

Lyme-borreliose (infectie met Borrelia)

Transmissie en epidemiologie

Preventie en profylaxe

Klinische manifestaties

- Reacties op een tekenbeet

- Vroege gelokaliseerde Lyme-borreliose

- Vroege gedissemineerde Lyme-borreliose

- Late gedissemineerde Lyme-borreliose

- Specifieke situaties

- Toevallige vondst van een positieve serologie

- Persisterende of nieuwe infectie

Diagnose in functie van het klinisch beeld

Behandeling

Diagnostische tests

- Serologie

- Analyse van het CSV en intrathecale productie van antistoffen

- Kweek en rechtstreeks onderzoek

- PCR

- Immunologische analyses

Publicatiedatum: januari 2015

Werkgroep: Leïla Belkhir, Michiel Costers, Bénédicte Delaere, Geert De Loof, Paul De Munter, Frédéric Fripiat, Jean-Baptiste Giot, Stefaan Heytens, Frederique Jacobs, Benoît Kabamba Mukadi, Patrick Lacor, Tinne Lernout, Koen Magerman, Willy Peetermans, Sophie Quoilin, Camelia Rossi, Veroniek Saegeman, Evelyne Van Gastel, Fons Van Gompel, Dirk Vogelaers.

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

BAPCOC
Belgian Antibiotic Policy Coordination Committee



Transmissie en epidemiologie

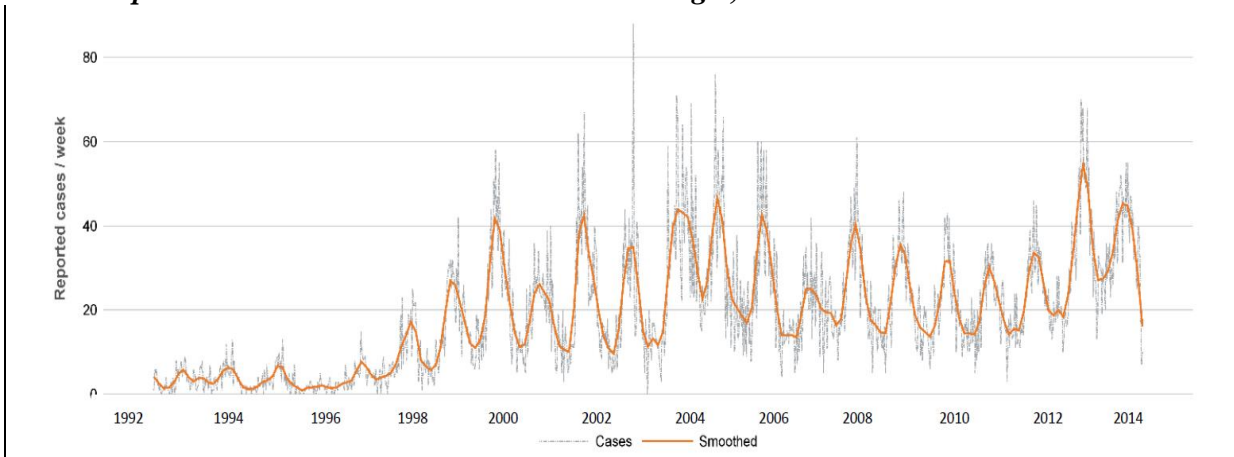
De bacterie die verantwoordelijk is voor Lyme-borreliose, *Borrelia burgdorferi*, wordt overgedragen op de mens door de beet van een geïnfecteerde teek van het complex *Ixodes ricinus*. Men kan gestoken worden door een teek in elk stadium van haar ontwikkeling (larve, nimf, volwassen). Nochtans lijken 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 (minstens 12 à 24 uur aanwezig op de huid), de dichtheid van de teken in de omgeving, de prevalentie van besmetting met *Borrelia* bij de teken (gemiddeld 13.7% in Europa, maar met grote variatie en in sommige gebieden boven 20 à 30%), het klimaat, het type vegetatie alsook het gedrag van de gastheer¹. Aangezien buitenactiviteiten frequenter voorkomen van de lente tot de herfst en nimfen maximaal actief zijn van mei 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 het netwerk van peillaboratoria, dat bestaat uit een veertigtal laboratoria verspreid over het ganse land die goed zijn voor 67% van de serologische tests uitgevoerd 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). Sinds de start van de surveillance ziet men schommelingen van jaar tot jaar in het aantal positieve serologische tests. Deze schommelingen kunnen het gevolg zijn van verschillende factoren, met name veranderingen in de diagnostische capaciteit voor de ziekte, de modaliteiten van de surveillance en de sensibilisatie van de artsen (met als gevolg meer aanvragen voor serologie). Zo werd een stijging van het aantal positieve serologische tests opgemerkt aan het eind van de jaren '90 toen deze opgenomen werden in de nomenclatuur van het RIZIV. Klimaatfactoren die een invloed hebben op de hoeveelheid teken en de aanwezigheid van gastheren kunnen deze variaties ook ten dele verklaren. In 2013 en 2014 zien we opnieuw een toename van het aantal positieve serologische tests, mogelijks te verklaren door zowel een grotere media-aandacht (waardoor meer aanvragen) en klimaatfactoren. Over het algemeen is er over verloop van de laatste 10 jaren echter geen sterk stijgende tendens en het aandeel van positieve resultaten (aantal positieve resultaten/aantal uitgevoerde tests) blijft stabiel (2 à 3% is positief, jaren 2007-2013).

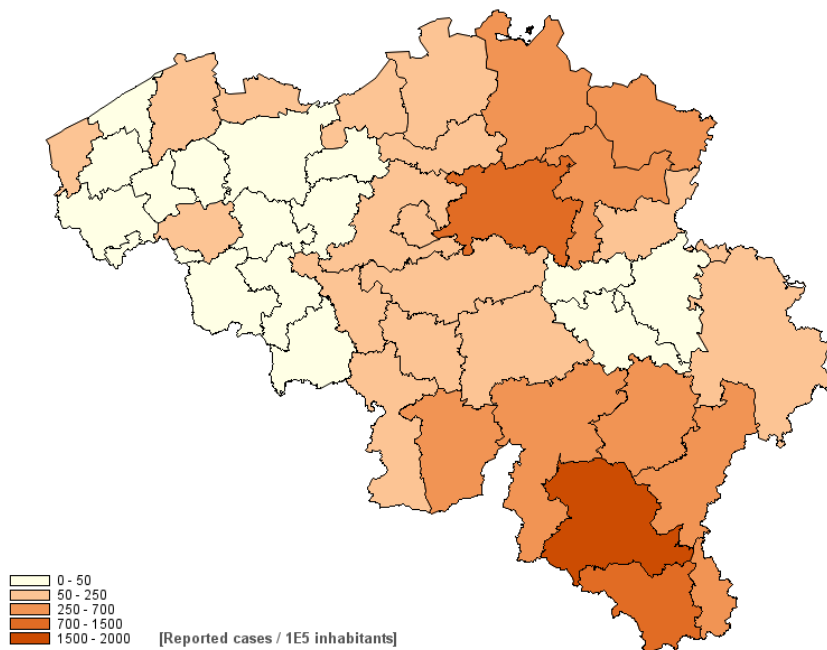
Lyme-borreliose komt overal in België voor, maar de incidentie varieert volgens de regio en van jaar tot jaar. Lyme-borreliose is zeldzaam aan de kust en komt meer voor in de regio van Leuven, de Kempen en de Ardennen (Figuur 2). Deze geografische distributie is wel gebaseerd op de woonplaats van de patiënt en de kaart geeft dus niet noodzakelijkerwijs een beeld van de plaats van blootstelling. De geografische distributie is anderzijds wel consistent met de zones waar de meeste teken voorkomen².

Er is een licht overwicht van mannen ten opzichte van vrouwen, mogelijks het gevolg van de hogere frequentie van beroepsactiviteiten en hobby's in de vrije natuur bij deze groep. **Serologische tests worden uitgevoerd bij patiënten uit alle leeftijdsgroepen (Figuur 3).**

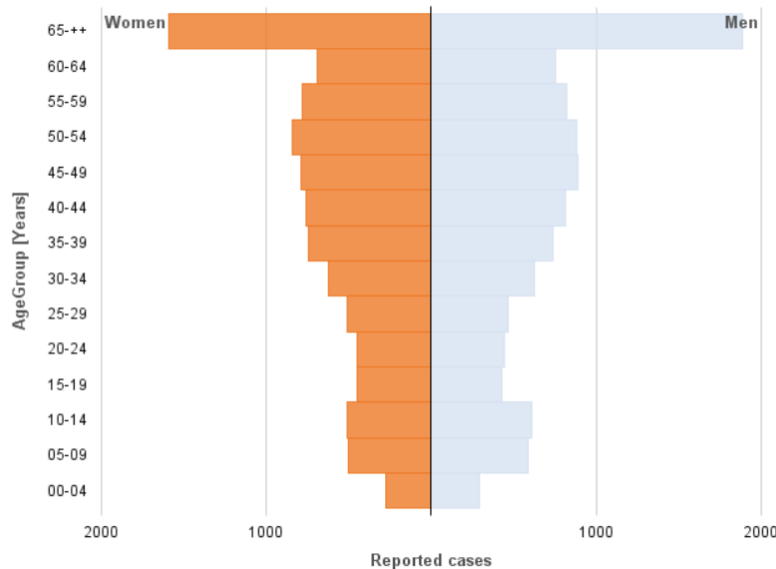
Figuur 1: Epidemiologische evolutie van het aantal positieve serologische tests uitgevoerd door de peillaboratoria tussen 1993 en 2014 in België, WIV-ISP



Figuur 2: Geografische spreiding van het aantal positieve serologische tests (per 100 000 inwoners) uitgevoerd door de peillaboratoria tussen 1993 en 2013 per administratieve zone in België, WIV-ISP



Figuur 3: Aantal positieve serologische tests uitgevoerd door de peillaboratoria van 1993 tot 2013 per leeftijdsgroep en volgens geslacht in België, WIV-ISP



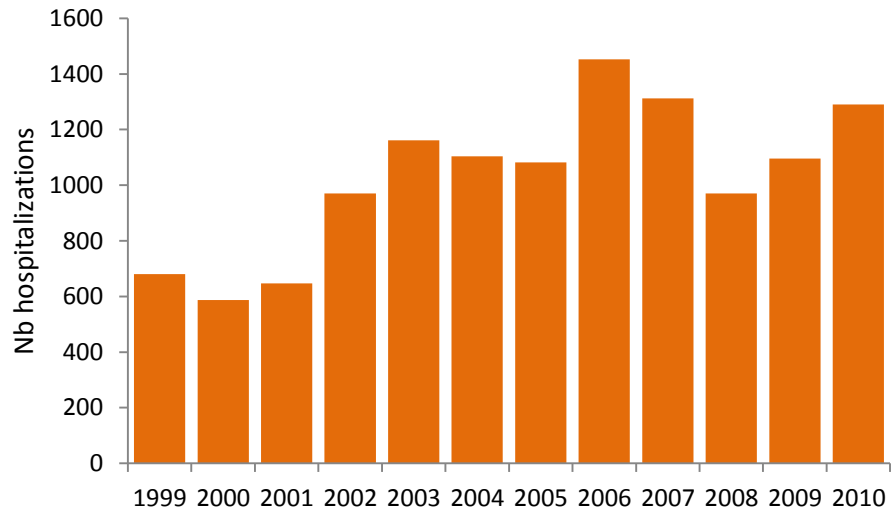
Om een vollediger beeld te krijgen van de epidemiologie van Lyme-borreliose in België wordt de serologische surveillance aangevuld met een klinische surveillance, die gebaseerd is op een schatting van het aantal patiënten die een arts consulteren omwille van erythema migrans (punctuele studies), alsook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

Zowel in 2003-2004 als 2008-2009 werden prospectieve studies uitgevoerd met behulp van het netwerk van peilpraktijken. 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 2008-2009³. 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.

Jaarlijks werden zo'n duizendtal patiënten gehospitaliseerd voor de ziekte van Lyme tussen 1999 en 2010 (spreiding 587 tot 1453) (Figuur 4). Aan het begin van de jaren 2000 zagen we een stijging van het aantal hospitalisaties wat overeenstemt met de bevindingen van het netwerk van peillaboratoria en wat vermoedelijk te wijten is aan een betere herkenning van de ziekte door de ontwikkeling en beschikbaarheid van diagnostische tests. Sinds 2002 zijn er schommelingen van jaar tot jaar, maar er is geen stijgende trend over de jaren.

De resultaten van de drie onafhankelijke informatiebronnen geven dus aan dat het aantal gevallen van Lyme-borreliose de laatste 10 jaar stabiel is gebleven.

Figuur 4: Aantal hospitalisaties voor ziekte van Lyme (ICD9) van 1999 tot 2010, Minimale Klinische Gegevens, België, WIV-ISP



Preventie en profylaxe

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

- bedekkende kledij te dragen (lange broek, kousen, lange mouwen, ...);
- een insectenwerend middel zoals DEET 20-50% 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); en
- permethrine aan te brengen op de werkkledij voor de risicoberoepen.

Momenteel is de houding in België dat men geen antibioticaprofylaxe geeft na een (gedocumenteerde) tekenbeet. De toediening van 200 mg doxycycline verlaagt het risico op klinische aantasting wel (3,2 versus 0,4%), maar dit voordeel is er enkel indien de graad van besmetting van de teek (*I. scapularis*) door *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)⁴.

In België zijn gemiddeld maar 12% (spreiding, 2.8% tot 21.6%) van de teken besmet met *Borrelia* spp⁵.

Een meta-analyse van vier Amerikaanse studies heeft aangetoond dat men 50 personen preventief moet behandelen om één geval van EM te voorkomen⁶.

Het is daarentegen wel aangewezen om bij een gedocumenteerde of vermoedelijke tekenbeet een klinische opvolging te verzekeren gedurende 30 dagen om het optreden van klinische manifestaties van Lyme-borreliose uit te sluiten. **Na een tekenbeet is er geen plaats voor een serologische opvolging als er geen symptomen zijn.**

Klinische manifestaties

De kliniek van de Europese vorm kan verschillen van die van de Amerikaanse vorm. In tegenstelling tot Europa, is in de Verenigde Staten voornamelijk *Borrelia burgdorferi* sensu stricto verantwoordelijk voor de ziekte. In dit document gaan we enkel in op de klinische vormen in Europa.

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 tekenbeet⁷.

Een aanzienlijk deel van de personen die blootgesteld worden aan *Borrelia* zullen nooit klinische symptomen ontwikkelen. 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 huid⁸⁻¹².

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. Maar men moet dan ook rekening houden met een mogelijke bacteriële surinfectie (vb. erysipelas) als gevolg van de tekenbeet of van de manipulaties om de teek te verwijderen.

Vroege gelokaliseerde Lyme-borreliose

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, al dan niet 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*¹³. 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). Zeer zeldzaam is er sprake van letsels die klein blijven en vaak bevinden deze zich dan op de ledematen¹⁴.

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

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

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 scrotum¹⁵⁻¹⁷.

Bij een twijfelachtige diagnose kan een biopsie aangewezen zijn, in het bijzonder bij andere lokalisaties dan het oor, om een lymfoom of 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 verdwijnt¹⁶.

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, gewrichten, hart en uitzonderlijk ook andere organen (ogen, lever, ...).

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)¹⁸⁻²⁰.

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

Vroege neuroborreliose

In Centraal-Europa is vroege neuroborreliose verantwoordelijk voor 3 tot 15% van de klinische manifestaties van Lyme-borreliose bij niet-behandelde patiënten^{8,9,20}. **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 nervusfacialisparese 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)^{21,22}.

Bij volwassenen ziet men het vaakst een meningoradiculitis gekenmerkt door radiculaire 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 verlopen en beantwoordt slecht aan NSAID's. De parese kan de craniale zenuwen aantasten, vooral de VII met een facialisparese,

de buikwand of de onderste ledematen. Aantasting van de andere craniale zenuwen is zeldzamer: de III of VI (diplopie), de V (aangezichtspijn), de VIII (gehoorstoornissen en vestibulair syndroom), de IX of X (slikproblemen). Uveitis behoort ook tot de mogelijkheden. Aantasting van de oogzenuw is omstreden; als het al bestaat dan is dit blijkbaar zeer zeldzaam²³. **Hoofdpijn komt vaak voor bij neuroborreliose (>40%),** maar uitgesproken hoofdpijn zonder radicaire pijn of parese is zeldzaam bij volwassenen²¹.

Andere vormen van perifere aantasting zijn mogelijk maar zeldzaam (plexitis, multiple mononeuropathie). Encefalitis, lymfocyttaire meningitis zonder andere symptomen, myelitis of CVA zijn zeldzame neurologische manifestaties^{24,25}.

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 zijn er sequelen²¹.

Carditis

Carditis is zeldzaam (1-5% van de klinische manifestaties) en manifesteert zich als een geleidingsstoornis, doorgaans een eerste-graads-atrioventriculair-blok²⁶⁻²⁸. Gewoonlijk gebeurt dit 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.

Late gedissemineerde Lyme-borreliose

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 blijven bestaan.

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).

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%)⁹. 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%) met normale bevindingen op LP en ook musculoskeletale aantasting is mogelijk (arthritis, sublaxatie 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 huidbiopsie²⁹.

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.

Chronische ziekte van Lyme en post-ziekte-van-Lyme-syndroom

De entiteit “chronische ziekte van Lyme” is niet duidelijk gedefinieerd en deze term wordt best vermeden aangezien er geen evidentie bestaat dat de infectie kan weerstaan aan een correcte antibiotherapie³⁰.

Sommige patiënten vertonen niettegenstaande nog symptomen na de behandeling. Het kan gaan om sequelen van de infectie, maar in heel wat gevallen gaat het om specifieke klachten zoals vermoeidheid, musculoskeletale pijn, concentratieproblemen, hoofdpijn en geheugenstoornissen. De entiteit “post-ziekte-van-Lyme-syndroom” 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. Deze term moet toch met voorzichtigheid gebruikt worden want het bestaan van deze entiteit wordt betwist. Men moet rekening houden met de mogelijkheid van een verkeerde diagnose. Bovendien is er geen bewijs dat deze vage klachten vaker voorkomen bij deze patiënten dan in de algemene bevolking. Ten slotte is er momenteel geen fysiopathologisch mechanisme gekend dat deze entiteit kan verklaren. Verschillende mogelijkheden worden opgeworpen (auto-immuniteit, verstoorde cytokines, gebrekkige weerstand, ...) echter zonder duidelijke conclusies tot op heden^{31,32}.

Er is in elk geval geen enkel bewijs voor het nut van langdurige of herhaalde antibiotherapie³³. Dit stelt de patiënt nodeloos bloot aan mogelijke toxiciteit, nevenwerkingen en ontwikkeling van resistente bacteriën.

Specifieke situaties

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

Zwangerschap: In tegenstelling tot wat de eerste publicaties suggereerden, bestaat er geen associatie tussen Lyme-borreliose en prematuriteit, mors in utero of congenitale malformaties³⁴⁻³⁶. **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 en borstvoeding.

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 wel oplopen tot 50% bij risicogroepen (boswachter, werk of hobby's in de natuur). Een positieve serologie zonder karakteristieke symptomen wijst daarom niet op een actieve infectie. Een antibiotherapie wordt dan ook nooit opgestart op basis van louter een positieve serologie.

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

Persisterende of nieuwe infectie

De IgG-antistoffen hebben geen beschermend effect en kunnen een nieuwe infectie dus niet vermijden³⁷.

Het is moeilijk om een onderscheid te maken tussen enerzijds een persisterende infectie door falen van de antibiotische behandeling en anderzijds een nieuwe infectie. Men moet eerst en vooral zeker zijn dat de patiënt therapietrouw is geweest. Men kan het DNA van de spirocheet vóór en na de behandeling extraheren en vervolgens door sequenceren aantonen dat de stammen identiek zijn. In geval van een positieve serologie voor *Borrelia* (IgG) kan men een nieuwe infectie objectiveren door een stijging van de IgG-titer in associatie met manifestaties van Lyme-borreliose³⁸⁻⁴¹.

Diagnostiek in functie van het klinisch beeld

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 sensibiliteit van de serologie (IgM en IgG) bedraagt in dit stadium ongeveer 50%. Een controle van de serologie na minstens 4 weken verhoogt de sensibiliteit wel tot 70%. 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 blokkeren⁴²⁻⁴⁴. 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 tamelijk suggestief en andere diagnoses kunnen dan uitgesloten worden.

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

Borrelia-lymfocytom

De serologie (IgM en IgG) is dikwijls positief aangezien dit letsel later optreedt dan EM en bovendien lange tijd aanwezig kan blijven. De sensibiliteit bedraagt ongeveer 70%⁴⁵. 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 sensibiliteit van 67%⁴⁶.

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 sensibiliteit nog laag met 21% (binnen de 3 weken) maar deze stijgt mettertijd tot 90% na 6 weken⁴⁷. Een controle minstens 4 weken na de eerste serologie verhoogt de sensibiliteit bij vroege neuroborreliose tot 98%. Het is dus aangewezen om de serologie na enkele weken te herhalen bij vermoeden van vroege neuroborreliose in afwezigheid van Borrelia-antistoffen indien de ziekte niet langer dan 6 à 8 weken aanwezig is.

Een lumbaalpunctie is aangewezen bij vermoeden van een vroege neuroborreliose (behalve bij een zeer suggestief klinisch beeld zoals een facialisparesis tegelijkertijd met of kort na een EM). **Karakteristieke bevindingen zijn pleiocytose (lymfocytose) en matige stijging van het eiwit. Men gaat ook na of er intrathecaal specifieke antistoffen geproduceerd worden.** De serologie op cerebrospinaal vocht (CSV) kan positief zijn vóór de serologie op bloed, vooral bij kinderen^{48,49}. PCR is van weinig nut want weinig sensibel op 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 CSV⁵⁰. 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 in dit geval wel aangewezen.

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.

Lyme-artritis

Aangezien het gaat om een laattijdige manifestatie, is de **serologie altijd positief** met hoge IgG-titers^{51,52}. **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%).

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).

ACA

De serologie is altijd positief met hoge IgG-titers⁵³. Het anatomopathologisch onderzoek van een biopsie toont karakteristieke afwijkingen laat toe om andere diagnoses uit te sluiten⁷.

Behandeling

Alle klinische manifestaties van Lyme-borreliose moeten gericht behandeld worden met antibiotica. Daarentegen, een positieve serologie zonder karakteristieke symptomen is een serologisch restverschijnsel of een vals-positief resultaat en moet niet behandeld worden, zodat men een onverantwoorde blootstelling aan antibiotica kan vermijden. Bij specifieke 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 sp.* Is er tot op heden nog geen antibacteriële resistentie gerapporteerd. 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.

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 axetil	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 doxycycline⁵⁴.

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 falen⁵⁵⁻⁵⁸. 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.

Vroege neuroborreliose

Recente Scandinavische studies hebben aangetoond dat doxycycline bij vroege neuroborreliose even effectief is als ceftriaxon^{21,59-62}. 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.

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

Lyme-artritis

De respons op behandeling kan traag zijn en over meerdere maanden verlopen⁶³. 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^{64,65}.

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 1gift (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.

Carditis

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

Antibiotica	Dosis volwassenen	Dosis kinderen	behandelingsduur
Doxycycline ¹	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.

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.

Diagnostische tests

Serologie

Serologie geniet de voorkeur als diagnostische test en is in de meerderheid van de gevallen trouwens de enige beschikbare test voor de diagnostiek van Lyme-borreliose.

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* 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. Antistoffen (IgG en/of IgM) kunnen gedurende jaren positief blijven.** In de loop van de jaren na de behandeling zal de titer in de meeste gevallen wel dalen. 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.

Enzyme-immunoassay (EIA) en immunoblot

De methodes die op de markt beschikbaar zijn moeten voldoen aan de Europese aanbevelingen (EUCALB). Het is aangewezen daarnaast ook een lokale validatie 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 sensibiliteit 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 specifieke reacties lager door de voorafgaande adsorptie van het serum met *B. burgdorferi* s.l. en/of extracten van eiwitten of flagelline van *B. burgdorferi*. Vooral voor IgG is de specificiteit van de EIA's van de 2^e generatie beter. De EIA's van de 3^e generatie bevatten specifieke recombinante antigenen van *B. burgdorferi* s.l. of het synthetische peptide C6. Er bestaan ook EIA's van de 2^e generatie waaraan men recombinante antigenen heeft toegevoegd om de sensibiliteit 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 dan die van de 2^e generatie (met recombinante antigenen), maar lager dan die van de immunoblots.

In Europa is de sensibiteit van de IgM/IgG of IgG EIA's van de 3^e generatie wat lager dan die van de IgM/IgG EIA's van de 2^e generatie (met recombinante antigenen) in de vroege stadia van Lyme-borreliose.

In de secundaire en tertiaire stadia van Lyme-borreliose is de sensibiteit van de IgM/IgG of IgG EIA's van de 3^e generatie vergelijkbaar en een beetje lager dan die van de IgM/IgG EIA's van de 2^e generatie (met recombinante antigenen).

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.

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 index van intrathecale synthese.

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 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 sensibiteit van de index voor intrathecale synthese van antistoffen bedraagt 38-89% bij vroege neuroborreliose. Vooral bij neuroborreliose met symptomen van korte duur kan de intrathecale productie nog niet op gang zijn gekomen. Bij een neuroborreliose die al langer dan 6-8 weken aan de gang is, hebben alle patiënten intrathecale productie van specifieke antistoffen tegen Borrelia.

De index voor intrathecale synthese van antistoffen laat niet toe een onderscheid te maken tussen actieve infectie, convalescentie of een doorgemaakte infectie. Na een succesvolle behandeling blijven de IgG-antistoffen vaak positief.

Kweek en rechtstreeks onderzoek

De kweek van huidbiopsieën heeft een sensibiteit tussen 40 en 80%. Voor bloed en CSV is de sensibiteit 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 de weefsels en lichaamsvochten⁶⁶.

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 bij twijfel over de diagnose van EM na een gespecialiseerd advies bedraagt de sensibiliteit gemiddeld 68% met een specificiteit van 100%⁶⁷. De sensibiliteit van biopsien aan de rand van het letsel, dichtbij de tekenbeet en net buiten het erytheem lijkt hoger te zijn^{68,69}. De sensibiliteit voor gewrichtsvocht en synoviale biopsieën is goed (76-85%), maar het gaat om studies met een klein aantal stalen⁷⁰.

PCR heeft weinig waarde bij neurologische aantasting (sensibiliteit tussen 10 en 50%). In de meerderheid van de gevallen is het opsporen van intrathecale synthese van 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.

Immunologische analyses

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 met serologie toont de LTT niet de ziekteactiviteit 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 sensibel en specifiek beschouwd dan de serologie. **De LTT tests zijn niet gestandaardiseerd en gevalideerd voor *B. burgdorferi* en worden dus niet aangeraden**^{71,72}.

Immunologische markers

De bepaling van het gehalte aan **CXCL13** in het CSV werd beschreven. Bij vroege neuroborreliose had 88-100% van de patiënten een verhoogd gehalte aan CXCL13. Deze merker is echter niet specifiek voor een infectie met *B. burgdorferi*. Ook bij infecties met andere spirocheten en 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 dus niet aangeraden.**

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

Referenties

1. Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, Derdakova M, Estrada-Peña A, George JC, et al. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasit Vectors* 2013;6:1.
2. Obsomer V, Wirtgen M, Linden A, Claerebout E, Heyman P, Heylen D, 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.
3. Vanthomme K, Bossuyt N, Boffin N, Van C. 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(9):2385-90.
4. Nadelman RB, Nowakowski J, Fish D, Falco RC, Freeman K, McKenna D, Welch P, Marcus R, Agüero-Rosenfeld ME, Dennis DT, Wormser GP; Tick Bite Study Group. Prophylaxis with single-dose doxycycline for the prevention of Lyme disease after an *Ixodes scapularis* tick bite. *N Engl J Med*. 2001;345(2):79-84.
5. Kesteman T, Rossi C, Bastien P, Brouillard J, Avesani V, Olive N, Martin P, Delmée M. Prevalence and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in *Ixodes* ticks in Belgium. *Acta Clin Belg*. 2010;65(5):319-22.
6. Warshafsky S, Lee DH, Francois LK, Nowakowski J, Nadelman RB, Wormser GP. Efficacy of antibiotic prophylaxis for the prevention of Lyme disease: an updated systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(6):1137-44.
7. Stanek G, Fingerle V, Hunfeld KP, 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(1):69-79.
8. Rizzoli A, Hauffe H, Carpi G, Vourc H G, Neteler M, Rosa R. Lyme borreliosis in Europe. *Euro Surveill* 2011;16(27).
9. 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(20):1319-27.
10. Huppertz HI, Böhme M, Standaert SM, Karch H, Plotkin SA. Incidence of Lyme borreliosis in the Würzburg region of Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1999;18(10):697-703.
11. Letrilliart L, Ragon B, Hanslik T, Flahault A. Lyme disease in France: a primary care-based prospective study. *Epidemiol Infect* 2005;133(5):935-42.
12. Mehnert WH, Krause G. Surveillance of Lyme borreliosis in Germany, 2002 and 2003. *Euro Surveill* 2005;10(4):83-5.
13. Carlsson SA, Granlund H, Jansson C, Nyman D, Wahlberg P. Characteristics of erythema migrans in *Borrelia afzelii* and *Borrelia garinii* infections. *Scand J Infect Dis*. 2003;35(1):31-3.
14. Weber K, Wilske B. Mini erythema migrans: a sign of early Lyme borreliosis. *Dermatology* 2006;212(2):113-6.
15. Pohl-Koppe A, Wilske B, Weiss M, Schmidt H. *Borrelia lymphocytoma* in childhood. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17(5):423-6.
16. Maraspin V, Cimperman J, Lotric-Furlan S, Ruzić-Sabljčić E, Jurca T, Picken RN, Strle F. Solitary borrelial lymphocytoma in adult patients. *Wien Klin Wochenschr* 2002;114(13-14):515-23.
17. Palmen C, Jamblin P, Florkin B, Hoyoux C. Le lymphocytome borrélien du lobe de l'oreille. *Arch Pediatr*. 2010;17(8):1159-61.

18. Maraspin V, Cimperman J, Lotric-Furlan S, Ruzić-Sabljić E, Jurca T, Strle F. Cerebrospinal fluid findings in adult patients with multiple erythema migrans. *Wien Klin Wochenschr* 2002;114(13-14):505-9.
19. Arnez M, Pleterski-Rigler D, Ahcan J, Ruzić-Sabljić E, Strle F. Demographic features, clinical characteristics and laboratory findings in children with multiple erythema migrans in Slovenia. *Wien Klin Wochenschr* 2001;113(3-4):98-101.
20. Sunil K Sood (editor). *Lyme Borreliosis in Europe and North America: Epidemiology and Clinical Practice*. 2011, Wiley-Blackwell.
21. Mygland A, Ljøstad U, Fingerle V, Rupprecht T, Schmutzhard E, Steiner I; European Federation of Neurological Societies. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol* 2010;17(1):8-16, e1-4.
22. Tuerlinckx D, Glupczynski Y. Lyme neuroborreliosis in children. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010;8(4):455-63.
23. Sibony P, Halperin J, Coyle PK, Patel K. Reactive Lyme serology in optic neuritis. *J Neuroophthalmol* 2005;25(2):71-82.
24. Halperin JJ. Lyme disease and the peripheral nervous system. *Muscle Nerve* 2003;28(2):133-43.
25. Halperin J, Luft BJ, Volkman DJ, Dattwyler RJ. Lyme neuroborreliosis. Peripheral nervous system manifestations. *Brain*. 1990;113(Pt 4):1207-21.
26. Forrester JD and Mead P. Third-degree heart block associated with Lyme carditis: Review of published cases. *Clin Infect Dis* 2014;59(7):996-1000.
27. Costello JM, Alexander ME, Greco KM, Perez-Atayde AR, Laussen PC. Lyme carditis in children: Presentation, predictive factors, and clinical course. *Pediatrics* 2009;123:5 e835-e841.
28. Pinto DS. Cardiac manifestations of Lyme disease. *Med Clin North Am* 2002;86(2):285-296.
29. 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(3):545-51.
30. Berger BW, Johnson RC, Kodner C, Coleman L. Failure of *Borrelia burgdorferi* to survive in the skin of patients with antibiotic-treated Lyme disease. *J Am Acad Dermatol* 1992;27(1):34-7.
31. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klemperer MS, Krause PJ, Bakken JS, Strle F, Stanek G, Bockenstedt L, Fish D, Dumler JS, Nadelman RB. 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(9):1089-134.
32. Halperin JJ. Lyme disease: neurology, neurobiology, and behavior. *Clin Infect Dis* 2014;58(9):1267-72.
33. Klemperer MS, Hu LT, Evans J, Schmid CH, Johnson GM, Trevino RP, Norton D, 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(2):85-92.
34. 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(3 Pt 1):711-6.
35. Strobino BA, Williams CL, Abid S, Chalson R, Spierling P. Lyme disease and pregnancy outcome: a prospective study of two thousand prenatal patients. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169(2 Pt 1):367-74.
36. Gerber MA, Zalneraitis EL. Childhood neurologic disorders and Lyme disease during pregnancy. *Pediatr Neurol* 1994;11(1):41-3.

37. Strle F, Nelson JA, Ruzic-Sabljić E, Cimperman J, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Cheng Y, Picken MM, Trenholme GM, Picken RN. European Lyme borreliosis: 231 culture-confirmed cases involving patients with erythema migrans. *Clin Infect Dis* 1996;23(1):61-5.
38. Nadelman RB, Hanincová K, Mukherjee P, Liveris D, Nowakowski J, McKenna D, Brisson D, Cooper D, Bittker S, Madison G, Holmgren D, Schwartz I, Wormser GP. Differentiation of reinfection from relapse in recurrent Lyme disease. *N Engl J Med* 2012;367(20):1883-90.
39. Hassler D, Maiwald M. Reinfection with *Borrelia burgdorferi* in an immunocompetent patient. *Dtsch Med Wochenschr* 1994;119(10):338-42.
40. Grygorczuk S, Pancewicz S, Zajkowska J, Kondrusik M, Swierzbińska R, Moniuszko A, Pawlak-Zalewska W. Re-infection with *Borrelia burgdorferi* s.l. in a patient with a history of neuroborreliosis - case report. *Pol Merkur Lekarski* 2008;25(147):254-6.
41. Vanousová D, Hercogová J. Lyme borreliosis treatment. *Dermatol Ther* 2008;21(2):101-9.
42. Aguero-Rosenfeld ME, Nowakowski J, Bittker S, Cooper D, Nadelman RB, Wormser GP. Evolution of the serological response to *Borrelia burgdorferi* in treated patients with culture-confirmed Erythema Migrans. *J Clin Microbiol* 1996;34:1-9.
43. Luft B, Dattwyler RJ, Johnson RC, Luger SW, Bosler EM, Rahn DW et al. Azithromycine compared with amoxicillin in the treatment of Erythema Migrans. *An Intern Med* 1996;124:785-91.
44. Lomholt H, Lebech AM, Hansen K, Brandup F, Halkier-Sorensen L. Long-term serological follow-up of patients treated for chronic cutaneous borreliosis or culture-positive Erythema migrans. *Acta Derm Venereol* 2000;80:362-6.
45. Picken RN, Strle F, Ruzic-Sabljić E, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Cimperman J, Cheng Y, Picken MM. Molecular subtyping of *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates from five patients with solitary lymphocytoma. *J Invest Dermatol*. 1997;108(1):92-7.
46. Colli C, Leinweber B, Müllegger R, Chott A, Kerl H, Cerroni L. *Borrelia burgdorferi*-associated lymphocytoma cutis: clinicopathologic, immunophenotypic, and molecular study of 106 cases. *J Cutan Pathol* 2004;31(3):232-40.
47. Zbinden R, Goldenberger D, Lucchini GM, Altwegg M. 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(7):1795-8.
48. Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, von Busch K, Kühbeck R, Pfister HW, Einhäupl K. Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphocytic meningoradiculitis (Bannwarth's syndrome). *J Infect Dis* 1986;153(2):304-14.
49. 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(10):911-5.
50. Tuerlinckx D, Bodart E, Jamart J, Glupczynski Y. 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(5):394-7.
51. Panelius J, Lahdenne P, Heikkilä T, Peltomaa M, Oksi J, Seppälä I. Recombinant OspC from *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii* and *B. garinii* in the serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J Med Microbiol* 2002;51(9):731-9.
52. Heikkilä T, Huppertz HI, Seppälä I, Sillanpää H, Saxen H, Lahdenne P. Recombinant or peptide antigens in the serology of Lyme arthritis in children. *J Infect Dis* 2003;187(12):1888-94.

53. Brehmer-Andersson E, Hovmark A, Asbrink E. Acrodermatitis chronica atrophicans: histopathologic findings and clinical correlations in 111 cases. *Acta Derm Venereol* 1998;78(3):207-13.
54. Wormser GP, Ramanathan R, Nowakowski J, McKenna D, Holmgren D, Visintainer P, Dornbush R, Singh B, Nadelman RB. Duration of antibiotic therapy for early Lyme disease. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 2003;138(9):697-704.
55. Luft BJ, Dattwyler RJ, Johnson RC, Luger SW, Bosler EM, Rahn DW, Masters EJ, Grunwaldt E, Gadgil SD. Azithromycin compared with amoxicillin in the treatment of erythema migrans. A double-blind, randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1996;124(9):785-91.
56. Strle F, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Ruzić-Sabljić E, Cimperman J. Azithromycin and doxycycline for treatment of *Borrelia* culture-positive erythema migrans. *Infection* 1996;24(1):64-8.
57. Strle F, Preac-Mursic V, Cimperman J, Ruzic E, Maraspin V, Jereb M. Azithromycin versus doxycycline for treatment of erythema migrans: clinical and microbiological findings. *Infection* 1993;21(2):83-8.
58. Nizič T, Velikanje E, Ružić-Sabljić E, Arnež M. Solitary erythema migrans in children: comparison of treatment with clarithromycin and amoxicillin. *Wien Klin Wochenschr.* 2012;124(13-14):427-33.
59. Pfister HW, Preac-Mursic V, Wilske B, Einhäupl KM. Cefotaxime vs penicillin G for acute neurologic manifestations in Lyme borreliosis. A prospective randomized study. *Arch Neurol* 1989;46(11):1190-4.
60. Ljøstad U, Skogvoll E, Eikeland R, Midgard R, Skarpaas T, Berg A, Mygland A. Oral doxycycline versus intravenous ceftriaxone for European Lyme neuroborreliosis: a multicentre, non-inferiority, double-blind, randomised trial. *Lancet Neurol.* 2008;7(8):690-5.
61. Bremell D, Dotevall L. Oral doxycycline for Lyme neuroborreliosis with symptoms of encephalitis, myelitis, vasculitis or intracranial hypertension. *Eur J Neurol.* 2014;21(9):1162-7.
62. Halperin JJ. Nervous system Lyme disease: diagnosis and treatment. *Curr Treat Options Neurol* 2013;15(4):454-64.
63. Steere AC, Levin RE, Molloy PJ, Kalish RA, Abraham JH 3rd, Liu NY, Schmid CH. Treatment of Lyme arthritis. *Arthritis Rheum* 1994;37(6):878-88.
64. Steere AC, Angelis SM. Therapy for Lyme arthritis: strategies for the treatment of antibiotic-refractory arthritis. *Arthritis Rheum* 2006;54(10):3079-86.
65. Tory HO, Zurakowski D, Sundel RP. Outcomes of children treated for Lyme arthritis: results of a large pediatric cohort. *J Rheumatol.* 2010;37(5):1049-55.
66. De Koning J, Bosma RB, Hoogkamp-Korstanje JA. Demonstration of spirochaetes in patients with Lyme disease with a modified silver stain. *J Med Microbiol* 1987;23(3):261-7.
67. Dumler JS. Molecular diagnosis of Lyme disease: review and meta-analysis. *Mol Diagn* 2001;6(1):1-11.
68. Berger BW, Johnson RC, Kodner C, Coleman L. Cultivation of *Borrelia burgdorferi* from erythema migrans lesions and perilesional skin. *J Clin Microbiol* 1992;30(2):359-61.
69. Jurca T, Ruzić-Sabljić E, Lotric-Furlan S, Maraspin V, Cimperman J, Picken RN, Strle F. 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(3):636-8.

70. Jaulhac B, Heller R, Limbach FX, Hansmann Y, Lipsker D, Monteil H, Sibia J, Piémont Y. Direct molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in synovial samples from patients with Lyme arthritis. *J Clin Microbiol* 2000;38(5):1895-900.
71. Dessau RB, Fingerle V, Gray J, Hunfeld KP, Jaulhac B, Kahl O, Kristoferitsch W, Stanek G, Strle F. The lymphocyte transformation test for the diagnosis of Lyme borreliosis has currently not been shown to be clinically useful. *Clin Microbiol Infect* 2014.
72. CDC. Lyme disease: Other types of laboratory testing. www.cdc.gov/lyme/diagnostesting/LabTest/OtherLab/index.html.