIIG) en Domus Medica.

BAPCOC

Belgian Antibiotic Policy Coordination Committee



Société belge d'infectiologie et de microbiologie clinique

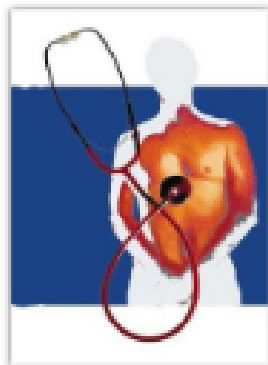
Belgische vereniging voor infectiologie en klinische microbiologie



Belgian Royal Society
for **Rheumatology**



VLAAMSE VERENIGING
VOOR NEUROLOGIE



Belgian Society of Internal Medicine

domus
medica

Contents

1. Transmissie en epidemiologie.....4

2. Preventie en profylaxe7

3. Klinische manifestaties8

 3.1 Reacties op een tekenbeet.....8

 3.2 Vroege gelokaliseerde Lyme-borreliose8

 3.2.1 Erythema migrans (EM).....8

 3.2.2 Borrelia-lymfocytoom.....9

 3.3 Vroege gedissemineerde Lyme-borreliose9

 3.3.1 Multiple erythema migrans9

 3.3.2 Vroege neuroborreliose.....9

 3.3.3 Carditis10

 3.4 Latere manifestaties van Lyme-borreliose10

 3.4.1 Lyme-artritis.....10

 3.4.2 Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA) of ziekte van Pick-Herxeimer10

 3.4.3 Late neuroborreliose11

 3.4.4 Post treatment Lyme disease syndrome (PTLDS)11

 3.4.5 Chronische ziekte van Lyme.....12

 3.5 Specifieke situaties12

 3.6 Toevallige vondst van een positieve serologie.....12

 3.7 Persisterende of nieuwe infectie.....13

 3.8 Klinische manifestaties bij kinderen13

4. Diagnostiek in functie van het klinisch beeld13

 4.1 Erythema migrans.....13

 4.2 Borrelia-lymfocytoom13

 4.3 Vroege neuroborreliose14

 4.4 Carditis14

 4.5 Lyme-artritis.....14

 4.6 Late neuroborreliose.....14

 4.7 Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA).....14

5. Behandeling15

 5.1 Erythema migrans.....15

 5.2 Vroege neuroborreliose16

 5.3 Late neuroborreliose.....16

 5.4 Lyme-artritis.....16

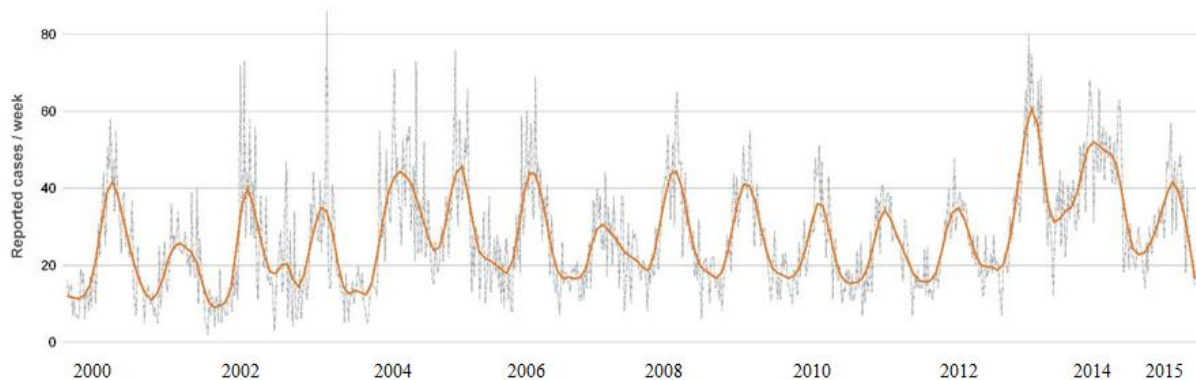
5.5	Carditis	17
5.6	ACA (en perifere polyneuropathie).....	17
5.7	PTLDS.....	17
6.	Diagnostische tests.....	18
6.1	Serologie.....	18
6.1.1	Enzyme-immunoassay (EIA) en immunoblot.....	18
6.2	Analyse van het CSV en intrathecale productie van antistoffen	19
6.3	Kweek en rechtstreeks onderzoek	19
6.4	PCR	19
6.5	Immunologische analyses.....	20
6.5.1	Lymphocyte transformation test (LTT)	20
6.5.2	Immunologische merkers	20
	REFERENTIES	21

1. Transmissie en epidemiologie

De bacteriën die verantwoordelijk zijn voor Lyme-borreliose, *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.) (meer specifiek *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. spielmanii*, *B. bavariensis* et *B. burgdorferi* sensu stricto, deze laatste is grotendeels aanwezig in de USA), **worden overgedragen op de mens door de beet van een geïnfecteerde teek van het complex *Ixodes ricinus*.** Men kan gebeten worden door een teek in elk stadium van haar ontwikkeling (larve, nimf, volwassen). Nochtans lijken de meerderheid van de besmettingen te wijten te zijn aan de beet van nimfen, die talrijker zijn en gemakkelijker onopgemerkt blijven (grootte < 2 mm). **Verschillende factoren beïnvloeden het risico op besmetting: de duur van de maaltijd van de teek op de gastheer** (als de teek binnen 12 tot 24 uur verwijderd wordt is de kans op besmetting klein), **de dichtheid van de teken in de omgeving, de prevalentie van besmetting met *Borrelia* bij de teken, alsook het gedrag van de gastheer.**^{1, 2} Aangezien buitenactiviteiten frequenter voorkomen van de lente tot de herfst en nimfen maximaal actief zijn van maart tot oktober is het risico op besmetting ook groter in deze periode.

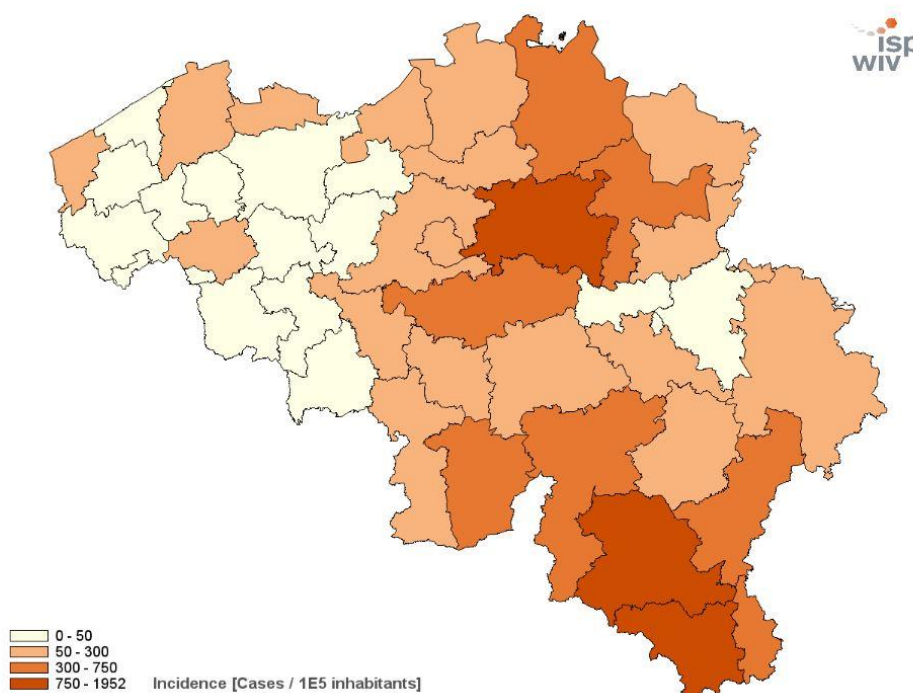
De surveillance van Lyme-borreliose in België is vooral gebaseerd op het aantal positieve serologische tests die gerapporteerd worden door het Nationaal referentiecentrum voor *Borrelia* en een netwerk van peillaboratoria, dat bestaat uit een veertigtal laboratoria verspreid over het hele land die goed zijn voor ongeveer de helft van de serologische tests uitgevoerd voor Lyme in België. **De epidemiologie van Lyme-borreliose vertoont een uitgesproken seizoensvariatie met elk jaar een stijging van het aantal gerapporteerde positieve serologische tests tussen juni en oktober** (Figuur 1). Het totaal aantal positieve serologie resultaten schommelt van jaar tot jaar als gevolg van verschillende factoren, zoals klimaatfactoren, die een invloed hebben op de hoeveelheid teken en de aanwezigheid van gastheren, en sensibilisatie van artsen (met als gevolg meer aanvragen voor serologie). Niettegenstaande deze jaarlijkse schommelingen, bleef het aantal gerapporteerde positieve resultaten voor *Borrelia burgdorferi* s.l. tussen 2000 en 2012 relatief stabiel. In 2013 en 2014 was er een belangrijke toename van het aantal uitgevoerde testen, met als gevolg hiervan ook een hoger aantal positieve resultaten. De positiviteitsratio (proportie positieve resultaten/totaal aantal testen) bleef stabiel. De toename van het aantal uitgevoerde testen is vermoedelijk toe te schrijven aan een verhoogde aandacht voor de ziekte, zowel bij de artsen als de algemene bevolking. In 2015 is het aantal positieve serologie resultaten opnieuw vergelijkbaar met jaren in de periode 2000 tot 2012.

Figuur 1: Evolutie van het aantal positieve serologische tests voor Borrelia uitgevoerd door de peillaboratoria tussen 2000 en 2015, België, WIV-ISP



Lyme-borreliose komt overal in België voor, maar vertoont regionale verschillen. De ziekte is zeldzaam aan de kust en komt meer voor in de provincie Vlaams-Brabant, de Kempen en de Ardennen (Figuur 2). Hoewel de geografische distributie gebaseerd is op de woonplaats van de patiënt en niet noodzakelijkerwijs een beeld geeft van de plaats van blootstelling, is de verspreiding consistent met de zones waar de meeste teken voorkomen.³

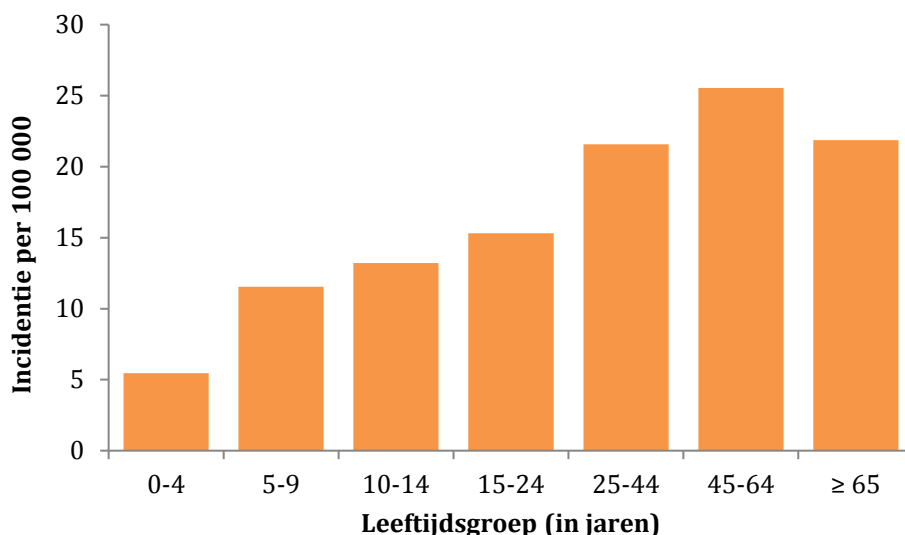
Figuur 2: Geografische spreiding van het aantal positieve serologische tests (per 100 000 inwoners) uitgevoerd door de peillaboratoria tussen 2000 en 2015, per administratieve zone in België, WIV-ISP



In de literatuur is de incidentie van Lyme-borreliose meestal hoger bij mannen dan bij vrouwen, omdat beroeps- en vrijetijdsactiviteiten in de buitenlucht vaker door mannen worden uitgeoefend. In België komt globaal genomen de infectie ongeveer evenveel voor bij vrouwen als bij mannen. Ook komen personen van alle leeftijden in contact met de bacterie, hoewel volwassenen, en vooral mensen van 45 tot 64 jaar, vaker een positief serologisch resultaat hebben (Figuur 3). Dit komt

overeen met een hogere kans op een blootstelling met toenemende leeftijd en het vaker uitoefenen van buitenactiviteiten (tuinieren, wandelen) bij personen in deze leeftijdsgroep.

Figuur 3: Gerapporteerde incidentie van positieve serologie resultaten voor *B. burgdorferi* s.l. per leeftijdsgroep in 2014, België, WIV-ISP

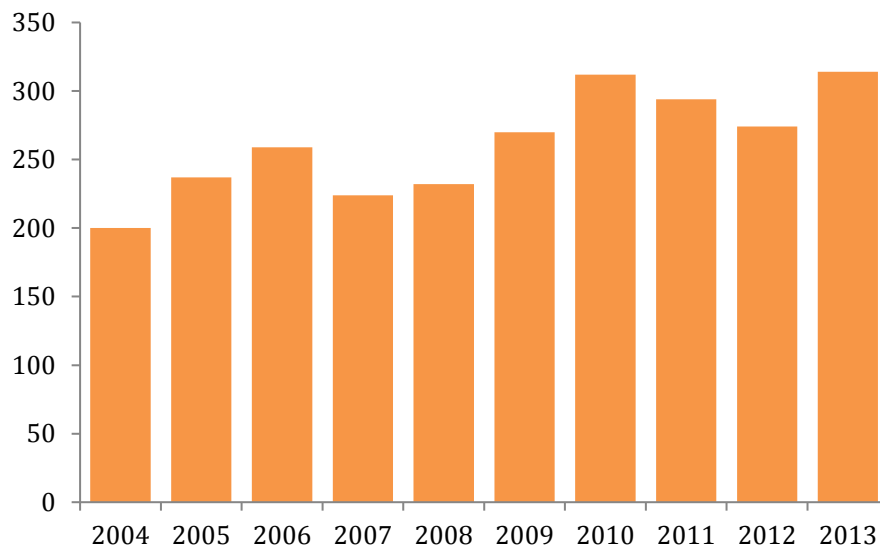


Om een vollediger beeld te krijgen van de epidemiologie van Lyme-borreliose in België wordt de surveillance door laboratoria aangevuld met een klinische surveillance, die gebaseerd is op een schatting van het aantal patiënten die een arts consulteren omwille van erythema migrans (punctuele studies), alsook een opvolging van het aantal ziekenhuisopnames voor Lyme-borreliose via de Minimale Ziekenhuisgegevens (MZG).

Zowel in 2003-2004 als 2008-2009 werden prospectieve studies uitgevoerd door een netwerk van huisartsenpeilpraktijken. Het aantal consultaties voor tekenbeten bedroeg 18.6 per 10 000 personen in beide studieperiodes. Het aantal consultaties voor erythema migrans bedroeg 8.3 per 10 000 personen in 2003-2004 en 9.0 per 10 000 personen in 2008-2009.⁴ Op basis van deze cijfers kunnen we schatten dat er tussen de 7 360 en 9 270 gevallen van erythema migrans waren in België in 2003 en tussen de 8 080 en 10 003 gevallen in 2009. Statistische analyse toont geen significant verschil tussen beide periodes. In januari 2015 werd gestart met een nieuwe studie, die tot minstens 2017 zal lopen. De voorlopige analyses voor 2015 tonen geen significante stijging van het aantal consultaties voor erythema migrans vergeleken met de voorgaande studies.

Van 2004 tot 2013 (laatst beschikbare data) werden er in België jaarlijks 200 à 300 patiënten gehospitaliseerd voor een gediagnosticeerde Lyme-borreliose infectie (met klinische manifestaties) (primaire diagnose, Figuur 4). Dit aantal vertoont een licht stijgende trend over de loop van de periode. De trend zal verder opgevolgd worden.

Figuur 4: Aantal hospitalisaties voor ziekte van Lyme (ICD9) van 2004 tot 2013, MZG, België, WIV-ISP



Aan de hand van de resultaten van de drie onafhankelijke informatiebronnen zijn er geen aanwijzingen dat de ziekte van Lyme in België een sterke toename vertoont (positieve serologie en klinische manifestaties).

2. Preventie en profylaxe

Bij buitenactiviteiten, meer bepaald tijdens de risicoperiode, is het aangewezen:

- bedekkende, bij voorkeur lichtgekleurde kledij te dragen (lange broek, kousen, lange mouwen...) zodat de teken beter zichtbaar zijn;
- de broekspijpen in de kousen te steken;
- een insectenwerend middel zoals DEET 30% aan te brengen op de blootgestelde huid met uitzondering van het gezicht en de handen (om de 2-3u opnieuw aanbrengen);
- bij afloop van de activiteit na te kijken of er teken aanwezig zijn op het lichaam;
- aanwezige teken zo snel mogelijk te verwijderen met de geschikte techniek (geen ether of epileerpincet gebruiken, wel een tekenpincet).

Momenteel is de houding in België dat men geen antibioticaprofylaxe geeft na een (gedocumenteerde) tekenbeet. Een Amerikaanse studie toonde aan dat de toediening van 200 mg doxycycline het risico op klinische aantasting verlaagt (van 3,2% naar 0,4%), maar dit voordeel is er enkel indien de graad van besmetting door teken met *Borrelia* spp. hoger is dan 20%, indien de teek pas na 36u verwijderd werd, indien de teek zich in het nymfale stadium bevindt en indien het antibioticum binnen de 72u na de beet werd toegediend (bij een volwassene).⁵

In België is de besmettingsgraad bij teken algemeen lager dan 20%, met belangrijke regionale verschillen.^{2, 6}

Een meta-analyse van vier Amerikaanse studies heeft aangetoond dat men 50 personen preventief moet behandelen om één geval van Erythema Migrans (EM) te voorkomen.⁷

Het is daarentegen wel aangewezen om bij een gedocumenteerde of vermoedelijke tekenbeet, gedurende 30 dagen de opvolging van de symptomen te verzekeren rond de tekenbeet, om het optreden van EM uit te sluiten. Na een tekenbeet is er geen plaats voor een serologische opvolging als er geen symptomen zijn.

3. Klinische manifestaties

De kliniek van de Europese vorm kan verschillen van die van de Amerikaanse vorm. In tegenstelling tot Europa waar de infectie voornamelijk wordt veroorzaakt door *Borrelia afzelii* en *Borrelia garinii*, is in de Verenigde Staten voornamelijk *Borrelia burgdorferi sensu stricto* verantwoordelijk voor de ziekte.

De klinische diagnostiek moet wel rekening houden met het risico op een tekenbeet (activiteiten buitenshuis, bezochte gebieden, ...) **maar een tekenbeet moet daarvoor niet noodzakelijk gedocumenteerd zijn.** Immers, meer dan de helft van de patiënten met klinische symptomen herinneren zich geen tekenbeet.⁸

Een aanzienlijk deel van de personen die blootgesteld worden aan *Borrelia* zullen nooit klinische symptomen ontwikkelen.⁹⁻¹² Specifieke antistoffen zullen wel gevormd worden, wat het grote aantal asymptomatische seropositieve personen verklaart.

Het relatief aandeel van de verschillende klinische vormen varieert tussen de diverse regio's van Europa. In Centraal-Europa is erythema migrans de frequentste vorm (77-85% van de klinische gevallen) omdat het meest voorkomende species in deze regio, *B. afzelii*, een tropisme heeft voor de huid.¹³⁻¹⁷

3.1 Reacties op een tekenbeet

Het gaat om een erythemateuze reactie die binnen de twee dagen na de tekenbeet verschijnt, die kleiner is dan 5 cm in diameter, slecht afgelijnd is en vaak jeukt. Er zijn geen bijkomstige symptomen. Dit is geen manifestatie van borreliose, maar een inflammatoire reactie of overgevoeligheid aan de tekenbeet.

Dit letsel verdwijnt spontaan binnen de twee of drie dagen. Bij twijfel is het dus aangewezen om de evolutie van het letsel op te volgen. Een vergroting van het letsel na vier of vijf dagen is verdacht voor borreliose. Men moet daarbij ook rekening houden met een mogelijke bacteriële surinfectie als gevolg van de tekenbeet of van de manipulaties om de teek te verwijderen.

3.2 Vroege gelokaliseerde Lyme-borreliose

3.2.1 Erythema migrans (EM)

EM is de meest frequente klinische manifestatie in onze regio. Wanneer EM optreedt, verschijnt deze binnen de drie tot dertig dagen na de tekenbeet (gewoonlijk 7-14 dagen). Dit erythemateuze huidletsel met een centrale opklaring breidt zich progressief uit en meet doorgaans meer dan 5 cm in diameter maar kan meer dan 30 cm in diameter bereiken. Het midden van het letsel kan opklaren maar dit is niet altijd het geval, vooral in Europa waar de presentatie kan verschillen volgens de soort van *Borrelia*.¹⁸ In zeldzame gevallen gaat het om vesiculaire, pustuleuze of necrotische letsels of gaan deze gepaard met purpura. **De letsels zijn vaak asymptomatisch, maar kunnen soms gepaard gaan met lokale pijn, een branderig gevoel of matige jeuk. In 10 tot 30% van de gevallen zijn er ook algemene symptomen** (spierpijn, gewrichtspijn, milde koorts, vermoeidheid, gezwollen lymfeklieren).

Het huidletsel bevindt zich vaak in een huidplooi (okselholte, knieholte, lies, perineum), **op de rug of op de billen en vooral bij kinderen ook op het hoofd** (nek, hoofdhuid, achter het oor). Ze komen nooit voor op handpalmen of voetzolen. Zeldzaam is er sprake van letsels die klein blijven en vaak bevinden deze zich dan op de ledematen.¹⁹

Zelfs zonder behandeling verdwijnen de letsels, meestal binnen de maand.

De meeste gevallen van EM doen zich voor tussen het midden van de lente en het begin van de herfst.

3.2.2 Borrelia-lymfocytoom

Dit is een goedaardig en zeldzaam letsel (1-3% van de klinische gevallen) dat gewoonlijk één tot zes maand na de tekenbeet verschijnt. Het gaat om een blauwrode nodule met een diameter van 1 tot 5 cm zonder andere lokale symptomen.

Kinderen worden vaker getroffen, vooral op de oorschelp, maar bij volwassenen ziet men het ook ter hoogte van de tepel of het scrotum.²⁰⁻²²

Bij een twijfelachtige diagnose kan een biopsie aangewezen zijn, in het bijzonder bij andere lokalisaties dan het oor, om een lymfoom of andere neoplasie uit te sluiten.

Het letsel kan over verloop van enkele maanden spontaan afnemen. Antibiotherapie kan dit versnellen waardoor het letsel gewoonlijk binnen de maand verdwijnt.²¹

3.3 Vroege gedissemineerde Lyme-borreliose

Deze manifestaties verschijnen weken tot maanden na de tekenbeet. Ze kunnen zich voordoen zonder voorafgaande EM. Ze zijn het gevolg van de hematogene verspreiding van de spirocheet en volgende organen kunnen daarbij betrokken zijn: huid, zenuwstelsel, hart, gewrichten en uitzonderlijk ook andere organen (ogen, lever, ...).

3.3.1 Multiple erythema migrans

Het gaat om secundaire letsels die gewoonlijk kleiner zijn dan het primaire letsel en die enkele dagen tot weken na de tekenbeet optreden. De letsels verschijnen, groeien en verdwijnen spontaan op korte tijd. Ze gaan vaker gepaard met algemene symptomen (spierpijn, gewrichtspijn, milde koorts, vermoeidheid, gezwollen lymfeklieren).²³⁻²⁵

Afhankelijk van de bron zijn 4 tot 20% van de gevallen van erythema migrans multiple.

3.3.2 Vroege neuroborreliose

In Centraal-Europa is vroege neuroborreliose verantwoordelijk voor 3 tot 15% van de klinische manifestaties van Lyme-borreliose bij onbehandelde patiënten.^{13, 14, 25} **Vroege neuroborreliose treedt op enkele weken (of maanden) na de tekenbeet en kan dus gelijktijdig met EM optreden.** Het gaat om acute aantasting, met andere woorden minder dan zes maanden aanwezig. Verschillende manifestaties zijn mogelijk. **De klassieke triade (triade van Bannwarth) omvat: radiculoneuritis, craniale neuropathie (in het bijzonder de nervus facialis) en meningitis.** Evenwel is niet noodzakelijk de volledige triade aanwezig bij elke patiënt. **Koorts kan aanwezig zijn.**

Bij kinderen komt de nervus facialisparese het meest voor (minstens 50% van de neurologische vormen), soms bilateraal. Minder vaak is er aantasting van andere craniale zenuwen met een lymfocyttaire meningitis (een kwart van de gevallen) met vaak een weinig uitgesproken meningeaal syndroom (hoofdpijn).^{26, 27}

Bij volwassenen ziet men het vaakst een meningoradiculitis gekenmerkt door radriculaire pijn (meer dan 75% van de patiënten) en/of een parese (ongeveer 60%). De radiculitis wordt gekenmerkt door pijn die typisch 's nachts verergert en met een lokalisatie die vaak gelinkt is aan de dermatomen. De pijn kan over enkele weken evolueren en beantwoordt slecht aan NSAID's. De parese kan de craniale zenuwen aantasten, vooral de N. VII met een facialisparese, de buikwand of de onderste ledematen. Aantasting van de andere craniale zenuwen is zeldzamer: de N. III of N. VI (diplopie), de N. V (aangezichtspijn), de N. VIII (gehoorstoornissen), de N. IX of N. X (slikproblemen). Uveïtis behoort ook tot de mogelijkheden. Aantasting van de oogzenuw is omstreden; als het al bestaat dan is dit blijkbaar zeer zeldzaam.²⁸ **Hoofdpijn komt vaak voor bij**

neuroborreliose (>40%), maar uitgesproken hoofdpijn zonder radiculaire pijn of parese is zeldzaam bij volwassenen.²⁶

Andere vormen van perifere aantasting zijn mogelijk maar zeldzaam (plexitis, multiple mononeuropathie). Encefalitis, lymfocytair menigitis zonder andere symptomen, myelitis of CVA zijn zeldzame neurologische manifestaties.^{29, 30}

Er is geen evidentie voor een associatie tussen psychiatrische problemen of gedragsproblemen enerzijds en Lyme-borreliose anderzijds.

Antibiotherapie heeft weinig invloed op de evolutie van een facialisparese, maar het merendeel van de studies tonen wel een significante verbetering dankzij behandeling (binnen enkele weken of maanden) voor de andere manifestaties. Volledig herstel is de regel, maar bij 5-10% van de patiënten die correct werden behandeld, wordt een incomplete genezing van de initiële symptomen gemeld (pijnlijk ongemak of resterende hypoesthesie, blijvend krachtverlies).²⁶

3.3.3 Carditis

Carditis is zeldzaam (1-5% van de klinische manifestaties) **en manifesteert zich als een geleidingsstoornis, doorgaans een eerste-graads-atrioventriculair-blok.**³¹⁻³³ **Gewoonlijk treedt dit op enkele dagen tot weken (4 tot 6) na de (eventuele) verschijning van EM.**

Zeldzamer zijn een AV-blok van een hogere graad (vooral bij mannen jonger dan 45 jaar), myocarditis of pericarditis. **Vaak is er spontaan herstel, maar er zal toch behandeld worden met antibiotica en tijdelijke pacing kan nodig zijn.** Mits behandeling is er over het algemeen binnen de zeven dagen genezing. Een myocard biopsie is zelden gerechtvaardigd.

3.4 Latere manifestaties van Lyme-borreliose

3.4.1 Lyme-artritis

Artritis kan enkele maanden tot jaren na de tekenbeet optreden. Het betreft een inflammatoire aandoening, namelijk een synovitis met matige pijn en zwelling van het gewricht. De klachten zijn permanent aanwezig of treden op in de vorm van recurrenente opstoten. De artritis is mono- of oligoarticulair (asymmetrisch) en tast gewoonlijk de grote gewrichten aan, het vaakst de knie. Zonder behandeling kan de artritis maanden tot jaren aanhouden.

Analyse van het gewrichtsvocht toont gemiddeld 25 000 WBC/mm³ (500-100 000 WBC/mm³) met een overwicht aan neutrofielen.

Deze *inflammatoire* aandoening moet onderscheiden worden van gewrichtspijnen, spierpijnen of fibromyalgie, die geen criteria zijn voor musculoskeletale aantasting bij Lyme-borreliose.

De respons op behandeling is normaliter compleet, maar kan enkele maanden op zich laten wachten. Een klein aantal patiënten (<10%) krijgt af te rekenen met een persisterende synovitis die niet zal beteren door een tweede antibioticakuur. Deze zogenaamde “Lyme-artritis refractair aan antibiotica” komt vooral voor bij de Amerikaanse vormen. Het gaat om een inflammatoir fenomeen en niet om een infectie. Behandeling is mogelijk met NSAID’s of intra-articulaire corticoïden (reumatologische diagnose).

3.4.2 Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA) of ziekte van Pick-Herxheimer

Deze aandoening treft vooral vrouwen, wordt bijna uitsluitend in Europa gerapporteerd en is weinig frequent (< 5%).¹⁴ Ze wordt gekenmerkt door huidletsels die eerst verschijnen op de strekzijde van de ledematen en dit tot wel 10 jaar na de tekenbeet. De letsels zijn aanvankelijk blauwrood en gezwollen, maar worden vervolgens atrofisch. De letsels zijn meestal unilateraal maar soms bilateraal en hebben de neiging om groter te worden.

Vaak gaat dit gepaard met een perifere neuropathie (30-60%) en hyperalgesie (50%) met normale bevindingen op LP en ook musculoskeletale aantasting is mogelijk (artritis, subluxatie van de gewrichten van de handen en de voeten, tendinitis van de achillespees, verdikkingen van het periost,...). De serologie (IgG) is altijd positief en de diagnose kan bevestigd worden door een huidbiopsie.³⁴

3.4.3 Late neuroborreliose

Het is een zeldzame manifestatie (< 5% van de neurologische vormen) in de vorm van een encefalomyelitis of radiculomyelitis die langer dan 6 maanden aanwezig is (traag progressieve myelopathie, ataxie, spastische tetraparese, gehoorverlies, ...). Deze late manifestaties zijn het gevolg van een niet-behandelde vroege vorm. De serologie, de lumbaalpunctie en beeldvorming zijn altijd afwijkend. Vermoeidheid en diffuse pijnklachten als enige klacht mogen niet worden beschouwd als een vorm van late neuroborreliose.

3.4.4 Post treatment Lyme disease syndrome (PTLDS)

Sommige patiënten waarbij een diagnose van een *Borrelia* infectie werd gesteld en die succesvol werden behandeld, vertonen na de behandeling toch nog symptomen. In heel wat gevallen gaat het om specifieke klachten zoals vermoeidheid, musculoskeletale pijn, concentratieproblemen, hoofdpijn en geheugenstoornissen.³⁵⁻³⁷ De entiteit "post treatment Lyme disease syndrome (PTLDS)" wordt voorgesteld voor patiënten waarbij dergelijke klachten al minstens zes maanden aanwezig zijn in de context van een correcte initiële diagnose en een adequate behandeling.³⁸

Deze term PTLDS moet echter met voorzichtigheid gebruikt worden. Studies uitgevoerd in de algemene bevolking tonen bij 20% vermoeidheidsklachten en verschillende soorten pijnen, en bij bijna een derde van de bevolking concentratieproblemen. Deze specifieke klachten zijn vergelijkbaar met deze beschreven voor andere infectieuze (of niet-infectieuze) ziektebeelden waarbij immuungemedieerde ontstekingsverschijnselen persisteren na verdwijnen van de infectie.³⁹⁻⁴¹ Verschillende mogelijke verklaringen worden opgeworpen (auto-immuniteit, verstoorde cytokines, gebrekkige weerstand, ...) echter zonder duidelijke conclusies tot op heden.^{38, 41-43}

Prospectief gecontroleerde en gerandomiseerde studies evalueerden het nut van langdurige of herhaalde behandelingen met antibiotica bij bovenstaand klinische beeld. Hieruit blijkt dat het bewijs ontbreekt van het voordeel van zulke behandelingen terwijl de patiënt nodeloos wordt blootgesteld aan mogelijke toxiciteit, nevenwerkingen en waarbij ontwikkeling van resistente bacteriën kan geïnduceerd worden.⁴⁴⁻⁴⁷

Recente studies hebben ook aangetoond dat er geen persisterende *Borrelia* infectie werd vastgesteld na een gerichte behandeling,⁴⁸ dit in tegenstelling tot sommige suggesties op basis van case-reports waarvan de wetenschappelijke kwaliteit duidelijk in twijfel werd getrokken.^{49, 50} In het geval van zulke klinische situaties moeten altijd andere diagnostische alternatieven worden overwogen opdat andere pathologieën niet ten onrechte zouden worden toegeschreven aan de symptomen van de "nasleep" van een infectie met *Borrelia*.

3.4.5 Chronische ziekte van Lyme

De term "chronische ziekte van Lyme" mag niet meer worden gebruikt, omdat deze terminologie niet beantwoordt aan een duidelijke klinische definitie, niet geassocieerd is met de diagnose van een actieve infectie met *Borrelia* én omdat verschillende gerapporteerde symptomen, vernoemd bij sommige publicaties, worden toegeschreven aan talrijke andere pathologieën. Deze term wordt vaak gebruikt op basis van serologische resultaten en het ontbreken van een alternatieve diagnose.^{51, 52}

Net als bij "PTLDS", moeten steeds andere diagnostische middelen worden aangewend opdat een andere pathologie niet zou worden gemist en de symptomen niet ten onrechte zouden worden toegeschreven aan een positieve *Borrelia* serologie. Niet conventionele, alternatieve of andere door sommige voorgestelde behandelingen, zijn niet gebaseerd op wetenschappelijke evidentie en kunnen potentieel schadelijk (en duur) zijn.⁵³

3.5 Specifieke situaties

Immunodeficiëntie: Er zijn geen aanwijzingen dat immunodeficiëntie een risicofactor is voor het oplopen van een Lyme-borreliose of voor een ernstiger verloop hiervan.

Zwangerschap: In tegenstelling tot wat de eerste publicaties suggereerden, bestaat er geen associatie tussen Lyme-Borreliose en prematuriteit, mors in utero of congenitale malformaties.⁵⁴⁻⁵⁶

Zwangere vrouwen met klinische symptomen (en dus niet enkel een positieve serologie) moeten zoals andere patiënten behandeld worden met antibiotica. Hierbij zal men tetracyclines vermijden aangezien deze tegenaangewezen zijn bij zwangerschap (vanaf het 2^{de} trimester) en bij borstvoeding.

3.6 Toevallige vondst van een positieve serologie

De seroprevalentie van *Borrelia* kan aanzienlijk zijn in bepaalde regio's en bij bepaalde groepen van mensen en kan oplopen tot 30-50% bij risicogroepen (boswachter, werk of hobby's in de natuur). **Een positieve serologie zonder de karakteristieke symptomen die hierboven beschreven werden, wijst daarom niet op een actieve infectie.⁵⁷ Een antibiotherapie wordt dan ook nooit opgestart op basis van louter een positieve serologie maar wordt geëvalueerd op basis van de geassocieerde klinische klachten.**

Men moet dus vermijden een serologie voor *Borrelia* te bepalen wanneer er geen specifieke klinische tekens zijn (zoals bijvoorbeeld bij blijvende vermoeidheid, specifieke diffuse langdurige pijn, ...).

In geval van positieve serologie met weinig specifieke symptomen zal men de patiënt enkele weken klinisch opvolgen om karakteristieke tekens snel te kunnen detecteren. Bij twijfel over een mogelijke neurologische aantasting moet een lumbaalpunctie uitgevoerd worden om de diagnose te bevestigen of uit te sluiten. Bij optreden van objectiveerbare gewrichtsklachten zijn specifieke aanvullende onderzoeken aangewezen (punctie van het gewricht of biopt van het synovium). Bij aanhoudende twijfel kan de patiënt verwezen worden naar een infectioloog.

De serologie blijft langdurig positief, ook in geval van een antibiotherapie, en deze moet dus niet gecontroleerd worden.

3.7 Persisterende of nieuwe infectie

De IgG-antistoffen hebben geen neutraliserend en beschermend effect en kunnen een nieuwe infectie dus niet tegenhouden, vooral onder vorm van erythema migrans.^{58, 59} Bij een gekende seropositieve patiënt of een patiënt die reeds behandeld werd voor erythema migrans kan opnieuw een erythema migrans optreden en moet dit worden behandeld zoals hierboven beschreven voor deze klinische manifestatie. Serologische monitoring kan hierbij niet helpen.

3.8 Klinische manifestaties bij kinderen

Bij kinderen blootgesteld aan *Borrelia* vertoont 90% een asymptomatische seroconversie.^{60, 61} Wanneer toch symptomen optreden, vertegenwoordigt Erythema migrans bijna 90% van de klinische verschijnselen bij kinderen. In één derde van de gevallen gaat het om een gedissemineerde vorm. Een lymphocytoom is ook een kenmerkende huidmanifestatie bij het kind. Neurologische manifestaties omvatten voornamelijk nervus facialisparese en aseptische meningitis (vaker dan bij volwassenen). Aanhoudende hoofdpijn komt vaak voor. De prognose is uitstekend bij behandelde kinderen (minder dan 5% behouden lichte articulaire klachten in het geval van Lyme-artritis).⁶²

4. Diagnostiek in functie van het klinisch beeld

4.1 Erythema migrans

De diagnostiek is gebaseerd op kliniek en epidemiologie, niet op serologie. Serologie is dus niet aangewezen. De serologie kan nog negatief zijn bij een vroegtijdig letsel: de sensitiviteit van de serologie (IgM en IgG) bedraagt in dit stadium ongeveer 50%. Een controle van de serologie na minstens 4 weken verhoogt de sensitiviteit wel tot 70% maar is niet nuttig voor de aanpak. De behandeling van EM met antibiotica op het moment dat er nog geen immuunrespons is, zal in een aanzienlijk aantal gevallen de ontwikkeling van antistoffen blokkeren.⁶³⁻⁶⁶ Patiënten die bij het begin van de behandeling al IgM/IgG-antistoffen hebben, kunnen deze gedurende maanden of zelfs jaren behouden.

Bij twijfel (aspecifieke presentatie, geen respons op behandeling) **kan een huidbiopsie voorgesteld worden** want het anatomopathologisch beeld is suggestief en andere diagnoses kunnen dan uitgesloten worden. PCR op een huidbiopt heeft een sensitiviteit van 60-80%.

Tot de differentiële diagnose behoren: reactie op een insectenbeet, contacteczema, granuloma annulare, urticaria, folliculitis, tinea corporis, medicamenteuze rash, ...

4.2 *Borrelia*-lymfocytoom

De serologie (IgM en IgG) is gewoonlijk positief aangezien dit letsel later optreedt dan EM en bovendien lange tijd aanwezig kan blijven. De sensitiviteit bedraagt ongeveer 70 tot 95%.⁶⁷ Bij de gevallen die nog seronegatief zijn op het moment van de diagnostiek, zal er op korte termijn een seroconversie optreden. Aangezien de klinische presentatie nogal karakteristiek is, zal **een huidbiopsie enkel** overwogen worden **bij een onzekere diagnose**; het histologisch beeld is typisch. De directe diagnostiek met PCR heeft een sensitiviteit van 67%.⁶⁸

4.3 Vroege neuroborreliose

De serologie (IgM en IgG) op bloed is gewoonlijk positief behalve bij patiënten met een zeer vroegtijdige neurologische aantasting. Bij de start van de symptomen is de sensitiviteit nog laag met 21% (binnen de 3 weken) maar deze stijgt tot > 90% na 6 weken.⁶⁹ Een controle minstens 4 weken na de eerste serologie op bloed verhoogt de sensitiviteit bij vroege neuroborreliose tot 98%. Het is dus aangewezen om de serologie na enkele weken te herhalen bij vermoeden van vroege neuroborreliose en in afwezigheid van Borrelia-antistoffen.

Een lumbaalpunctie is aangewezen bij vermoeden van een vroege neuroborreliose. **Karakteristieke bevindingen zijn pleiocytose (lymfocytose > 6 cellen/mm³) en matige stijging van het eiwit. Men gaat ook na of er intrathecaal Borrelia specifieke antistoffen geproduceerd worden.** Antistoffen kunnen doorheen de bloed-hersen-barrière passeren als deze beschadigd is, wat het geval kan zijn bij neuroborreliosis. De serologie op cerebrospinaal vocht kan positief zijn alvorens de serologie op bloed positief wordt, vooral bij kinderen.^{70,71} PCR is van weinig nut want weinig sensibel op cerebrospinaal vocht (CSV) (10-50%).

De patiënt zal empirisch behandeld worden bij een klinisch suggestief beeld, een positieve serologie op bloed en een lymfocyttaire meningitis, in afwachting van de serologie op CSV.⁷² De diagnostiek zal herbekeken worden als de serologie op CSV toch negatief is.

In geval van facialisparesis met positieve serologie bij het kind (zeker indien bilateraal) is een infectie met *Borrelia* de meest waarschijnlijke oorzaak en dan kan behandeld worden zonder een lumbaalpunctie uit te voeren. Omdat de oorzaken van facialisparesis bij volwassenen diverser zijn en er bovendien in bepaalde regio's een aanzienlijke seroprevalentie bestaat, is een lumbaalpunctie meestal wel aangewezen (behalve bij een zeer suggestief klinisch beeld zoals een facialisparesis tegelijkertijd met of kort na een EM).

4.4 Carditis

De serologie is gewoonlijk positief (> 80% van de gevallen) met hoge IgG-titers. Bij geleidingsstoornissen moet men eerst op zoek gaan naar andere oorzaken. Nochtans kan men aan de diagnose denken bij een jonge mannelijke patiënt met een positieve serologie met andere klinische tekens of kans op blootstelling wanneer andere oorzaken werden uitgesloten. Enkel een positieve serologie volstaat niet voor de diagnose.

4.5 Lyme-artritis

Aangezien het gaat om een laattijdige manifestatie, is de **serologie altijd positief** met hoge IgG-titers.^{73,74} **Punctie van het gewricht toont een inflammatoir beeld. PCR op gewrichtsvocht kan aangewezen zijn** als de klinische presentatie en de epidemiologische omstandigheden niet klassiek zijn (gevoeliger op een synoviumbiopsie, 60-80%).

4.6 Late neuroborreliose

De serologie op bloed is altijd positief en het CSV toont altijd afwijkingen, net zoals de medische beeldvorming (met uitzondering van polyneuropathie geassocieerd aan ACA).

4.7 Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA)

De serologie is altijd positief met hoge IgG-titers.⁷⁵ Het anatomopathologisch onderzoek van een biopsie toont karakteristieke afwijkingen en laat toe om andere diagnoses uit te sluiten.⁸

5. Behandeling

Alle klinische manifestaties van Lyme-borreliose moeten gericht behandeld worden met antibiotica. Daarentegen, een positieve serologie zonder karakteristieke symptomen is een serologisch restverschijnsel en moet niet behandeld worden, zodat men een onverantwoorde blootstelling aan antibiotica kan vermijden. Bij aspecifieke presentatie zal de patiënt in de daaropvolgende weken opnieuw geëvalueerd worden om de verschijning van typische symptomen uit te sluiten of zal hij verwezen worden naar de infectioloog.

Voor *Borrelia burgdorferi* s.l. is er tot op heden nog geen antibacteriële resistentie gerapporteerd.^{76, 77} Bij een correcte antibiotische therapie, die niet leidt tot een (complete) genezing, moet men de diagnose in vraag stellen. Het is niet aangewezen de duur van de behandeling te verlengen of antibiotica te combineren, aangezien de werkzaamheid hiervan niet werd aangetoond, dit mogelijk toxisch is en schadelijk is voor de patiënt door de nutteloze blootstelling aan antibiotica.

5.1 Erythema migrans

Antibiotica	Dosis volwassenen	Dosis kinderen	Behandelingsduur
1 ^e keuze: Doxycycline ¹	100 mg 2x/d	4 mg/kg/d in 2 giften (max. 100 mg/gift)	10 dagen ²
2 ^e keuze: Amoxicilline	500 mg 3x/d	50 mg/kg/d in 3 giften (max. 500 mg/gift)	14 dagen ³
3 ^e keuze: Cefuroxim	500 mg 2x/d	30 mg/kg/d in 2 giften (max. 500 mg/gift)	14 dagen ³
4 ^e keuze: Macroliden ⁴	Azithromycine ⁵ 1g de eerste dag en vervolgens 500 mg/d gedurende 4 dagen of 500 mg/d gedurende 7 dagen	20 mg/kg in één gift de eerste dag, vervolgens 10 mg/kg/d in één gift gedurende 4 dagen	5 of 7 dagen
	Clarithromycine 500 mg 2x/d	15 mg/kg/d in 2 giften	14 dagen ³

¹Contra-indicatie bij zwangerschap en kinderen jonger dan 8 jaar.

²In de studies is er geen verschil tussen 10 of 14 dagen behandeling met doxycycline.⁷⁸

³Sommige experts bevelen tot 21 dagen aan in geval van multiple EM, maar er zijn geen studies die de superioriteit ten opzichte van 14 dagen aantonen.

⁴Er bestaat controverse over de equivalente werkzaamheid. Bepaalde studies tonen een equivalente werkzaamheid, maar andere een grotere kans op klinisch falen.^{64, 79-81} De methodologie van deze studies was niet dezelfde.

⁵Er bestaan twee schema's voor azithromycine maar deze werden niet vergeleken aan de hand van studies.

5.2 Vroege neuroborreliose

Recente Scandinavische studies hebben aangetoond dat doxycycline bij vroege neuroborreliose even effectief is als ceftriaxon.^{26, 82-85} Omdat het aantal patiënten met ernstige aantasting (encefalitis, encefalomyelitis) in deze studies laag is, geven bepaalde experts bij ernstige vormen toch nog de voorkeur aan ceftriaxon in afwachting van meer robuuste gegevens.

Antibiotica	Dosis volwassenen	Dosis kinderen	Behandelingsduur
Doxycycline ¹	100 mg 2x/d	4-8 mg/kg/d in 2 giften (max. 100 mg/gift)	14 dagen
Ceftriaxon	2g 1x/d	100 mg/kg/d in 1 gift (max.2 g)	14 dagen

¹Contra-indicatie bij zwangerschap en kinderen jonger dan 8 jaar.

5.3 Late neuroborreliose

Bij late neuroborreliose (met uitzondering van polyneuropathie bij ACA) is ceftriaxon eerste keuze. De behandelingsduur is niet duidelijk vastgelegd, maar men stelt 4 weken voor.

Antibiotica	Dosis volwassenen	Dosis kinderen	Behandelingsduur
Ceftriaxon	2g 1x/d	100 mg/kg/d in 1 gift (max.2 g)	4 weken

5.4 Lyme-artritis

De respons op behandeling kan traag zijn en over meerdere maanden verlopen.⁸⁶ Ceftriaxon wordt in principe niet in eerste instantie gebruikt, maar wel bij onvolledige respons gedurende 14 tot 28 dagen. Het alternatief is dan een tweede orale antibioticakuur gedurende 28 dagen.^{87, 88}

Antibiotica	Dosis volwassenen	Dosis kinderen	Behandelingsduur
Doxycycline ¹	100 mg 2x/d	4 mg/kg/d in 2 giften (max. 100 mg/gift)	28 dagen
Amoxicilline	500 mg 3x/d	50 mg/kg/d in 3 giften (max. 500 mg/gift)	28 dagen
Ceftriaxon	2g 1x/d	100 mg/kg/d in 1 gift (max.2g)	14 tot 28 dagen

¹Contra-indicatie bij zwangerschap en kinderen jonger dan 8 jaar.

Bij 'Lyme-artritis refractair aan antibiotica' (zeldzaam in Europa) - persisterend twee maanden na een volledige behandeling van 14 dagen met ceftriaxon of twee orale kuren van 30 dagen en negatieve PCR op gewrichtsvocht - hebben antibiotica geen plaats meer. De respons op NSAID's en intraarticulaire corticoïden is over het algemeen goed.

5.5 Carditis

Bij de ernstige vormen (derde-graads-AVB, myopericarditis) geeft men de voorkeur aan parenterale behandeling.

Antibiotica	Dosis volwassenen	Dosis kinderen	behandelingsduur
Doxycycline¹	100 mg 2x/d	4 mg/kg/d in 2 giften (max. 100 mg/gift)	21 dagen
Ceftriaxon	2g 1x/jd	100 mg/kg/d in 1gift (max.2g)	14 dagen

¹Contra-indicatie bij zwangerschap en kinderen jonger dan 8 jaar.

5.6 ACA (en perifere polyneuropathie)

Antibiotica	Dosis volwassenen	Dosis kinderen	behandelingsduur
Doxycycline	100 mg 2x/d	4 mg/kg/d in 2 giften (max. 100 mg/gift)	21 tot 28 dagen
Ceftriaxon	2g 1x/jd	100 mg/kg/d in 1gift (max.2g)	14 dagen

¹Contra-indicatie bij zwangerschap en kinderen jonger dan 8 jaar.

5.7 PTLDS

De behandeling moet gericht zijn op de symptomen (pijn, cognitieve symptomen, vermoeidheid) teneinde de impact op het leven van elke dag te verminderen door middel van meerdere interventies (pijnbestrijding, levensstijl veranderen, low-impact oefeningen, ...). Behandeling met antibiotica is niet aangewezen.

6. Diagnostische tests

6.1 Serologie

Serologie geniet de voorkeur als diagnostische test.

De klinische en epidemiologische context zijn essentieel bij de diagnostiek van Lyme-borreliose in de vroegtijdige fase. Zij beïnvloeden bovendien de pretest probabiliteit. **Serologie heeft een belangrijke plaats in de latere fases van de ziekte.**

De immuunrespons op een infectie met *Borrelia* is zowel humoraal als cellulair. Maar in de routine worden enkel antilichamen opgespoord. Deze indirecte methode meet de immuunrespons tegen *B. burgdorferi* sensu lato en niet de ziekteactiviteit. Het is belangrijk hiermee rekening te houden bij de interpretatie van de serologische resultaten.

De ontwikkeling van IgM-antistoffen loopt voor op die van IgG, met uitzondering van de IgG-antistoffen tegen het eiwit VlsE die vroegtijdig aanwezig kunnen zijn. **IgM-antistoffen kunnen maar geïnterpreteerd worden tot 6 à 8 weken na blootstelling.** Bij een niet-behandelde patiënt met uitsluitend IgM-antistoffen moeten de daaropvolgende weken IgG-antistoffen verschijnen. Zo niet, moet men rekening houden met een vals-positief resultaat voor IgM. **Bij een aanzienlijk deel van de patiënten die vroegtijdig behandeld werden, zien we een sterke daling van de antistoffen.**⁶³⁻⁶⁶ **Antistoffen (IgG en/of IgM) kunnen gedurende jaren positief blijven.** De mate van daling van de titer na behandeling heeft geen duidelijke relatie met het klinisch succes van de therapie en het opvolgen van de titer wordt dan ook niet aangeraden.

6.1.1 Enzyme-immunoassay (EIA) en immunoblot

De methodes die op de markt beschikbaar zijn moeten voldoen aan de Europese aanbevelingen (EUCALB). Het is ook aangewezen een twee-stapssysteem te gebruiken: te beginnen met een EIA, gevolgd door een bevestiging mbv een immunoblot in het geval van reactieve EIA. Daarnaast is het aangewezen ook een lokale validatie van de assays uit te voeren die rekening houdt met de specifieke lokale omstandigheden, zoals de hoge seroprevalentie in bepaalde regio's. Moeilijkheden bij de interpretatie van de serologie zijn te wijten aan de lage sensitiviteit in het vroege stadium, het gebrek aan standaardisatie van de commerciële kits en het gebrek aan uniforme criteria voor de interpretatie van de immunoblot in Europa.

Men onderscheidt drie generaties van enzyme-immunoassays. Die van de 1^e generatie bevatten een sonicaat van *Borrelia burgdorferi* sensu lato en intacte bacteriën. Deze kits bevatten ook antigenen die aanwezig zijn bij andere bacteriën en spirocheten met talrijke vals-positieve reacties tot gevolg. Bij de EIA's van de 2^e generatie is de kans op aspecifieke reacties lager door de voorafgaande adsorptie van het serum met een *B. burgdorferi* s.l. verwante spirocheet (een *Treponema*-species) en/of met extracten van eiwitten of met flagelline van *B. burgdorferi*. De EIA's van de 3^e generatie bevatten specifieke recombinante antigenen van *B. burgdorferi* s.l. of het synthetische peptide C6 dat enkel in vivo tot expressie wordt gebracht. Dit verhoogt de specificiteit aanzienlijk. Er bestaan ook EIA's van de 2^e generatie waaraan men recombinante antigenen heeft toegevoegd om de sensitiviteit te verhogen.

De specificiteit voor IgG-antistoffen tegen *Borrelia burgdorferi* s.l. van de EIA's van de 2^e generatie (met recombinante antigenen) varieert tussen 80 en 95%. De specificiteit voor IgM met deze EIA's is doorgaans lager omwille van vals-positieve reacties bij positieve reumafactor, niet-pathogene *Borrelia* spp. of andere spirocheten, acute infecties met EBV of CMV en multiple sclerose of andere auto-immuunaandoeningen.

De specificiteit van de EIA's van de 3^e generatie is hoger, maar lager dan die van de immunoblots. Bij de western blot of immunoblot zijn de antigenen gescheiden en vastgemaakt op een nitrocellulosemembraan. De gekozen antigenen moeten op zijn minst toelaten antistoffen te

detecteren tegen de pathogene soorten (*B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. spielmanii* en *B. bavariensis*). Op deze manier kan men een onderscheid maken tussen specifieke en aspecifieke reacties in de eerste stap. **De specificiteit van de immunoblot als confirmatietest is hoger dan die van de EIA's.** Een negatieve immunoblot met een positieve EIA maakt Lyme-borreliose onwaarschijnlijk, maar kan een vroeg stadium ervan niet uitsluiten, aangezien de EIA's eerder positief worden dan de immunoblot. Bij sterke klinische verdenking is het dus aangewezen de immunoblot te herhalen na enkele weken.

6.2 Analyse van het CSV en intrathecale productie van antistoffen

Bij een positieve serologie of bij een negatieve serologie met sterk vermoeden van neuroborreliose is het aangewezen om een lumbaalpunctie uit te voeren en na te gaan of er intrathecale synthese is van antistoffen. Op dezelfde dag van de lumbaalpunctie neemt men ook serum af voor de bepaling van antistoffen in het bloed met het oog op het berekenen van de antistofindex.

Om neuroborreliose te bevestigen moet men aantonen dat er intrathecale synthese is van antistoffen en dat het niet gaat om een passieve diffusie van antistoffen vanuit het serum naar het CSV of om een artefact van een traumatische punctie. Als de verhouding van anti-Borrelia IgG tegenover totaal serum IgG in het CSV hoger is dan de analoge verhouding in het serum, is er wel degelijk sprake van intrathecale productie. Hetzelfde principe is van toepassing op IgM. Men kan dit evalueren met een EIA of een immunoblot. In zeldzame gevallen (vroegtijdig stadium en dan vooral bij kinderen) is er sprake van intrathecale productie van antistoffen zonder antistoffen in het bloed.

De sensitiviteit van de index voor intrathecale synthese van antistoffen bedraagt 64-87% bij vroege neuroborreliose.^{63, 89} Vooral bij neuroborreliose met symptomen van korte duur kan de intrathecale antistofproductie nog niet op gang zijn gekomen. Bij een neuroborreliose die al langer dan 6-8 weken duurt, hebben alle patiënten intrathecale productie van specifieke Borrelia antistoffen.

Het aantonen van intrathecale synthese van antistoffen laat niet toe een onderscheid te maken tussen actieve infectie, convalescentie of een doorgemaakte infectie. Na een succesvolle behandeling blijft intrathecale productie van IgG-antistoffen vaak aanwezig in een substantieel percentage van de neuroborreliose gevallen.

6.3 Kweek en rechtstreeks onderzoek

De kweek van huidbiopsieën heeft een sensitiviteit tussen 40 en 80%. Voor bloed en CSV is de sensitiviteit zeer laag, 1.2-13%. Het staal moet zeer snel, omzeggens aan bed van de patiënt, geënt worden in BSK medium. Bovendien is de kweek niet overal beschikbaar en vraagt zij 2 à 6 weken. Het rechtstreeks onderzoek met of zonder kleuring kan de spirocheten aan het licht brengen maar is weinig gevoelig omwille van het lage aantal bacteriën in weefsels en lichaamsvochten.⁹⁰

6.4 PCR

In theorie is PCR een zeer gevoelige techniek. Maar voor de diagnostiek van Lyme-borreliose zijn de resultaten van de klinische studies zeer variabel met vals-positieve resultaten als gevolg van contaminatie. Het gebruik van real time PCR verkleint het risico op contaminatie aanzienlijk.

PCR kan een hulpmiddel zijn voor de diagnostiek van cutane en articulaire manifestaties van Lyme-borreliose. Voor een huidbiopsie genomen bij twijfel over de diagnose van EM

bedraagt de sensitiviteit gemiddeld 68% met een specificiteit van 100%.⁹¹ De sensitiviteit van biopten lijkt hoger te zijn indien genomen aan de rand van het letsel, dichtbij de tekenbeet en net buiten het erytheem.^{92, 93} De sensitiviteit voor gewrichtsvocht en synoviale biopsieën is goed (76-85%), maar het gaat om studies met een klein aantal stalen.⁹⁴

PCR heeft weinig waarde bij neurologische aantasting (sensitiviteit tussen 10 en 50%). In de meerderheid van de gevallen is het aantonen van intrathecale synthese van *Borrelia* antistoffen gevoeliger. De diagnostische waarde van PCR voor bloed, serum en plasma of urine is niet duidelijk en de test wordt voor deze staalsoorten dan ook niet aangeraden.

6.5 Immunologische analyses

6.5.1 Lymphocyte transformation test (LTT)

Deze analyse detecteert de respons van de T-lymfocyten op *B. burgdorferi* door deze te stimuleren met *Borrelia*-antigenen. De studies zijn moeilijk te vergelijken omwille van de verschillen in studiegroep, controlegroep, antigenen en methodes. Zoals serologie toont de LTT geen ziekteactiviteit aan omdat men de immuunrespons meet. De resultaten van de LTT komen in de meerderheid van de gevallen overeen met deze van de serologie. Over het algemeen wordt de LTT als minder sensitief en specifiek beschouwd dan de serologie. **De LTT tests zijn niet gestandaardiseerd en gevalideerd voor *B. burgdorferi* s.l. en worden dus niet aangeraden.**^{95, 95-97}

6.5.2 Immunologische markers

De bepaling van het gehalte aan **CXCL13** in het CSV is een bijkomend diagnostisch middel bij vroege neuroborreliose. Bij vroege neuroborreliose had 88-100% van de patiënten een verhoogd gehalte aan CXCL13.⁹⁸ Deze merker is echter niet specifiek voor een infectie met *B. burgdorferi*. Ook bij andere infectieuze en inflammatoire neurologische aandoeningen is CXCL13 verhoogd. CXCL13 lijkt snel te dalen na de behandeling van een vroege neuroborreliose. **Het is niet duidelijk of deze merker van diagnostisch nut is bij late neuroborreliose en deze test wordt in deze gevallen dus niet aangeraden.** Bij moeilijke differentiatie tussen passieve diffusie en intrathecale antistof synthese kan CXCL13 een bijkomende parameter zijn in de diagnostiek van neuroborreliose.⁹⁹

Op dit moment zijn er onvoldoende gegevens voor het gebruik van andere immunologische markers (CD57, C3a, C4a).¹⁰⁰

REFERENTIES

1. Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, et al. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasit Vectors* 2013; **6**: 1.
2. Kesteman T, Rossi C, Bastien P, et al. Prevalence and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in *Ixodes* ticks in Belgium. *Acta Clin Belg* 2010; **65**: 319-22.
3. Obsomer V, Wirtgen M, Linden A, et al. Spatial disaggregation of tick occurrence and ecology at a local scale as a preliminary step for spatial surveillance of tick-borne diseases: general framework and health implications in Belgium. *Parasit Vectors* 2013; **6**: 190.
4. Vanthomme K, Bossuyt N, Boffin N, et al. Incidence and management of presumption of Lyme borreliosis in Belgium: recent data from the sentinel network of general practitioners. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; **31**: 2385-90.
5. Nadelman RB, Nowakowski J, Fish D, et al. Prophylaxis with single-dose doxycycline for the prevention of Lyme disease after an *Ixodes scapularis* tick bite. *N Engl J Med* 2001; **345**: 79-84.
6. Ruys SC, Ampoorter E, Coipan EC, et al. Diversifying forest communities may change Lyme disease risk: extra dimension to the dilution effect in Europe. *Parasitology* 2016; **143**: 1310-9.
7. Warshafsky S, Lee DH, Francois LK, et al. Efficacy of antibiotic prophylaxis for the prevention of Lyme disease: an updated systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2010; **65**: 1137-44.
8. Stanek G, Fingerle V, Hunfeld KP, et al. Lyme borreliosis: clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2011; **17**: 69-79.
9. Fahrner H, van der Linden SM, Sauvain MJ, et al. The prevalence and incidence of clinical and asymptomatic Lyme borreliosis in a population at risk. *J Infect Dis* 1991; **163**: 305-10.
10. Fahrner H, Sauvain MJ, Zhioua E, et al. Longterm survey (7 years) in a population at risk for Lyme borreliosis: what happens to the seropositive individuals? *Eur J Epidemiol* 1998; **14**: 117-23.
11. Fryland L, Wilhelmsson P, Lindgren PE, et al. Low risk of developing *Borrelia burgdorferi* infection in the south-east of Sweden after being bitten by a *Borrelia burgdorferi*-infected tick. *Int J Infect Dis* 2011; **15**: e174-e181.
12. Huegli D, Moret J, Rais O, et al. Prospective study on the incidence of infection by *Borrelia burgdorferi sensu lato* after a tick bite in a highly endemic area of Switzerland. *Ticks Tick Borne Dis* 2011; **2**: 129-36.

13. Rizzoli A, Hauffe H, Carpi G, et al. Lyme borreliosis in Europe. *Euro Surveill* 2011; **16**.
14. Berglund J, Eitrem R, Ornstein K, et al. An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. *N Engl J Med* 1995; **333**: 1319-27.
15. Huppertz HI, Bohme M, Standaert SM, et al. Incidence of Lyme borreliosis in the Wurzburg region of Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; **18**: 697-703.
16. Letrilliart L, Ragon B, Hanslik T, et al. Lyme disease in France: a primary care-based prospective study. *Epidemiol Infect* 2005; **133**: 935-42.
17. Mehnert WH, Krause G. Surveillance of Lyme borreliosis in Germany, 2002 and 2003. *Euro Surveill* 2005; **10**: 83-5.
18. Carlsson SA, Granlund H, Jansson C, et al. Characteristics of erythema migrans in Borrelia afzelii and Borrelia garinii infections. *Scand J Infect Dis* 2003; **35**: 31-3.
19. Weber K, Wilske B. Mini erythema migrans--a sign of early Lyme borreliosis. *Dermatology* 2006; **212**: 113-6.
20. Pohl-Koppe A, Wilske B, Weiss M, et al. Borrelia lymphocytoma in childhood. *Pediatr Infect Dis J* 1998; **17**: 423-6.
21. Maraspin V, Cimperman J, Lotric-Furlan S, et al. Solitary borrelial lymphocytoma in adult patients. *Wien Klin Wochenschr* 2002; **114**: 515-23.
22. Palmen C, Jamblin P, Florkin B, et al. [Borrelia-associated lymphocytoma cutis]. *Arch Pediatr* 2010; **17**: 1159-61.
23. Maraspin V, Cimperman J, Lotric-Furlan S, et al. Cerebrospinal fluid findings in adult patients with multiple erythema migrans. *Wien Klin Wochenschr* 2002; **114**: 505-9.
24. Arnez M, Pleterski-Rigler D, Ahcan J, et al. Demographic features, clinical characteristics and laboratory findings in children with multiple erythema migrans in Slovenia. *Wien Klin Wochenschr* 2001; **113**: 98-101.
25. *Lyme Borreliosis in Europe and North America: Epidemiology and Clinical Practice*. Wiley-Blackwell, 2011.
26. Mygland A, Ljostad U, Fingerle V, et al. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol* 2010; **17**: 8-4.
27. Tuerlinckx D, Glupczynski Y. Lyme neuroborreliosis in children. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; **8**: 455-63.
28. Sibony P, Halperin J, Coyle PK, et al. Reactive Lyme serology in optic neuritis. *J Neuroophthalmol* 2005; **25**: 71-82.
29. Halperin JJ. Lyme disease and the peripheral nervous system. *Muscle Nerve* 2003; **28**: 133-43.

30. Halperin J, Luft BJ, Volkman DJ, et al. Lyme neuroborreliosis. Peripheral nervous system manifestations. *Brain* 1990; **113** (Pt 4): 1207-21.
31. Forrester JD, Mead P. Third-degree heart block associated with lyme carditis: review of published cases. *Clin Infect Dis* 2014; **59**: 996-1000.
32. Costello JM, Alexander ME, Greco KM, et al. Lyme carditis in children: presentation, predictive factors, and clinical course. *Pediatrics* 2009; **123**: e835-e841.
33. Pinto DS. Cardiac manifestations of Lyme disease. *Med Clin North Am* 2002; **86**: 285-96.
34. Hansen K, Asbrink E. Serodiagnosis of erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans by the Borrelia burgdorferi flagellum enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1989; **27**: 545-51.
35. Aucott JN. Posttreatment Lyme disease syndrome. *Infect Dis Clin North Am* 2015; **29**: 309-23.
36. Cerar D, Cerar T, Ruzic-Sabljić E, et al. Subjective symptoms after treatment of early Lyme disease. *Am J Med* 2010; **123**: 79-86.
37. Wormser GP, Weitzner E, McKenna D, et al. Long-term assessment of fatigue in patients with culture-confirmed Lyme disease. *Am J Med* 2015; **128**: 181-4.
38. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2006; **43**: 1089-134.
39. Feder HM, Jr., Johnson BJ, O'Connell S, et al. A critical appraisal of "chronic Lyme disease". *N Engl J Med* 2007; **357**: 1422-30.
40. Hickie I, Davenport T, Wakefield D, et al. Post-infective and chronic fatigue syndromes precipitated by viral and non-viral pathogens: prospective cohort study. *BMJ* 2006; **333**: 575.
41. Strle K, Stupica D, Drouin EE, et al. Elevated levels of IL-23 in a subset of patients with post-lyme disease symptoms following erythema migrans. *Clin Infect Dis* 2014; **58**: 372-80.
42. Halperin JJ. Lyme disease: neurology, neurobiology, and behavior. *Clin Infect Dis* 2014; **58**: 1267-72.
43. Seligman SJ, Petzke MM, Bogunovic D. Pathogenesis of post-lyme disease symptoms. *Clin Infect Dis* 2014; **59**: 747.
44. Klempner MS, Hu LT, Evans J, et al. 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.

45. Klempner MS, Baker PJ, Shapiro ED, et al. Treatment trials for post-Lyme disease symptoms revisited. *Am J Med* 2013; **126**: 665-9.
46. Berende A, ter Hofstede HJ, Vos FJ, et al. Randomized Trial of Longer-Term Therapy for Symptoms Attributed to Lyme Disease. *N Engl J Med* 2016; **374**: 1209-20.
47. De WM, Speeckaert M, Callens R, et al. Ceftriaxone-induced immune hemolytic anemia as a life-threatening complication of antibiotic treatment of 'chronic Lyme disease'. *Acta Clin Belg* 2016: 1-5.
48. Berger BW, Johnson RC, Kodner C, et al. Failure of *Borrelia burgdorferi* to survive in the skin of patients with antibiotic-treated Lyme disease. *J Am Acad Dermatol* 1992; **27**: 34-7.
49. Oliveira CR, Shapiro ED. Update on persistent symptoms associated with Lyme disease. *Curr Opin Pediatr* 2015; **27**: 100-4.
50. Nelson C, Hojvat S, Johnson B, et al. Concerns regarding a new culture method for *Borrelia burgdorferi* not approved for the diagnosis of Lyme disease. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014; **63**: 333.
51. Lantos PM. Chronic Lyme disease. *Infect Dis Clin North Am* 2015; **29**: 325-40.
52. Markowicz M, Kivaranovic D, Stanek G. Testing patients with non-specific symptoms for antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato does not provide useful clinical information about their aetiology. *Clin Microbiol Infect* 2015; **21**: 1098-103.
53. Lantos PM, Shapiro ED, Auwaerter PG, et al. Unorthodox alternative therapies marketed to treat Lyme disease. *Clin Infect Dis* 2015; **60**: 1776-82.
54. Strobino B, Abid S, Gewitz M. Maternal Lyme disease and congenital heart disease: A case-control study in an endemic area. *Am J Obstet Gynecol* 1999; **180**: 711-6.
55. Strobino BA, Williams CL, Abid S, et al. Lyme disease and pregnancy outcome: a prospective study of two thousand prenatal patients. *Am J Obstet Gynecol* 1993; **169**: 367-74.
56. Gerber MA, Zalneraitis EL. Childhood neurologic disorders and Lyme disease during pregnancy. *Pediatr Neurol* 1994; **11**: 41-3.
57. Coumou J, van der Poll T, Speelman P, et al. Tired of Lyme borreliosis. Lyme borreliosis in the Netherlands. *Neth J Med* 2011; **69**: 101-11.
58. Strle F, Nelson JA, Ruzic-Sabljić E, et al. European Lyme borreliosis: 231 culture-confirmed cases involving patients with erythema migrans. *Clin Infect Dis* 1996; **23**: 61-5.
59. Nadelman RB, Hanincova K, Mukherjee P, et al. Differentiation of reinfection from relapse in recurrent Lyme disease. *N Engl J Med* 2012; **367**: 1883-90.

60. Sood SK. Lyme disease in children. *Infect Dis Clin North Am* 2015; **29**: 281-94.
61. Steere AC, Sikand VK, Schoen RT, et al. Asymptomatic infection with *Borrelia burgdorferi*. *Clin Infect Dis* 2003; **37**: 528-32.
62. Skogman BH, Glimaker K, Nordwall M, et al. Long-term clinical outcome after Lyme neuroborreliosis in childhood. *Pediatrics* 2012; **130**: 262-9.
63. Aguero-Rosenfeld ME, Nowakowski J, Bittker S, et al. Evolution of the serologic response to *Borrelia burgdorferi* in treated patients with culture-confirmed erythema migrans. *J Clin Microbiol* 1996; **34**: 1-9.
64. Luft BJ, Dattwyler RJ, Johnson RC, et al. Azithromycin compared with amoxicillin in the treatment of erythema migrans. A double-blind, randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1996; **124**: 785-91.
65. Lomholt H, Lebech AM, Hansen K, et al. Long-term serological follow-up of patients treated for chronic cutaneous borreliosis or culture-positive erythema migrans. *Acta Derm Venereol* 2000; **80**: 362-6.
66. Rebman AW, Crowder LA, Kirkpatrick A, et al. Characteristics of seroconversion and implications for diagnosis of post-treatment Lyme disease syndrome: acute and convalescent serology among a prospective cohort of early Lyme disease patients. *Clin Rheumatol* 2015; **34**: 585-9.
67. Picken RN, Strle F, Ruzic-Sabljić E, et al. Molecular subtyping of *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates from five patients with solitary lymphocytoma. *J Invest Dermatol* 1997; **108**: 92-7.
68. Colli C, Leinweber B, Mullegger R, et al. *Borrelia burgdorferi*-associated lymphocytoma cutis: clinicopathologic, immunophenotypic, and molecular study of 106 cases. *J Cutan Pathol* 2004; **31**: 232-40.
69. Zbinden R, Goldenberger D, Lucchini GM, et al. Comparison of two methods for detecting intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific antibodies and PCR for diagnosis of Lyme neuroborreliosis. *J Clin Microbiol* 1994; **32**: 1795-8.
70. Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, et al. Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphocytic meningoradiculitis (Bannwarth's syndrome). *J Infect Dis* 1986; **153**: 304-14.
71. Kaiser R. False-negative serology in patients with neuroborreliosis and the value of employing of different borrelial strains in serological assays. *J Med Microbiol* 2000; **49**: 911-5.
72. Tuerlinckx D, Bodart E, Jamart J, et al. Prediction of Lyme meningitis based on a logistic regression model using clinical and cerebrospinal fluid analysis: a European study. *Pediatr Infect Dis J* 2009; **28**: 394-7.

73. Panelius J, Lahdenne P, Heikkila T, et al. Recombinant OspC from *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* and *B. garinii* in the serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J Med Microbiol* 2002; **51**: 731-9.
74. Heikkila T, Huppertz HI, Seppala I, et al. Recombinant or peptide antigens in the serology of Lyme arthritis in children. *J Infect Dis* 2003; **187**: 1888-94.
75. Brehmer-Andersson E, Hovmark A, Asbrink E. Acrodermatitis chronica atrophicans: histopathologic findings and clinical correlations in 111 cases. *Acta Derm Venereol* 1998; **78**: 207-13.
76. Ruzic-Sabljić E, Podreka T, Maraspin V, et al. Susceptibility of *Borrelia afzelii* strains to antimicrobial agents. *Int J Antimicrob Agents* 2005; **25**: 474-8.
77. Sicklinger M, Wienecke R, Neubert U. In vitro susceptibility testing of four antibiotics against *Borrelia burgdorferi*: a comparison of results for the three genospecies *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, and *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. *J Clin Microbiol* 2003; **41**: 1791-3.
78. Wormser GP, Ramanathan R, Nowakowski J, et al. Duration of antibiotic therapy for early Lyme disease. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 2003; **138**: 697-704.
79. Strle F, Maraspin V, Lotric-Furlan S, et al. Azithromycin and doxycycline for treatment of *Borrelia* culture-positive erythema migrans. *Infection* 1996; **24**: 64-8.
80. Strle F, Preac-Mursic V, Cimperman J, et al. Azithromycin versus doxycycline for treatment of erythema migrans: clinical and microbiological findings. *Infection* 1993; **21**: 83-8.
81. Nizic T, Velikanje E, Ruzic-Sabljić E, et al. Solitary erythema migrans in children: comparison of treatment with clarithromycin and amoxicillin. *Wien Klin Wochenschr* 2012; **124**: 427-33.
82. Pfister HW, Preac-Mursic V, Wilske B, et al. Cefotaxime vs penicillin G for acute neurologic manifestations in Lyme borreliosis. A prospective randomized study. *Arch Neurol* 1989; **46**: 1190-4.
83. Ljostad U, Skogvoll E, Eikeland R, et al. Oral doxycycline versus intravenous ceftriaxone for European Lyme neuroborreliosis: a multicentre, non-inferiority, double-blind, randomised trial. *Lancet Neurol* 2008; **7**: 690-5.
84. Bremell D, Dotevall L. Oral doxycycline for Lyme neuroborreliosis with symptoms of encephalitis, myelitis, vasculitis or intracranial hypertension. *Eur J Neurol* 2014; **21**: 1162-7.
85. Halperin JJ. Nervous system lyme disease: diagnosis and treatment. *Curr Treat Options Neurol* 2013; **15**: 454-64.
86. Steere AC, Levin RE, Molloy PJ, et al. Treatment of Lyme arthritis. *Arthritis Rheum* 1994; **37**: 878-88.

87. Steere AC, Angelis SM. Therapy for Lyme arthritis: strategies for the treatment of antibiotic-refractory arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; **54**: 3079-86.
88. Tory HO, Zurakowski D, Sundel RP. Outcomes of children treated for Lyme arthritis: results of a large pediatric cohort. *J Rheumatol* 2010; **37**: 1049-55.
89. Leeflang MM, Ang CW, Berkhout J, et al. The diagnostic accuracy of serological tests for Lyme borreliosis in Europe: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2016; **16**: 140.
90. de KJ, Bosma RB, Hoogkamp-Korstanje JA. Demonstration of spirochaetes in patients with Lyme disease with a modified silver stain. *J Med Microbiol* 1987; **23**: 261-7.
91. Dumler JS. Molecular diagnosis of Lyme disease: review and meta-analysis. *Mol Diagn* 2001; **6**: 1-11.
92. Berger BW, Johnson RC, Kodner C, et al. Cultivation of *Borrelia burgdorferi* from erythema migrans lesions and perilesional skin. *J Clin Microbiol* 1992; **30**: 359-61.
93. Jurca T, Ruzic-Sabljić E, Lotric-Furlan S, et al. Comparison of peripheral and central biopsy sites for the isolation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from erythema migrans skin lesions. *Clin Infect Dis* 1998; **27**: 636-8.
94. Jaulhac B, Heller R, Limbach FX, et al. Direct molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in synovial samples from patients with Lyme arthritis. *J Clin Microbiol* 2000; **38**: 1895-900.
95. Dessau RB, Fingerle V, Gray J, et al. The lymphocyte transformation test for the diagnosis of Lyme borreliosis has currently not been shown to be clinically useful. *Clin Microbiol Infect* 2014; **20**: O786-O787.
96. CDC. Lyme Disease: Diagnosis and testing - Laboratory test that are not recommended.
<http://www.cdc.gov/lyme/diagnosis/testing/LabTest/OtherLab/index.html> (21 August 2016, date last accessed).
97. von B, V. The lymphocyte transformation test for the diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Infect* 2015; **21**: e22.
98. Schmidt C, Plate A, Angele B, et al. A prospective study on the role of CXCL13 in Lyme neuroborreliosis. *Neurology* 2011; **76**: 1051-8.
99. Borde JP, Meier S, Fingerle V, et al. CXCL13 may improve diagnosis in early neuroborreliosis with atypical laboratory findings. *BMC Infect Dis* 2012; **12**: 344.
100. Marques A, Brown MR, Fleisher TA. Natural killer cell counts are not different between patients with post-Lyme disease syndrome and controls. *Clin Vaccine Immunol* 2009; **16**: 1249-50.