



CHAMBRE DES DÉPUTÉS
GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG

Session ordinaire 2015-2016

TS/vg

P.V. PETI 10
P.V. SECS 11
P.V. TESS 08

Commission des Pétitions
et
Commission de la Santé, de l'Egalité des chances et des Sports
et
Commission du Travail, de l'Emploi et de la Sécurité sociale

Procès-verbal de la réunion du 03 février 2016

Ordre du jour :

1. DEBAT PUBLIC

Pétition publique 567 - Pour une meilleure prise en charge de la maladie de Lyme

2. Conclusions des commissions

*

Présents : M. Mars Di Bartolomeo, Président de la Chambre des Députés

M. Marc Angel, Mme Nancy Arendt, M. Max Hahn, M. Jean-Marie Halsdorf, Mme Cécile Hemmen, M. Roger Negri, M. Marcel Oberweis, M. Marco Schank, M. Roberto Traversini, M. David Wagner, membres de la Commission des Pétitions

Mme Diane Adehm remplaçant Mme Martine Hansen, Mme Sylvie Andrich-Duval, M. Marc Angel, Mme Nancy Arendt, Mme Tess Burton, M. Georges Engel, M. Jean-Marie Halsdorf, Mme Cécile Hemmen, Mme Françoise Hetto-Gaasch, Mme Josée Lorsché, Mme Martine Mergen, M. Edy Mertens, M. Serge Urbany, membres de la Commission de la Santé, de l'Egalité des chances et des Sports
M. Fernand Kartheiser, observateur

Mme Sylvie Andrich-Duval, M. Gérard Anzia, M. Frank Arndt, M. André Bauler, Mme Taina Bofferding, Mme Anne Brasseur remplaçant Mme Joëlle Elvinger, M. Georges Engel, M. Jean-Marie Halsdorf, M. Aly Kaes, Mme Josée Lorsché, M. Edy Mertens, M. Marc Spautz, M. Serge Urbany, membres de la Commission du Travail, de l'Emploi et de la Sécurité sociale
M. Gaast Gibéryen,

Mme Lydia Mutsch, Ministre de la Santé
M. Romain Schneider, Ministre de la Sécurité sociale

Dr Gérard Holbach, Mme Sonja Trierweiler, du Ministère de la Sécurité sociale
Dr Jean-Claude Schmit, du Ministère de la Santé

Mme Tania Silva, Dr Arantzazu De Perdigo, Dr Marc Pauly, Prof. Christian Perronne, pétitionnaires

Mme Vera Haas-Gelejinsky, Mme Tania Sonnetti, de l'Administration parlementaire

Excusés : M. Lex Delles, M. Gusty Graas, Mme Martine Hansen, membres de la Commission des Pétitions

M. Gilles Baum, M. Eugène Berger, Mme Claudia Dall'Agnol, M. Gusty Graas, Mme Martine Hansen, M. Alexander Krieps, membres de la Commission de la Santé, de l'Egalité des chances et des Sports

M. Félix Eischen, Mme Joëlle Elvinger, M. Alexander Krieps, M. Paul-Henri Meyers, M. Serge Wilmes, membres de la Commission du Travail, de l'Emploi et de la Sécurité sociale

*

Présidence : M. Mars Di Bartolomeo, Président de la Chambre des Députés
M. Marco Schank, Président de la Commission des Pétitions
Mme Cécile Hemmen, Présidente de la Commission de la Santé, de l'Egalité des chances et des Sports
M. Georges Engel, Président de la Commission du Travail, de l'Emploi et de la Sécurité sociale

*

1. DEBAT PUBLIC

Pétition publique 567 - Pour une meilleure prise en charge de la maladie de Lyme

M. le Président Mars Di Bartolomeo félicite les pétitionnaires d'avoir recueilli 7.460 signatures en vue d'une meilleure prise en charge d'une maladie peu connue.

M. le Président de la Commission des Pétitions Marco Schank renvoie à la documentation des pétitionnaires diffusée en vue du débat, en particulier la présentation Powerpoint, et explique le déroulement de la réunion.

Intervention des pétitionnaires :

La pétitionnaire Mme Tania Silva, atteinte de borréliose chronique depuis son enfance, retrace le long chemin parcouru dans la lutte contre sa maladie.

En 2015, après le diagnostic de la borréliose, la patiente a suivi un traitement antibiotique de trois semaines et, en l'absence de guérison, s'est vu prescrire des antidépresseurs.

C'est sur Internet que la pétitionnaire a découvert l'existence de la borréiose chronique et le contact avec d'autres patients dans les médias sociaux l'a poussée à lutter en vue d'une meilleure prise en charge de cette maladie.

Après avoir trouvé un médecin lui prescrivant un traitement adéquat, la patiente a fait de grands progrès et a pu reprendre une vie normale. Et de citer le témoignage de plusieurs personnes atteintes de la maladie de Lyme.

La pétitionnaire met l'accent sur la prévention dans un domaine où il existe un profond manque d'information. Ainsi il est établi que beaucoup de gens ignorent que la tique est porteuse de borréiose, ou comment utiliser un tire-tique.

La pétitionnaire revendique des panneaux d'avertissement dans les forêts, la mise à disposition de brochures dans les écoles et les crèches et la distribution de tire-tiques.

Intervention du Professeur Christian Perronne :

Le professeur Christian Perronne, chef du service des maladies infectieuses de l'Hôpital Raymond-Poincaré de Garches, en région parisienne, décrit brièvement le sort pénible réservé aux personnes atteintes de cette maladie peu connue. Passant d'un spécialiste à l'autre sans le moindre résultat, leur traitement n'est pas sans avoir de répercussions au niveau économique.

La maladie de Lyme est transmise principalement par les morsures de tiques passées inaperçues deux fois sur trois. L'érythème migrant, première manifestation de la maladie, est souvent absent, méconnu ou non diagnostiqué. La maladie peut simuler de nombreux symptômes, les trois quarts des symptômes étant subjectifs.

Un des moyens permettant de détecter la maladie consiste à faire un test sérologique. Ce test n'a jamais été convenablement calibré, le calibrage s'étant fait sur les donneurs de sang, et non sur des malades. En bref, les tests ne sont pas fiables du tout. Si le test est positif, on reçoit un traitement, mais s'il est négatif, le malade consulte bon nombre de spécialistes sans résultat aucun.

Le soutien public fait cruellement défaut dans la lutte contre cette maladie, dont personne ne peut nier la recrudescence. Le développement de tests fiables et la recherche de traitements appropriés incluant des soins alternatifs, ont connu peu de progression depuis des décennies. Sur le plan international, le Professeur constate un progrès dans la mesure où trois Etats américains et le Canada ont voté une loi pour reconnaître officiellement la maladie de Lyme chronique et encourager la recherche.

Plus de détails concernant le fonctionnement des tests et les pratiques médicales peuvent être consultés dans le document Powerpoint joint en annexe.

Echange de vues :

Un représentant du groupe DP se demande si, en matière de sensibilisation, il y a lieu de s'adresser plus particulièrement aux médecins, et pourquoi il n'y a pas eu d'évolution au niveau des tests.

M. le Professeur Perronne situe le problème au niveau des autorités dans certains pays, bon nombre de médecins craignant de se voir reprocher une mauvaise pratique.

Une représentante du groupe CSV, médecin-urgentiste de profession, se montre du moins étonnée de cette attitude vis-à-vis des autorités de santé, alors que notre pays connaît une grande liberté thérapeutique et que des traitements non classiques sont dans la plupart des cas autorisés par le contrôle médical. Déjà du temps de ses études universitaires, la maladie de Lyme sous sa forme chronique était bien connue et aucun médecin n'en nierait l'existence. Il est vrai que les tests Elisa et Western blot, peu fiables, présentent non seulement beaucoup de faux négatifs, mais également beaucoup de faux positifs. Reste la discussion que le test TTL qui, actuellement n'est pas fait au Luxembourg, procure des résultats plus fiables.

Pour ce qui en est du manque de sensibilisation évoqué par la pétitionnaire, l'intervenante se montre étonnée, vu que la population, depuis des générations déjà, sait parfaitement qu'il faut retirer les tiques et désinfecter la plaie. Dans les écoles, les enfants sont sensibilisés à ce problème et des conseils pratiques peuvent être obtenus dans toutes les pharmacies.

La pétitionnaire dit ne jamais avoir été informée à l'école.

Un médecin représentant du groupe politique DP dit avoir travaillé en Autriche où il a rencontré de nombreux patients mordus par une tique. Du moment que le test était positif, les patients se sont vu administrer des antibiotiques. Au total, deux pour cent des malades étaient atteints d'une forme chronique de la maladie. Au Luxembourg, les autorités ne sont pas insensibles aux nouvelles maladies. Dans tels cas, les patients sont envoyés chez des spécialistes, en l'occurrence des neurologues et dans des centres spécialisés, si nécessaire.

Au plan de la prévention, le Ministère de la Santé a lancé chaque année des campagnes de sensibilisation.

L'intervenant, se demandant en quoi consiste réellement le but de la pétition, affirme que tous ses confrères sont bien formés pour traiter cette maladie chronique et qu'ils peuvent compter sur le plein soutien du Ministère de la Santé.

Une représentante du groupe politique CSV, en se référant à sa question parlementaire, constate que la maladie de Lyme est une maladie infectieuse scientifiquement reconnue qui tombe sous le champ d'application d'un règlement grand-ducal et pour laquelle il existe une obligation de déclaration de la part des médecins. Or, force est de constater que les déclarations ne se font pas de façon systématique.

Par ailleurs, l'intervenante se demande s'il y a lieu d'intégrer la maladie de Lyme dans la formation continue des médecins. Enfin, elle constate que certains pays établissent une cartographie en matière propagation de la borréliose et pose la question de savoir si une telle cartographie pourrait servir à la prévention.

Pour ce qui en est des tests, le Professeur Perronne admet qu'il y a également des faux positifs, ce qui n'est pas significatif dans la mesure où il ne soigne que les patients présentant des symptômes. Néanmoins il maintient que de

nombreux médecins ne reconnaissent pas la maladie de Lyme dans les érythèmes migrants et que dans les universités, la maladie est traitée dans un laps de temps dérisoire. Quant au but de la pétition, il consiste, toujours selon le professeur, à promouvoir la recherche dans le domaine de tests de dépistage fiables.

Le docteur Arantzazu De Perdigo avoue ne pas avoir connu la maladie jusqu'au moment où elle est tombée malade elle-même. Ayant souffert de nombreux symptômes, elle finit par découvrir qu'elle a la maladie de Lyme. Après avoir consulté de nombreux collègues et suite à une prise d'antibiotiques de trois semaines – sans résultats - elle a prolongé de trois mois et de sa propre initiative la prise d'antibiotiques, sans que les symptômes disparaissent. C'est en ce moment qu'elle s'est rendu compte qu'elle ne savait rien au sujet de la maladie de Lyme. Alors que les campagnes pour d'autres maladies sont fréquentes, on passe sous silence la maladie de Lyme. Selon l'intervenante, il y a lieu d'améliorer l'information et la formation des médecins pour cette maladie.

Une intervenante du groupe politique CSV s'enquiert au sujet du nouveau traitement qui a soulagé la patiente.

Un autre intervenant du groupe CSV se demande comment la politique pourrait agir en présence d'affirmations infondées et de contradictions et quelles seraient les éléments-clés à faire figurer dans un éventuel vade-mecum.

Un représentant du groupe LSAP demande quelles sont les recommandations en cas de morsure par une tique.

Le représentant de la sensibilité politique déi Lénk admet ne pas avoir connu cette maladie et reconnaît l'importance d'un système de dépistage fiable.

D'après la pétitionnaire, le test de dépistage Elisa est peu convaincant, alors que d'autres tests, non appliqués au Luxembourg, connaissent des résultats positifs en 90 pour cent des cas. Ainsi de nombreux malades sont obligés de faire faire leurs tests en Allemagne, les frais n'étant pas pris en charge par la sécurité sociale.

Et d'ajouter que son nouveau traitement consiste en des antibiothérapies, de même que les cures en probiotiques, magnésium et zinc, ces dernières étant à charge de la patiente.

Toujours selon la pétitionnaire, il n'existe aucune statistique fiable au sujet de la maladie, le Luxembourg n'ayant enregistré aucune déclaration en 2015. La création d'un centre anti-Lyme ne manquerait pas de remédier à cette situation

Intervention de Mme la Ministre de la Santé :

Mme la Ministre informe qu'une étude a montré que 16 pour cent des tiques au Luxembourg sont porteuses de la bactérie. Le plus souvent, l'infection guérit spontanément. Dans des cas rares, la maladie peut évoluer et connaître trois stades.

Les symptômes de la maladie en phase chronique peuvent se manifester des années après la morsure. Normalement la maladie est traitable par antibiothérapie dans le trois stades, le traitement devant durer souvent plusieurs semaines. Dans de rares cas, l'administration d'antibiotiques, même

répétée, n'a pas les effets désirés.

Au niveau du diagnostic, la sérologie de la maladie de Lyme est parfois difficile d'interprétation avec beaucoup de faux positifs et de faux négatifs.

Du point de vue scientifique, la maladie de Lyme chronique est un concept controversé et ne connaît pas d'approche commune.

Quelles sont les réactions du Ministère de la Santé au niveau de la santé publique ?

Le Luxembourg prend très au sérieux la résolution européenne sur la maladie de Lyme et préconise des réponses et des actions au niveau européen. Mme la Ministre se prononce en faveur d'un standard fiable du diagnostic de la maladie, y compris de la maladie chronique.

Pour ce qui est de la question relative à la déclaration obligatoire de la maladie de Lyme, la Ministre renvoie à l'élaboration d'un projet de loi relative aux maladies à déclaration obligatoire.

Le financement joue un rôle important au plan de la recherche, où il existe une obligation évidente d'améliorer les tests.

En matière de sensibilisation du public, la Ministre cite une brochure que le Ministère continuera à diffuser. Cette information devra être accentuée dans les écoles, en collaboration avec le Ministère de l'Education nationale. Par ailleurs l'Administration des eaux et forêts s'est engagée à poster des panneaux attirant l'attention des promeneurs sur le danger des tiques.

Enfin, le LIH a entamé un projet de recherche sur la borréliose, financé par le Ministère de la Recherche, avec l'idée d'une meilleure information, de l'obtention de données fiables et du développement de tests de diagnostic plus performants.

*

Mme la Présidente de la Commission de la Santé attire l'attention sur les activités de l'association luxembourgeoise de la maladie de Lyme, qui est, entre autres, engagée au niveau de la sensibilisation.

Intervention de M. le Ministre de la Sécurité sociale :

M. le Ministre reconnaît qu'il y a une grande préoccupation dans la population en ce qui concerne la maladie de Lyme.

Pour ce qui en est de la prise en charge de la borréliose par la cns, M. le Ministre se réfère à la liste ICD-10 sous le code A69.2, où la borréliose est reconnue dans tous ses stades et complications. Le système luxembourgeois est guidé par le Code de la sécurité sociale, article 17, et régi par après par les statuts où sont énumérées les différentes modalités de prise en charge, c.à d. où toutes les prestations sont prises en compte.

En dehors des actes de nomenclature, le médecin peut introduire une demande circonstanciée auprès de la cns qui finalement décide de la prise en charge.

Au niveau des médicaments : la cns rembourse tous les médicaments

commercialisés au Luxembourg et figurant dans la liste positive.

Au niveau des analyses : la cns prend en charge les analyses figurant dans la nomenclature. Sur avis médical circonstancié, la cns peut prendre en charge des analyses effectuées à l'étranger.

Au niveau des traitements à l'étranger : sur avis motivé du médecin, la cns peut prendre en charge des traitements à condition qu'ils soient effectués dans des centres spécialisés reconnus dans leur pays respectif.

En conclusion, M. le Ministre plaide à faire des efforts dans le domaine de la prévention, de l'information et de la sensibilisation.

2.

Conclusions des commissions

Après un échange de vues, les membres des trois commissions parlementaires ont retenu l'agenda suivant en guise de réponse aux revendications des pétitionnaires :

- relancer l'information et la sensibilisation sur les risques des morsures de tique,
- intensifier les efforts de recherche pour développer un test plus fiable,
- encourager la quête d'un diagnostic commun au niveau européen,
- inciter les médecins à assister à des formations continues sur la maladie,
- insister sur la déclaration obligatoire de la borréiose,
- promouvoir le service national des maladies infectieuses au CHL comme centre de compétences en la matière.

Les deux ministères ont été chargés d'élaborer sur cette base et endéans un délai d'un mois un document rassemblant toutes les informations disponibles sur la maladie de Lyme au Grand-Duché. Ce document sera soumis à discussion au cours d'une réunion jointe des commissions concernées. Les conclusions de cette discussion seront communiquées aux pétitionnaires.

Luxembourg, le 16 février 2016

Le Secrétaire-administrateur,
Vera Haas-Gelejinsky

Le Président de la Commission des Pétitions,
Marco Schank

Le Secrétaire-administrateur,
Tania Sonnetti

La Présidente de la Commission de la Santé,
de l'Egalité des chances et des Sports,
Cécile Hemmen

Le Président de la Commission du Travail, de
l'Emploi et de la Sécurité sociale ,
Georges Engel

Annexes :

Documentation remise par le Professeur Christian Perronne

1. Lyme disease antiscience (p. 1 – 2)
2. Lyme and associated tick-borne diseases : global challenges in the context of a public health threat (p. 3 – 8)
3. Critical review of studies trying to evaluate the treatment of chronic Lyme disease (p. 9 – 12)
4. Lyme disease : time for a new approach ? (p. 13 – 14)
5. Méthodes du diagnostic biologique au cours des différentes manifestations de la borréliose de Lyme (p. 15 – 23)
6. Curriculum vitae de M. Christian Perronne, membre de la délégation des pétitionnaires (p. 24)
7. Powerpoint – La maladie de Lyme et les maladies associées (p. 25 – 42)

Les pétitionnaires recommandent de consulter une vidéo du Docteur Richard Horowitz
<https://youtu.be/V5CGYBuRBX4>

ANNEXES

Lyme disease antiscience

Paul Auwaerter and colleagues' Personal View¹ outlines an extremely uncomfortable situation in the USA, but this report should not lead anyone to believe that the situation in the UK is the same. Dissection of this opinion piece only adds to the divisiveness. Instead it should be pointed out that, in the UK, doctors rather than patients are misusing science.

Two Lyme disease charities exist in the UK: Borreliosis and Associated Diseases Awareness UK (BADA-UK) and Lyme Disease Action (LDA). BADA-UK focuses solely on raising awareness; its attendance at county shows has increased awareness, early recognition of symptoms, and safe removal of ticks. LDA produces leaflets used by the National Health Service (NHS), many employers, and countryside organisations. Online, LDA provides unbiased, evidence-based information for clinicians and patients and points to independently researched sources of information, such as Clinical Knowledge Summaries and the Map of Medicine.² All this action is funded by donations, not the UK Government.

The Health Protection Agency, however, provides guidelines based on a biased selection of papers,³ such as a recent position statement by the British Infection Association that would not pass NHS evidence guidelines accreditation. In this statement, which specifically assesses UK patients, the British Infection Association states it is particularly concerned that patients with a range of disorders (eg, multiple sclerosis and malignant disease) have been misdiagnosed with chronic Lyme disease. How many clinicians reading this nodded their heads wisely and agreed? Did any check the references supporting this statement and discover that none of them refer to cases in the UK? That commercial companies will deliberately mislead consumers to

increase sales is unsurprising, but what about professional associations? Undoubtedly, some members of the public do not have access to good-quality articles and have based their understanding and beliefs on little information. However, many clinicians will also uncritically read opinion articles written by their peers, and implicitly believe them.

The British Infection Association has listened to criticism of the position statement and is now collaborating with LDA and a Department of Health funded body, the James Lind Alliance, on documentation of the uncertainties in treatment and diagnosis of Lyme disease. Despite the prevailing view that patients do not understand the issues, some clinicians are prepared to work with patients. We might have had greater clinician participation in this project had it not been for reports such as Auwaerter and co-workers', but, in the end, evidence will triumph over institutional bias.

SH-S is chairman of a Lyme disease charity.

Stella Huyshe-Shires

stella.huyshe@lymediseaseaction.org.uk

Lyme Disease Action, Sidmouth, Devon, EX10 0QN, UK

- 1 Auwaerter PG, Bakken JS, Dattwyler RJ, et al. Antiscience and ethical concerns associated with advocacy of Lyme disease. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 713-19.
- 2 Lyme Disease Action. Resources. 2011. <http://www.lymediseaseaction.org.uk/resources/> (accessed Aug 26, 2011).
- 3 Health Protection Agency. July 11, 2011. <http://www.hpa.org.uk/Topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/LymeDisease/Guidelines/lymGuidelines/> (accessed Aug 26, 2011).

Paul Auwaerter and colleagues¹ compare some Lyme disease activists who use non-evidence-based arguments with anti-HIV or antivaccination extremists. Their Personal View shows that unscientific thinking and malpractice occur in many specialties. Such a focus has unfortunately resulted in suppression of legitimate and necessary scientific debate about the management of syndromes of unclear aetiology, which

sometimes occur after a previously proven episode of Lyme disease or tick bites. Public health recommendations should rely on strong evidence-based data and not on expert opinion, as Lee and Vielmeyer's review⁴ of the Infectious Disease Society of America guidelines shows is the case with Lyme disease.

Recommended serological tests for Lyme disease vary greatly in sensitivity. Since no reliable reference standard exists—such as a specific clinical score, culture, or PCR—the cut-off levels of such tests are decided with healthy donors and calculated arbitrarily. Several studies have shown that seronegative Lyme disease cases can be proved with culture or PCR. Seronegative patients have been included as Lyme disease cases in a major clinical trial.⁵

Another difficulty is that, although many variants and new species of *Borrelia* are regularly discovered, most commercial tests rely on the original Massachusetts B31 isolate of *Borrelia burgdorferi*, used since 1982. However, Scottish experts were able to improve the sensitivity of their tests with local strains of *Borrelia* spp.⁶ In Brazil, a Lyme-like syndrome has also been described that is due to a non-cultivable spirochete—not a *Borrelia* species—and is therefore undetected by current serological tests.⁷

Additionally, peer-reviewed studies show that other bacterial, viral, or parasitic infections might contribute to syndromes associated with Lyme disease or its mimics. Microbial involvement is being actively investigated in other well known but poorly understood conditions. For example, the possible role of spirochetes, including *Bburgdorferi*, has become the subject of research into the pathophysiology of Alzheimer's disease.⁸

Syndromes without a clear cause or objective evidence should no longer be called chronic Lyme disease. These syndromes are probably

For the James Lind Alliance see
<http://www.lindalliance.org/>

caused by several factors; therefore, both infectious and non-infectious aetiologies should be considered. To limit the debate to Lyme disease alone is highly unproductive, because this disease is unlikely to be the universal explanation of our patients' persisting ailments. These syndromes with possible microbial involvement should be investigated with the best available tests and with a fresh and open-minded scientific approach.

I declare that I have no conflicts of interest.

Christian Perronne
c.perronne@rpc.aphp.fr

Infectious Diseases Department, Groupe hospitalier Hôpitaux Universitaires Paris Ile-de-France Ouest, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, University of Versailles-St Quentin, 92380 Garches, France

- 1 Auwaerter PG, Bakken JS, Dattwyler RJ, et al. Antiscience and ethical concerns associated with advocacy of Lyme disease. *Lancet Infect Dis* 2011; **11**: 713-19.
- 2 Lee DJ, Vielmeyer O. Analysis of overall level of evidence behind Infectious Diseases Society of America practice guidelines. *Arch Intern Med* 2011; **171**: 18-22.
- 3 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.
- 4 Marvin S, Milner RM, Evans R, Chatterton JM, Joss AWL, Ho-Yen DO. The use of local isolates in Western blots improves serological diagnosis of Lyme disease in Scotland. *J Med Microbiol* 2007; **56**: 47-51.
- 5 Mantovani E, Costa IP, Gauditano G, Bonoldi VLN, Higuchi ML, Yoshinari NH. Description of Lyme disease-like syndrome in Brazil: is it a new tick borne disease or Lyme disease variation? *Braz J Med Biol Res* 2007; **40**: 443-56.
- 6 Miklossy J. Alzheimer's disease—a neurosprochetos: analysis of the evidence following Koch's and Hill's criteria. *J Neuroinflammation* 2011; **8**: 90.

Paul Auwaerter and colleagues¹ are among the handful of individuals who have controlled the Lyme disease research agenda for decades and ultimately which data have been reported. Why is it that, in my experience, many people in New Hampshire have been severely debilitated by Lyme disease or know someone who has, whereas Auwaerter and co-workers claim that the disease is easily diagnosed and treated with a short course of

antibiotics? Seven states have now passed legislation to protect clinicians who treat late-stage Lyme disease with long-term antibiotics (CT, MA, MN, NY, NH, RI, and TX) and support groups exist in nearly every state, with 19 in Pennsylvania alone.

The ELISA first-line screening test produces false-negative results and patients are told they do not have Lyme disease. A follow-up western blot test that is much more sensitive is not allowed when the ELISA test is negative. In a two-tiered testing algorithm, western blots can only be used after a positive ELISA test to rule out a false-positive result. Therefore, we have no way to rule out a false negative. Clinicians who exclusively treat Lyme disease no longer use the ELISA test.^{2,4} The German Borreliosis Society has recognised that the two-tier system we presently use for Lyme disease testing is inadequate.⁵

Misinterpretation of laboratory results is the main reason why the medical community is dismissive of patients with Lyme disease and their symptoms. Faulty diagnostic tests create confusion, causing physicians to miss the small period in which they can give successful short-term treatment. As a result, many patients have late-stage Lyme disease. Since we only test for antibodies against the infection and not the bacteria itself, we have no way to rule out active, continuing infection.

If the Infectious Diseases Society of America and the Centers for Disease Control and Prevention are correct with their single-treatment approach for all stages of Lyme disease and two-tier method of testing, why do we have so much legislation involving Lyme disease?

I declare that I have no conflicts of interest.

Carl Tuttle
runagain@comcast.net

33 David Dr, Hudson, NH 03051, USA

- 1 Auwaerter PG, Bakken JS, Dattwyler RJ, et al. Antiscience and ethical concerns associated with advocacy of Lyme disease. *Lancet Infect Dis* 2011; **11**: 713-19.

2 Ang CW, Notermans DW, Hommes M, Simoons-Smit, Herremans T. Large differences between test strategies for the detection of anti-Borrelia antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; **30**: 1027-32.

3 Tuttle C. Lyme Disease Discussion. Aug 18, 2011. <http://home.comcast.net/~runagain/Dept%20of%20Health%20Agenda.pdf> (accessed April 2, 2012).

4 Carey J. Task force takes Lyme disease fight to Loudoun County. June 30, 2011. <http://www.nbcwashington.com/news/health/Task-Force-Takes-Lyme-Disease-Fight-to-Loudoun-County-124824524.html> (accessed April 2, 2012).

5 Deutsche Borreliose-Gesellschaft e.V. Diagnosis and treatment of Lyme borreliosis. December, 2010. <http://www.borreliose-gesellschaft.de/Texte/guidelines.pdf> (accessed March 29, 2012).

Authors' reply

Although we support efforts to educate clinicians and the public alike with high-quality, evidence-based information about infection with *Borrelia burgdorferi*, the comments from Stella Huyse-Shires regarding our Personal View misleadingly suggest that the UK is untainted by antiscience concerns. A report by Cottle and colleagues¹ showed that most patients referred to an infectious diseases unit in Liverpool, UK, for Lyme disease (n=115) did not have the disorder. Of 38 patients with chronic fatigue syndrome, 45% were incorrectly labelled as having chronic Lyme disease by alternative practitioners. These patients had received unnecessary antibiotics instead of other targeted management strategies, supporting the case that overdiagnosis and inappropriate management of Lyme disease also occurs in the UK and reinforcing concerns cited by the British Infection Association.

Both Christian Perronne and Carl Tuttle believe that present serological testing for *B burgdorferi* is inaccurate. Although the human immune system can take 2–3 weeks to produce detectable concentrations of antibodies in the early phases of Lyme disease, this delay is also reported in many other bacterial infections. This delay in no way negates the usefulness of two-tier



Lyme and associated tick-borne diseases: global challenges in the context of a public health threat

Christian Perronne *

Infectious Diseases Unit, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud de France-Ouest, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, University of Versailles – Saint Quentin en Yvelines, Garches, France

*Correspondence: c.perronne@rpc.aphp.fr

Edited by:

Muriel Vayssié-Taussat, Institut National de la Recherche Agronomique, France

Reviewed by:

Leona Gilbert, University of Jyväskylä, Finland

Josette Raymond, Université Paris Descartes, France

Keywords: Lyme disease, *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia miyamotoi*, novel borreliae, diagnosis, coinfections, tick borne disease, occult infection

Lyme disease, caused by *Borrelia burgdorferi* and transmitted by ticks, was initially considered a recent, rare and regional occurrence. We now have evidence that very similar bacteria infected humans in Europe during the ice age (Keller et al., 2012). Evidence-based data are scarce therefore many aspects of the disease remain controversial (Auwaerter et al., 2011; Lee and Vielmeyer, 2011; Perronne, 2012), but in 2013 the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) revised their annual estimates from 30,000 cases to 300,000 cases in the USA alone. Having dramatically increased their numbers, the CDC are now calling Lyme disease “a tremendous public health problem in the United States” (CDC, 2011).

The lack of a gold standard for diagnosis makes producing accurate statistics difficult. Some pathogenic strains belonging to the *B. burgdorferi sensu lato* complex have a worldwide distribution, yet they are rarely considered or tested for (Varela et al., 2004; Lopes de Carvalho et al., 2009; Rudenko et al., 2009; Stanek and Reiter, 2011; Branda and Rosenberg, 2013; Clark et al., 2013; Lee et al., 2014; Margos et al., 2014). *Borrelia miyamotoi*, for instance, phylogenetically close to relapsing fever borreliae, is now recognized as a cause of Lyme-like disease and relapsing fever in Asia, Europe and North America. It usually does not cross react with *B. burgdorferi* tests (Branda and Rosenberg, 2013; Lee et al., 2014). A novel isolate of *Borrelia* has been isolated by PCR in a post-treatment serum from a patient with neurologic Lyme disease (Lee et al., 2014).

These recent historical, geographical and microbial data should prompt the medical community to realize that cases of persisting post tick-bite syndromes are probably due to multiple pathogens and that these occult infections will require a new approach if not an actual paradigm shift.

DIAGNOSTIC PITFALLS IN ROUTINE PRACTICE

Classical forms of Lyme disease are usually easy to manage, but these medical conditions with pleomorphic non specific symptoms may prove confusing to physicians (Strle and Stanek, 2009). Lyme disease may mimic chronic inflammatory or degenerative diseases, including a wide range of auto-immune diseases. Although practitioners from every medical specialty are likely to have encountered cases of Lyme disease, they may have failed to recognize it, no matter how skilled they are. A major obstacle is that only 30% of the patients report a history of tick bite and only 70–80% present with a primary erythema migrans, the pathognomonic initial lesion. This lesion may go unrecognized, or be mistaken for an “insect bite” or an “allergic rash.” Mini-erythema migrans are less likely to be diagnosed. Secondary erythema migrans are observed in approximately 50% of cases. Bacteriologic and pathologic analogies have been reported between tertiary neuroborreliosis and tertiary neurosyphilis (Miklossy, 2012). Syphilis, once well-known as the great imitator, gives us a good historical model for the concept of occult infection.

OCCULT INFECTIONS AND THEIR ROLE IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF SOME DISEASES OF UNCLEAR ETIOLOGY

Charles Nicolle, working at the Institut Pasteur in Tunis and Nobel prize winner in 1928, showed great interest in the concept of occult infections (“les infections inapparentes”) like typhus, syphilis, and relapsing fever (*Borrelia recurrentis*) (Nicolle, 1993). Relapsing fever due to another species of *Borrelia* (*B. crocidurae*) is still a public health concern in some parts of Africa, and the recently discovered *B. miyamotoi* may also become a similar problem in Asia, Europe and America (Schwan et al., 2012; Branda and Rosenberg, 2013; Lee et al., 2014). Peptic ulcer disease is another example of the hidden link between an occult infection with another spiral-shaped bacterium, *Helicobacter pylori*, and a chronic disorder. *B. burgdorferi* may persist in tissues even after antibiotic treatments, as animal models have shown (Straubinger et al., 1997; Straubinger, 2000; Hodzic et al., 2008; Yrjänäinen et al., 2010; Embers et al., 2012). In fact dormant persister cells of bacteria from different genera can escape the bactericidal effect of antibiotics and be responsible for latent infections (Phillips et al., 1998; Hunfeld et al., 2005; Lewis, 2007; Lee et al., 2014). Clinicians have no diagnostic tests to check for the persistence of live borreliae. *B. burgdorferi*, having a complex genetic structure, is a highly adaptable organism capable of evading immune response through different processes. It can survive extracellularly and intracellularly (Brorson and Brorson, 1998; Murgia and Cinco, 2004).

The complexity of Lyme disease requires high quality diagnostic methods, yet serology is the only diagnostic tool widely used.

SEROLOGY, THE CURRENT MAIN DIAGNOSTIC METHOD

Physicians should be made aware that, in the presence of primary erythema migrans, serology will often be negative therefore diagnosis should be clinical (Wormser, 2006). However, many practitioners are still under the misconception that a positive serology is required for early stage diagnosis. For later stages of the disease serology remains the main diagnostic tool. The Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the European Concerted Action on Lyme Borreliosis (EUCALB) are recommending a two-tier testing approach, the first step being an ELISA using whole sonicate of the *in vitro* cultured tick-derived strain B31 of *Borrelia burgdorferi* (EUCALB, 1997; Wormser et al., 2006). If positive, confirmation by immunoblot testing IgG and IgM is required. According to these guidelines, immunoblot is not to be performed if the ELISA is negative. However, in 2011, the CDC modified their case definition and included single-tier IgG immunoblot seropositivity as a diagnostic criterion for Lyme disease (CDC, 2013). But most practitioners still use the two-tier system despite the poor sensitivity of ELISA tests, ranging from 34 to 70.5 (Marangoni et al., 2005; Aguero-Rosenfeld, 2008; Ang et al., 2011; Wojciechowska-Koszko et al., 2011). Calibration of the tests is a crucial issue.

CALIBRATION OF SEROLOGY

When Lyme serology was developed, no reliable method was available to be used as a gold standard for comparison. As most of the signs and symptoms are non-specific, no reliable clinical diagnostic score could be established. The low yield of culture and the difficulty involved in using the technique routinely were another major obstacle. A pragmatic cut-off level for the serologic tests had to be determined arbitrarily on blood donors (EUCALB, 1997; Assous, 2007). In the late seventies, when Lyme disease was first discovered, it was understandably thought to be a rare and regional phenomenon. Therefore, a low prevalence was set as experts were afraid the serologies would produce too

many false positive diagnoses (EUCALB, 1997; Assous, 2007). Patients and control populations are ill-defined with a high variability in predictive positive and negative values from one test to another. Culture of *B. burgdorferi* or detection of its genome by polymerase chain reaction (PCR) may occasionally confirm the clinical diagnosis in seronegative patients, however none of these methods are sensitive enough to be considered reliable diagnostic methods, especially in routine practice (Schutzer et al., 1990; Nields and Kveton, 1991; Chmielewska-Badora et al., 2006; Brunner, 2006; Assous, 2007; Holl-Wieden et al., 2007; Aguero-Rosenfeld, 2008; Dietrich et al., 2008; Wallet et al., 2008). As a result, many patients suffering signs and symptoms compatible with Lyme disease, but whose test is negative, are falling by the wayside.

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL CONSEQUENCES OF NEGATIVE SEROLOGY

Modern medical practice expects to rely on evidence. Most physicians would not consider diagnosing Lyme disease without serological proof. Yet the failure to diagnose seronegative neuroborreliosis, especially the acute or severe forms, can have dire consequences including chronic neurologic sequelae or even death. A review of the literature shows that a diagnosis of Lyme neuroborreliosis is often difficult to prove (Blanc et al., 2007; Bennet et al., 2008; Tveitnes et al., 2009; Makhani et al., 2011). The sensitivity of intrathecal antibody index (measuring specific antibodies within the cerebro-spinal fluid) ranges from 55 to 80%. In a Swedish study, antibodies were present in serum of only 23% of children with neuroborreliosis (Bennet et al., 2008). Cognitive tests or SPECT brain imaging may help to provide objective evidence (Tager et al., 2001; Roche-Lanquetot et al., 2008; Fallon et al., 2009; Donta et al., 2012). Pragmatic diagnostic criteria including response to empiric antibiotic treatment are used to diagnose neuroborreliosis (Blanc et al., 2007). Should this strategy be recommended in other clinical presentations as well? In fact some clinicians will not hesitate to classify as Lyme disease cases, seronegative patients with a highly compatible clinical picture, provided other diagnoses have

been ruled out. In a major clinical trial on Lyme disease, 40% of the enrolled patients were seronegative. These patients had a history of erythema migrans, neurologic or cardiac symptoms, radiculoneuropathy or arthritis (Klempner et al., 2001). Clinicians, often unaware of the difficulties involved in diagnosing Lyme disease, will fall back on "weak" alternative diagnoses ("viral," "idiopathic," "auto-immune," "degenerative," "inflammatory," or "psychosomatic") (Kennedy, 2013). New techniques are needed to accurately assess these patients. This current over-reliance on inaccurate testing procedures not only flaws the diagnosis of individual patients but it also has epidemiological consequences especially as new species and variants continue to be identified on all continents (Hao et al., 2011; Rudenko et al., 2011).

POSSIBLE CAUSES OF SERONEGATIVITY

Several factors leading to seronegativity have been identified in confirmed cases of Lyme disease: (i) the arbitrary cut-off level of tests, (ii) the sequestration of antibodies in immune complexes, (iii) the wide variety of species and subspecies of *Borrelia* that co-exist in different parts of the world, and (iv) coinfections with other pathogens which may be responsible for some or all of the symptoms or which may alter the immune response (Schutzer et al., 1990; Brunner, 2006). The complex *B. burgdorferi sensu lato* includes (Table 1): *B. burgdorferi sensu stricto* (including genetic diversity), *B. afzelii*, *B. garinii* (several serotypes) and additional species isolated in different parts of the world (Rudenko et al., 2009, 2011; Ogden et al., 2011). Some of these species have been isolated in symptomatic patients (Varela et al., 2004; Lopes de Carvalho et al., 2009; Rudenko et al., 2009; Stanek and Reiter, 2011; Branda and Rosenberg, 2013; Clark et al., 2013; Lee et al., 2014; Margos et al., 2014). *B. spielmanni* may cause early skin disease (Stanek and Reiter, 2011). *B. bavariensis*, *B. bisettii*, *B. valaisiana*, *B. americana*, *B. andersonii*, *B. lonestari* and more recently *B. kurtenbachii* have been isolated from patients with Lyme-like diseases (Varela et al., 2004; Rudenko et al., 2009; Rizzoli et al., 2011; Stanek and Reiter, 2011; Clark et al., 2013). The pathogenic role of *B.*

Table 1 | Bacteria responsible for Lyme or Lyme-like disease and other *Borrelia* sp. belonging to the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex, and other tick-borne micro-organisms isolated in humans.

Bacteria responsible for Lyme disease belonging to the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex

<i>Borrelia burgdorferi sensu stricto</i> (including genetic diversity)	North America, Europe, North Africa
<i>Borrelia afzelii</i>	Europe, Asia
<i>Borrelia garinii</i> (several serotypes)	Europe, Asia, North Africa
<i>Borrelia bavariensis</i> (previously <i>B. garinii</i> OspA serotype 4)	

Bacteria responsible for Lyme-like disease

<i>Borrelia lonestari</i>	North America
<i>Borrelia miyamotoi</i> (also cause of relapsing fever)	Europe, Asia, North America
Non-identified spirochete	Brazil

Bacteria occasionally isolated in cases of Lyme-like disease

<i>Borrelia spielmanii</i>	<i>Borrelia bisettii</i>
<i>Borrelia andersonii</i>	<i>Borrelia valaisiana</i>
<i>Borrelia americana</i>	<i>Borrelia kurtenbachii</i>
Novel <i>Borrelia</i> sp. close to relapsing fever borreliae (Lee et al., 2014)	

Other *Borrelia* sp., belonging to the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex with unknown or poorly documented pathogenicity

<i>Borrelia japonica</i>	<i>Borrelia turdi</i>
<i>Borrelia sinica</i>	<i>Borrelia tanukii</i>
<i>Borrelia lusitaniae</i> (vasculitis?)	<i>Borrelia californiensis</i>
<i>Borrelia carolinensis</i>	<i>Borrelia yangtze</i>

***Borrelia* sp. responsible for relapsing fever**

Louse-borne relapsing fever

<i>Borrelia recurrentis</i>	
<i>Borrelia crocidurae</i> (Africa)	
<i>Borrelia miyamotoi</i> (also cause of Lyme-like disease)	

Other human tick-borne infections

PARASITES

<i>Babesia divergens</i>	<i>Babesia microti</i>
--------------------------	------------------------

BACTERIA

<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>
<i>Rickettsia</i> sp.	<i>Coxiella burnetii</i>
<i>Francisella tularensis</i>	<i>Candidatus Neohർlichia mikurensis</i>

VIRUSES

Several Flaviviridae (including Tick-borne encephalitis virus)	
Bunyaviridae (Crimean-Congo hemorrhagic fever)	

lusitaniae, isolated in a case of vasculitis, remains to be substantiated (Rudenko et al., 2009). Despite such diversity in strains, most of the commercially available tests still rely on the original 1982 Massachusetts B31 isolate of *B. burgdorferi*. No diagnostic tool is available for routine detection of *B. miyamotoi* (Branda and Rosenberg, 2013; Lee et al., 2014). Coinfections with other microbes add to the complexity of these illnesses (Table 1). Among patients with early Lyme disease in the USA, 2–12% were found to also have

human granulocytic anaplasmosis, and 2–40% babesiosis (Wormser et al., 2006). In Brazil, a Lyme-like syndrome, due to the tick *Amblyomma*, has been described and mobile non cultivable spirochetes could be visualized in patients' blood using a dark field microscope (Mantovani et al., 2007). A new tick-borne bacterial pathogen, *Candidatus Neohŕlichia mikurensis*, was reported in Switzerland (Fehr et al., 2010). An illustration of the limits of serology is the Scottish example: the sensitivity of the immunoblot was improved by using local

Scottish strains of *Borrelia* (Mavin et al., 2007, 2009).

CONCLUSION AND PERSPECTIVES

The numerous complexities of Lyme disease make it an extremely difficult illness to fully comprehend. It remains a diagnostic challenge even for the best informed of clinicians. The lack of a gold standard for diagnosis renders the management of patients difficult and seriously hinders our ability to produce accurate statistics, especially as very similar syndromes could

be due to other species of *Borrelia*. In some patients suffering from syndromes of unclear origin, following tick bite, other microbial agents could also be playing a role. Lyme disease has now entered the political debate as shown by the amendment (Section 54.1-2963.2) voted in 2013 by the State of Virginia, USA, that compels physicians to inform their patients that the "current laboratory testing for Lyme disease can be problematic." The fact that politicians are being called upon to rule on these matters should prompt scientists to regain control of the situation. Politicians should instead become aware of the necessity to fund research and facilitate the setting up of independent international working groups. Reliable testing is essential to investigate the many syndromes of unclear origin that may mimic many other medical disorders. Proper fundamental and clinical research is urgently needed as it would be the most cost effective way of ensuring that patients are accurately diagnosed and that the best therapeutic strategies are decided upon (Stricker and Johnson, 2014). Development of new diagnostic methods is badly needed. New PCR methods and new genomic techniques, such as high throughput sequencing, could prove promising in identifying the complex mix of microbial agents that are probably involved (Vayssié-Taussat et al., 2013; Lee et al., 2014). Next generation sequencing allowed the identification of various bacteria from *Ixodes ricinus* ticks in France: *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella henselae*, *B. grahamii*, *Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi*, *B. miyamotoi*, *Candidatus Neoerlichia mikurensis*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia canadensis*, *R. felis*, and *R. helvetica* (Vayssié-Taussat et al., 2013). These new techniques should be applied to human samples. Other variables, such as genetic, environmental, or auto-immune factors should also be studied. The name "Lyme disease" is too restrictive as it focuses and fuels the controversy. A new term should be agreed upon for these syndromes with possible infectious involvement, often following tick bites. Closer collaboration between epidemiologists, microbiologists, immunologists, geneticists, environmental scientists, veterinarians, entomologists, and clinicians is needed to identify the main agents that could be causing

these occult infections and to determine strain pathogenicity. A new multidirectional approach is crucial in order to widen the field of research and to move forward.

ACKNOWLEDGMENT

The author thanks Nelly Pointis for her help with editing.

REFERENCES

- Aguero-Rosenfeld, M. E. (2008). Lyme disease: laboratory issues. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 22, 301–313. doi: 10.1016/j.idc.2007.12.005
- Ang, C. W., Notermans, D. W., Hommes, M., Simoons-Smit, A. M., and Herremans T. (2011). Large differences between test strategies for the detection of anti-*Borrelia* antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 30, 1027–1032. doi: 10.1007/s10096-011-1157-6
- Assous, M. V. (2007). Laboratory methods for the diagnosis of clinical forms of Lyme borreliosis (in French). *Med. Mal. Infect.* 37, 487–495. doi: 10.1016/j.medmal.2006.01.019
- Auwaerter, P. G., Bakken, J. S., Dattwyler, R. J., Dumler, J. S., Halperin, J. I., McSweegan, E., et al. (2011). Antiscience and ethical concerns associated with advocacy of Lyme disease. *Lancet Infect. Dis.* 11, 713–719. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70034-2
- Bennet, R., Lindgren, V., and Zweygberg-Wirgart, B. (2008). *Borrelia* antibodies in children evaluated for Lyme neuroborreliosis. *Infection* 36, 463–466. doi: 10.1007/s15010-008-6259-4
- Blanc, F., Jaulhac, B., Fleury, M., de Seze, J., de Martino, S. J., Rémy, V., et al. (2007). Relevance of the antibody index to diagnose Lyme neuroborreliosis among seropositive patients. *Neurology* 69, 953–958. doi: 10.1212/01.wnl.0000269672.17807.e0
- Branda, J. A., and Rosenberg, E. (2013). S. *Borrelia miyamotoi*: a lesson in disease discovery. *Ann. Intern. Med.* 159, 61–62. doi: 10.7326/0003-4819-159-1-201307020-00009
- Brorson, O., and Brorson, S. H. (1998). *In vitro* conversion of *Borrelia burgdorferi* to cystic forms in spinal fluid, and transformation to mobile spirochetes by incubation in BSK-H medium. *Infection* 26, 144–150. doi: 10.1007/BF02771839
- Brunner, M. (2006). Report refuting value of immune complexes to diagnose Lyme disease is invalid. *Clin. Vaccine Immunol.* 13, 304–306. doi: 10.1128/CVI.13.2.304-306.2006
- CDC. (2011). Centers for Disease Control and Prevention. National notifiable Diseases Surveillance System. Lyme disease - *Borrelia Burgdorferi* - 2011 Case Definition. Available online at: www.cdc.gov/NNDSS/script/casedef.aspx (Accessed March 24, 2014).
- CDC. (2013). Centers for Disease Control and Prevention. Media Relations. CDC Provides Estimate of Americans Diagnosed with Lyme Disease Each Year. Available online at: www.cdc.gov/media/releases/2013/p0819-lyme-disease.html (Accessed March 24, 2014).
- Chmielewska-Badora, J., Cisak, E., Wojciech-Fatla, A., Zwolinski, J., Buczek, A., and Dutkiewicz, J. (2006). Correlation of tests for detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* infection in patients with diagnosed borreliosis. *Ann. Agric. Environ. Med.* 13, 307–311.
- Clark, K. L., Leydet, B., and Hartman, S. (2013). Lyme borreliosis in human patients in Florida and Georgia, USA. *Int. J. Med. Sci.* 10, 915–931. doi: 10.7150/ijms.6273
- Dietrich, T., Geissdörfer, W., Schlotter-Schrehardt, U., Holbach, L., Schoerner, C., and Seitz, B. (2008). *Borrelia*-associated crystalline keratopathy with intracorneal detection of *Borrelia garinii* by electron microscopy and polymerase chain reaction. *Cornea* 27, 498–500. doi: 10.1097/ICO.0b013e318162a8f5
- Donta, S. T., Noto, R. B., and Vento, J. A. (2012). SPECT brain imaging in chronic Lyme disease. *Clin. Nucl. Med.* 37, 219–222. doi: 10.1097/RNU.0b013e318262ad9b
- Embers, M. E., Barthold, S. W., Borda, J. T., Bowers, L., Doyle, L., Hodzic, E., et al. (2012). Persistence of *Borrelia burgdorferi* in Rhesus macaques following antibiotic treatment of disseminated infection. *PLoS ONE* 7:e29914. doi: 10.1371/journal.pone.0029914. Erratum *PLoS ONE* 7. doi: 10.1371
- EUCALB. (1997). European Concerted Action on Lyme Borreliosis. Diagnosis: Serology: Minimum Standards. Available online at: www.eucalb.com (Accessed March 24, 2014).
- Fallon, B. A., Lipkin, R. B., Corbera, K. M., Yu, S., Nobler, M. S., Keilp, J. G., et al. (2009). Regional cerebral blood flow and metabolic rate in persistent Lyme encephalopathy. *Arch. Gen. Psychiatry* 66, 554–563. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.29
- Fehr, J. S., Bloomberg, G. V., Ritter, C., Hombach, M., Lüscher, T. F., Weber, R., et al. (2010). Septicemia caused by tick-borne bacterial pathogen *Candidatus Neoerlichia mikurensis*. *Emerging Infect. Dis.* 16, 1127–1129. doi: 10.3201/eid1607.091907
- Hao, Q., Hou, X., Geng, Z., and Wan, K. (2011). Distribution of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in China. *J. Clin. Microbiol.* 49, 647–650. doi: 10.1128/JCM.00725-10
- Hodzic, E., Feng, S., Holden, K., Freet, K. J., and Barthold, S. W. (2008). Persistence of *Borrelia burgdorferi* following antibiotic treatment in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 52, 1728–1736. doi: 10.1128/AAC.01050-07
- Holl-Wieden, A., Suerbaum, S., and Girschick, H. J. (2007). Seronegative Lyme arthritis. *Rheumatol. Int.* 27, 1091–1093. doi: 10.1007/s00296-007-0333-6
- Hunfeld, K. P., Ruzic-Sablje, E., Norris, D. E., Kraiczy, P., and Strübing, F. (2005). In vitro susceptibility testing of *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolates cultured from patients with erythema migrans before and after antimicrobial chemotherapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 1294–1301. doi: 10.1128/AAC.49.4.1294-1301.2005
- Keller, A., Graefen, A., Ball, M., Matzas, M., Boisguérin, V., Maixner, F., et al. (2012). New

- insights into the Tyrolean Iceman's origin and phenotype as inferred by whole-genome sequencing. *Nat. Commun.* 3:698. doi: 10.1038/ncomms1701
- Kennedy, A. G. (2013). Differential diagnosis and the suspension of judgment. *J. Med. Philos.* 38, 487–500. doi: 10.1093/jmp/jht043
- Klempner, M. S., Hu, L. T., Evans, J., Schmid, C. H., Johnson, G. M., Trevino, R. P., et al. (2001). Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. *N. Engl. J. Med.* 345, 85–92. doi: 10.1056/NEJM200107123450202
- Lee, D. J., and Vielmeyer, O. (2011). Analysis of overall level of evidence behind infectious diseases society of america practice guidelines. *Arch. Intern. Med.* 171, 18–22. doi: 10.1001/archinternmed.2010.482
- Lee, S. H., Vighiotti, J. S., Vighiotti, V. S., Jones, W., and Shearer, D. M. (2014). Detection of *Borreliae* in archived sera from patients with clinically suspect Lyme disease. *Int. J. Mol. Sci.* 15, 4284–4298. doi: 10.3390/ijms15034284
- Lewis, K. (2007). Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nature* 48, 48–56. doi: 10.1038/nrmicro1557
- Lopes de Carvalho, I., Fonseca, J. E., Marques, J. G., Ullmann, A., Hojgaard, A., Zeidner, N., et al. (2009). Vasculitis-like syndrome associated with *Borrelia lusitaniae* infection. *Clin. Rheumatol.* 27, 1587–1591. doi: 10.1007/s10067-008-1012-z
- Makhani, N., Morris, S. K., Page, A. V., Brophy, J., Lindsay, L. R., Banwell, B. L., et al. (2011). A twist on Lyme: the challenge of diagnosing European Lyme neuroborreliosis. *J. Clin. Microbiol.* 49, 455–457. doi: 10.1128/JCM.01584-10
- Mantovani, E., Costa, I. P., Gauditano, G., Bonoldi, V. L. N., Higuchi, M. L., and Yoshihara, N. H. (2007). Description of Lyme disease-like syndrome in Brazil. Is it a new tick borne disease or Lyme disease variation? *Braz. J. Med. Biol. Res.* 40, 443–456. doi: 10.1590/S0100-879X2006005000082
- Marangoni, A., Sparacino, M., Cavrini, F., Storni, E., Mondardini, V., Sambri, V., et al. (2005). Comparative evaluation of three different ELISA methods for the diagnosis of early culture-confirmed Lyme disease in Italy. *J. Med. Microbiol.* 54, 361–367. doi: 10.1099/jmm.0.45853-0
- Margos, G., Piesman, J., Lane, R. S., Ogden, N. H., Sing, A., Straubinger, R. K., et al. (2014). *Borrelia kurtzenbuchi* sp. nov.: a widely distributed member of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* species complex in North America. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64, 128–130. doi: 10.1099/ijss.0.054593-0
- Mavin, S., Evans, R., Milner, R. M., Chatterton, J. M. W., and Ho-Yen, D. O. (2009). Local *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and *Borrelia afzelii* strains in a single mixed antigen improves Western blot sensitivity. *J. Clin. Pathol.* 62, 552–554. doi: 10.1136/jcp.2008.063461
- Mavin, S., Milner, R. M., Evans, R., Chatterton, J. M. W., Joss, A. W. L., and Ho-Yen, D. O. (2007). The use of local isolates in Western blots improves serological diagnosis of Lyme disease in Scotland. *J. Med. Microbiol.* 56, 47–51. doi: 10.1099/jmm.0.46793-0
- Miklossy, J. (2012). Chronic or late Lyme neuroborreliosis: analysis of evidence compared to chronic or late neurosyphilis. *Open Neurol. J.* 6, 146–157. doi: 10.2174/1874205X01206010146
- Murgia, R., and Cinco, M. (2004). Induction of cystic forms by different stress conditions in *Borrelia burgdorferi*. *APMIS* 112, 57–62. doi: 10.1111/j.1600-0463.2004.apm120110.x
- Nicolle, C. (1993). "Destin des maladies infectieuses (in French)," in *Reedited by the Association des ed France Lafayette* (Paris: Anciens Élèves de l'Institut Pasteur), 216.
- Nields, J. A., and Kyton, J. F. (1991). Tullio phenomenon and seronegative Lyme borreliosis. *Lancet* 338, 128–129. doi: 10.1016/0140-6736(91)90130-H
- Ogden, N. H., Margos, G., Aanensen, D. M., Drebot, M. A., Feil, E. J., Hanincova, K., et al. (2011). Investigation of genotypes of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes scapularis* ticks collected during surveillance in Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 3244–3254. doi: 10.1128/AEM.02636-10
- Perronne, C. (2012). Lyme disease antiscience. *Lancet Infect. Dis.* 12, 361–362. doi: 10.1016/S1473-3099(12)70053-1
- Phillips, S. E., Mattman, L. H., Hulinska, D., and Moayad, H. (1998). A proposal for the reliable culture of *Borrelia burgdorferi* from patients with chronic Lyme disease, even from those previously aggressively treated. *Infection* 26, 364–367. doi: 10.1007/BF02770837
- Rizzoli, A., Hauffe, H. C., Carpi, G., Vourch, G. I., Neteler, M., and Rosà R. (2011). Lyme borreliosis in Europe. *Eurosurveillance* 16, 1–8.
- Roche-Lanquetot, M. O., Ader, E., Durand, M. C., Carlier, R., Deffière, H., Dinh, A., et al. (2008). Results of a prospective standardized study of 30 patients with chronic neurological and cognitive disorders after tick bites (in French). *Med. Mal. Infect.* 38, 543–548. doi: 10.1016/j.medmal.2008.06.007
- Rudenko, N., Golovchenko, M., and Grubhoffer, L., Oliver, J. H. Jr. (2011). Updates on *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex with respect to public health. *Ticks Tick Borne Dis.* 2, 123–128. doi: 10.1016/j.ttbdis.2011.04.002
- Rudenko, N., Golovchenko, M., Ruzek, D., Piskunova, N., Mallatova, N., and Grubhoffer, L. (2009). Molecular detection of *Borrelia bissettii* DNA in serum samples from patients in the Czech Republic with suspected borreliosis. *FEMS Microbiol. Lett.* 292, 274–281. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01498.x
- Schutzer, S. E., Coyle, P. K., Belman, A. L., Golightly, M. G., and Drulle, J. (1990). Sequestration of antibody to *Borrelia burgdorferi* in immune complexes in seronegative Lyme disease. *Lancet* 335, 312–315. doi: 10.1016/0140-6736(90)90606-6
- Schwan, T. G., Anderson, J. M., Lopez, J. E., Fischer, R. J., Raffel, S. J., McCoy, B. N., et al. (2012). Endemic foci of the tick-borne relapsing fever spirochete *Borrelia crocidurae* in Mali, West Africa, and the potential for human infection. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6:e1924. doi: 10.1371/journal.pntd.0001924
- Stanek, G., and Reiter, M. (2011). The expanding Lyme *Borrelia* complex—clinical significance of genomic species? *Clin. Microbiol. Infect.* 17, 487–493. doi: 10.1111/j.1469-0911.2011.03492.x
- Straubinger, R. K. (2000). PCR-based quantification of *Borrelia burgdorferi* organisms in canine tissues over a 500-day post-infection period. *J. Clin. Microbiol.* 38, 2191–2199.
- Straubinger, R. K., Summers, B. A., Chang, Y. E., and Appel, M. J. (1997). Persistence of *Borrelia burgdorferi* in experimentally infected dogs after antibiotic treatment. *J. Clin. Microbiol.* 35, 111–116.
- Stricker, R. B., and Johnson, L. (2014). Lyme disease: call for a "Manhattan Project" to combat the epidemic. *PLoS Pathog.* 10:e1003796. doi: 10.1371/journal.ppat.1003796
- Strelle, F., and Stanek, G. (2009). Clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Curr. Probl. Dermatol.* 37, 51–110. doi: 10.1159/000213070
- Tager, F. A., Fallon, B. A., Keilp, J., Rissenberg, M., and Ray Jones, C., Liebowitz, M. R. (2001). A controlled study of cognitive deficits in children with chronic Lyme disease. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 13, 500–507. doi: 10.1176/appi.neuropsych.13.4.500
- Tevitnes, D., Oymar, K., and Natas, O. (2009). Laboratory data in children with Lyme neuroborreliosis, relation to clinical presentation and duration of symptoms. *Scand. J. Infect. Dis.* 41, 355–362. doi: 10.1080/00365540902787666
- Varela, A. S., Luttrell, M. P., Howerth, E. W., Moore, V. A., Davidson, W. R., Stallknecht, D. E., et al. (2004). First culture isolation of *Borrelia lonestari*, putative agent of Southern tick-associated rash illness. *J. Clin. Microbiol.* 42:1163–1169. doi: 10.1128/JCM.42.3.1163-1169.2004
- Vayssié-Taussat, M., Moutailler, S., Michelet, L., Devillers, E., Bonnet, S., Cheval, J., et al. (2013). Next generation sequencing uncovers unexpected bacterial pathogens in ticks in Western Europe. *PLoS ONE* 8:e81439. doi: 10.1371/journal.pone.0081439
- Wallet, F., Labalette, P., Herwegh, S., Loiez, C., Margaron, F., and Courcol, R. J. (2008). Molecular diagnosis of a bilateral panuveitis due to *Borrelia burgdorferi sensu lato* by cerebrospinal fluid analysis. *J. Infect. Dis.* 198, 214–215.
- Wojciechowska-Koszko, I., Maczynska, I., Szych, Z., and Giedrys-Kalemba, S. (2011). Serodiagnosis of borreliosis: indirect immunofluorescence assay, enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblotting. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 59, 69–77. doi: 10.1007/s00005-010-0111-0
- Wormser, G. P. (2006). Early Lyme disease. *N. Engl. J. Med.* 354, 2794–2801. doi: 10.1056/NEJMcp061181
- Wormser, G. P., Dattwyler, R. J., Shapiro, E. D., Halperin, J. J., Steere, A. C., Klempner, M. S., et al. (2006). 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.* 43, 1089–1134. doi: 10.1086/508667
- Yrjänainen, H., Hytonen, J., Hartiala, P., Oksi, L., and Viljanen, M. K. (2010). Persistence of borrelial DNA in the joints of *Borrelia burgdorferi*-infected mice after ceftriaxone treatment. *APMIS* 118, 665–673. doi: 10.1111/j.1600-0463.2010.02615.x

Conflict of Interest Statement: The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Received: 25 March 2014; accepted: 19 May 2014; published online: 03 June 2014.

*Citation: Perronne C (2014) Lyme and associated tick-borne diseases: global challenges in the context of a public health threat. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 4:74. doi: 10.3389/fcimb.2014.00074*

*This article was submitted to the journal *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*.*

Copyright © 2014 Perronne. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Critical review of studies trying to evaluate the treatment of chronic Lyme disease

Christian Perronne

Available online:

AP-HP, hôpitaux universitaires Paris-Île-de-France Ouest, University of Versailles
Saint-Quentin, département d'infectiologie, 92380 Garches, France

c.perronne@rpc.aphp.fr

Revue critique des études essayant d'évaluer le traitement de la maladie de Lyme chronique

Although antibiotic treatment for Lyme disease is effective in some patients, especially during the early phase of the disease, many patients suffer from chronic disease with persisting and evolving signs and symptoms. The role of persistent microorganisms in the pathophysiology of chronic syndromes following Lyme disease treated according to the current recommendations is still being debated [1-3]. The clinician has no diagnostic test to use in routine practice to check for the persistence of live *Borreliae*. Several publications show contradictory results regarding the treatment of chronic Lyme disease.

Efficacy of prolonged antibiotic treatment for chronic Lyme disease

The efficacy of long-term antibiotic treatment in patients with chronic Lyme disease or chronic syndromes following tick-bites is still controversial [2]. Several open-label studies have shown that a large proportion of patients with chronic Lyme disease improve after prolonged courses of antibiotic treatment [4-6]. For their condition to improve, patients with a long history of the

disease required longer antibiotic treatments. Several randomized studies tried to evaluate the efficacy of antibiotic treatment versus placebo in chronic Lyme disease. In one study, no difference was shown [7]. In the two following studies, a significant albeit limited beneficial effect of antibiotic therapy was demonstrated. In the study by Krupp et al., a four-week course of treatment with ceftriaxone improved the fatigue syndrome as reassessed at 6 months, with a significant improvement of 64% in the ceftriaxone group versus 18.5% in the placebo group ($P < 0.001$) [8]. In the study by Fallon et al. that included patients with memory impairment persisting after an initial three-week course of treatment with ceftriaxone, a 10-week long retreatment with ceftriaxone was successful, versus placebo, in improving their cognitive functioning ($P < 0.01$). However, this beneficial effect was transient and the difference between the retreated and the non-retreated groups disappeared after 6 months [9]. This transient effect of antibiotics could be due to bacterial persistence.

B. burgdorferi is highly adaptable and able to persist within tissues

B. burgdorferi has a complex genetic structure. It has more than 132 function genes. In contrast, *Treponema pallidum*, another spirochete, only has 22 function genes. *B. burgdorferi* has one

DOI of original article:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.lpm.2015.06.001>

* See the related editorial by Hansmann et al. published in the same issue, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lpm.2015.06.002>.

linear chromosome and 21 plasmids. *Chlamydophila* only has 7 plasmids. This genetic complexity suggests that *B. burgdorferi* is a highly adaptable organism capable of evading the human immune response. It can do so through different processes such as immunosuppression, antigenic variation, mutation and gene recombination. It can survive extracellularly as well as intracellularly; it releases factors for cell adherence and some studies have shown that it can persist in atypical dormant state forms through cyst formation. The cyclic conversion of cystic forms into free spirochetes releases new *Borreliae* in tissues. Animal models in mice, dogs and monkeys clearly demonstrate that *B. burgdorferi* may persist in tissues even after several months of treatment with antibiotics that are effective in vitro [2,10]. Persistence of *B. burgdorferi* after antibiotic treatment has also been reported in some studies done on humans [11-13]. Dormant persister cells of bacteria from different genera can escape the bactericidal effect of antibiotics and be responsible for latent infections [11-14]. Persisters are quiescent bacterial cells that are able to survive antibiotics or stresses and that are able to resume growth under favorable conditions [15]. Clinicians have no diagnostic tests to check for the persistence of live *Borreliae*. Changes seen in the serologic profile are not contributive. The antibiotic susceptibility profile of the growing forms of *B. burgdorferi* differs from that of the persistent forms of the bacterium [16]. The cystic forms of *B. burgdorferi* are able to escape the antibactericidal effect of antibiotics. Moreover, the persistence of other species of *Borreliae* has not yet been well studied.

Several species of *Borreliae* are pathogenic for humans

Borreliae were initially reported by Charles Nicolle as microbial agents responsible for relapsing fever (*Borrelia recurrentis*). Relapsing fever due to another species of *Borrelia* (*B. crociduriae*) is endemic in some parts of Africa [17]. While Lyme disease is usually described as an infection due to *B. burgdorferi* sensu stricto, to *B. afzelii* and to *B. garinii*, Lyme-like diseases may be due to other species of *Borrelia*. They are rarely considered or tested for, and their antibiotic susceptibility profile is poorly studied [3,14,18]. *Borrelia miyamotoi*, phylogenetically close to relapsing fever borreliae, is now recognized as a cause of Lyme-like disease and relapsing fever in Asia, Europe and North America [14,18]. Another novel isolate of *Borrelia* has been identified by PCR in a post-treatment serum from a patient with neurologic Lyme disease, showing the capacity of this new species to persist despite antibiotic treatment [14]. Few studies have looked at drugs capable of killing persistent *B. burgdorferi* or other species of *Borrelia*.

Activity of drugs against *Borrelia* persisters

Metronidazole and tinidazole, which have a high in vitro activity against *B. burgdorferi*, are also effective against cystic forms of the bacterium [19]. Tetracycline is effective against round-body

propagules of *B. burgdorferi* [20]. Some drugs, which are not antibiotics, can play a role against persistent bacteria. It has been suggested in an open-label study that the combination of hydroxychloroquine with antibiotics improves the efficacy of antibiotic treatment against chronic Lyme disease [5]. Hydroxychloroquine and chloroquine are able to enhance the bactericidal activity of antibiotics in the phagolysosome within leucocytes, as shown for *Mycobacterium tuberculosis* or *Coxiella burnetii* [21,22]. Q fever is a good example of the antibacterial use of hydroxychloroquine. When combinations of three antibiotics of different classes were given daily for as long as three years, live forms of *Coxiella burnetii* could still be isolated from the cardiac valves of patients suffering from a chronic form of the disease. The systematic addition of hydroxychloroquine to the antibiotic treatment, consisting of a single antibiotic, doxycycline, for at least 18 months, results in the cure of the majority of chronic Q fever cases. Furthermore, it has been shown that hydroxychloroquine has a direct inhibitory effect against *B. burgdorferi* [23]. In addition to this antibacterial effect, hydroxychloroquine and chloroquine are mainly known as anti-parasitic drugs and their clinical efficacy could be due in part to their activity against parasites responsible for coinfections, such as *Babesiae*. In fact, alternative treatments to antibiotics have rarely been studied [16,24,25]. In these studies, melittin, grapefruit seed extract, clofazimine (already used for leprosy or mycobacteria), bismuth (currently used for *Helicobacter pylori*), amphotericin B (an antifungal drug), amodiaquin and quinine hydrobromide (effective against *Plasmodium* sp.) should be further studied against persistent forms of *B. burgdorferi*. The study of effective non-antibiotic drugs should be included in the clinical research programs. It could be a partial response to the fear of developing antibiotic resistance when treating cases of chronic Lyme disease.

Role of coinfections in the persistence of signs and symptoms

The limited efficacy of antibiotic treatments observed in some patients could also be due to coinfections with other microorganisms. Acute or chronic syndromes occurring after tick bite may be due, in part or in total, to pathogens other than *Borrelia* sp., some of them tick-transmitted, others transmitted through different mechanisms [3]. Other well-known tick-transmitted infections are human granulocytic anaplasmosis and babesiosis, a frequent parasitic infection of animals. Other bacterial species are also able to persist: *Chlamydophila*, *Mycoplasma*, *Bartonella*, *Coxiella burnetii*, and a new tick-borne bacterial pathogen, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* [26,27]. In addition to bacteria and parasites, viruses such as HHV-6, or fungi such as *Leishmania*, could be involved. Some of these infections may have an impact on the neuropsychiatric status of patients. For example, *Toxoplasma gondii* infection can increase the risk of suicidal behavior [28,29]. As described above, the anti-parasitic

effect of hydroxychloroquine could partly explain its clinical efficacy in some patients through its activity against *Babesiae*. The anti-fungal drug, fluconazole may improve some patients [30]. It is not known if this clinical benefit is due to the activity against a fungal coinfection or if it is due to the presence of receptors to fluconazole on persistent microorganisms.

Critical analysis of studies trying to evaluate the treatment of chronic Lyme disease

Exacerbation of signs and symptoms is a frequent event during antibiotic treatment of Lyme disease. The acute exacerbations at the beginning of treatment, known as the Jarisch-Herxheimer reaction, have been well described. Exacerbations occurring during prolonged antibiotic treatment of chronic Lyme disease may occur later in the course of treatment and may have a cyclic course for weeks or months before progressively disappearing (personal clinical observation). The evaluation of antibiotic efficacy versus placebo, after several weeks of treatment may be biased. The first cause of bias is the cyclic nature of the disease, compounded with the intermittent exacerbations due to antibiotics in the treated group. Some patients in the treated arm who will eventually be cured may experience an exacerbation at the time-point of evaluation. The second bias is when the tool used for evaluations is too general, such as a quality of life score, which does not analyze the different categories of signs and symptoms (general, articular, neurologic, cardiac, etc.). At a given point in time, a certain category of signs or symptoms may have disappeared and improvement may be long term, while another category of signs and symptoms may appear to

be transient worsening, leading to the false conclusion of global failure. So, in fact, the two randomized studies, which evaluated specific objective end-points, showed a benefit of antibiotic treatment, whilst the randomized study that used a general quality of life score did not. The design of future randomized studies should take into account these potential pitfalls.

Conclusion

Fundamental and clinical research is needed to move forward in the management of patients suffering from chronic Lyme disease or associated diseases. New PCR methods and new genomic techniques, such as high throughput sequencing, should be used to identify the microorganisms that could be involved in a particular patient [14]. New strategies should be designed in order to determine the best treatments against *Borrelia* sp. and the possible coinfections. The addition of a maintenance phase treatment to the induction phase treatment is probably needed in some patients. As well as drugs that are well-known to be effective against bacteria in their growth phase, other drugs, which can be effective against persistent bacteria, should be evaluated for their efficacy in the maintenance phase of treatment.

Disclosure of interest: the author declares that he has no conflicts of interest concerning this article.

Acknowledgment: The author thanks Nelly Pointis for her review of the English text.

References

- [1] Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JL, Steere AC, Klempner MS, 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. [IDSA Guidelines]
- [2] Stricker RB. Counterpoint: long-term antibiotic therapy improves persistent symptoms associated with Lyme disease. *Clin Infect Dis* 2007;45:149-57.
- [3] Peronne C. Lyme and associated tick-borne diseases: global challenges in the context of a public health threat. *Front Cell Infect Microbiol* 2014. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2014.00074>
- [4] Donata ST. Tetracycline therapy for chronic Lyme disease. *Clin Infect Dis* 1997;25:S52-6.
- [5] Donata ST. Macrolide therapy of chronic Lyme disease. *Med Sci Monit* 2003;9:136-42.
- [6] Clarissou J, Song A, Beneteau C, Guillenot D, Dinh A, Adler F, et al. Efficacy of a long-term antibiotic treatment in patients with a chronic tick-associated poly-organic syndrome (TAPOS). *Med Mal Infect* 2009;39:108-15.
- [7] Klempner MS, Hu LT, Evans J, Schmid CH, Johnson LM, Trevino RP, 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.
- [8] Krupp LB, Hyman LG, Grimson R, Coyle PK, Melville P, Ahnn S, et al. Study and treatment of post-Lyme disease (STOP-LD). A randomized double masked clinical trial. *Neurology* 2003;60:1923-30.
- [9] Fallon BA, Keipf JS, Cordera KM, Petkova E, Britton CB, Dwyer E, et al. A randomized, placebo-controlled trial of repeated IV antibiotic therapy for Lyme encephalopathy. *Neurology* 2008;70:992-1003.
- [10] Embrey MT, Barthold SW, Borda JJ, Bowers L, Doyle L, Hodic E, et al. Persistence of *Borrelia burgdorferi* in Rhesus macaques following antibiotic treatment of disseminated infection. *PLOS One* 2012;7:e39914. [Erratum PLoS One 2012; 7: doi: 10.1371/journal.pone.0049914]
- [11] Phillips SE, Matmanian H, Hulinska D, Moayad H. A proposal for the reliable culture of *Borrelia burgdorferi* from patients with chronic Lyme disease, even from those previously aggressively treated. *Infection* 1998;26:364-7.
- [12] Huntford KP, Ruiz-Sablik E, Norris DE, Krajcovic P, Sirf F. In vitro susceptibility testing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates cultured from patients with erythema migrans before and after antimicrobial chemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:1294-301.
- [13] Masters T, Lyniwinski P, Rawlings J. Spirochetemia after continuous high dose oral therapy 2008;70:992-1003.

To cite this article: Perronne C. Critical review of studies trying to evaluate the treatment of chronic Lyme disease. *Presse Med.* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.lpm.2015.06.002>

C. Perronne

- amoxicillin therapy. *Infect Dis Clin Pract* 1994;3:207-8.
- [14] Lee SH, Vigliotti JS, Vigliotti VS, Jones W, Shearer DM. Detection of *Borreliae* in archived sera from patients with clinically suspect Lyme disease. *Int J Mol Sci* 2014;15:4284-98.
- [15] Zhang Y. Persisters, persistent infections and the Yin-Yang model. *Emerg Microbes Infect* 2014 [doi: 10.1038/emi.2014.3].
- [16] Feng J, Wang T, Shi W, Zhang S, Sullivan D, Auwaerter PG, et al. Identification of novel activity against *Borrelia burgdorferi* persisters using an FDA approved drug library. *Emerg Microbes Infect* 2014. <http://dx.doi.org/10.1038/emi.2014.53>.
- [17] Schwan TG, Anderson JM, Lopez JE, Fischer RJ, Raffel SJ, McCoy BN, et al. Endemic foci of the tick-borne relapsing fever spirochete *Borrelia crocidurae* in Mali, West Africa, and the potential for human infection. *PLOS Negl Trop Dis* 2012;2012 [doi: 10.1371].
- [18] Branda JA, Rosenberg ES. *Borrelia miyamotoi*: a lesson in disease discovery. *Ann Intern Med* 2013;159:61-2.
- [19] Brorson O, Brorson SH. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to metronidazole. *APMIS* 1999;107:566-76.
- [20] Brorson O, Brorson SH, Scythes J, Mac Allister J, Wier A, Margulis L. Destruction of spirochete *Borrelia burgdorferi* round-body propagules (RBs) by the antibiotic tigecycline. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:1865-961.
- [21] Crowle AJ, May MH. Inhibition of tubercle bacilli in cultured human macrophages by chloroquine used alone and in combination with streptomycin, isoniazid, pyrazinamide, and two metabolites of vitamin D. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:2217-22.
- [22] Rolain JM, Colson P, Raoult D. Recycling of chloroquine and its hydroxyl analogue to face bacterial, fungal and viral infections in the 21st century. *Int J Antimicrob Agents* 2007;30:297-308.
- [23] Brorson O, Brorson SH. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to hydroxychloroquine. *Int Microbiol* 2002;5:25-31.
- [24] Lubke LL, Garon CF. The antimicrobial agent melittin exhibits powerful in vitro inhibitory effects on the Lyme disease spirochete. *Clin Infect Dis* 1997;25:S48-51.
- [25] Brorson O, Brorson SH. Grapefruit seed extract is a powerful in vitro agent against motile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Infection* 2007;35:206.
- [26] Fehr JS, Bloemberg GV, Ritter C, Hombach M, Lüscher TF, Weber R, et al. Septicemia caused by tick-borne bacterial pathogen *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*. *Emerg Infect Dis* 2010;16:1127-9.
- [27] Granqvist A, Andersson PO, Mattsson M, Sender M, Vaht K, Höper L, et al. Infections with the tick-borne bacterium "*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*" mimic noninfectious conditions in patients with B cell malignancies or auto-immune diseases. *Clin Infect Dis* 2014;58:1716-22.
- [28] Zhang Y, Träskman-Bendz L, Janelidze S, Langeberg P, Saleh A, Constantine N, et al. *Toxoplasma gondii* immunoglobulin G antibodies and nonfatal suicidal self-directed violence. *J Clin Psychiatry* 2012;73:1069-76.
- [29] Pedersen MG, Mortensen PB, Norgaard-Pedersen B, Postolache TT. *Toxoplasma gondii* infection and self-directed violence in mothers. *Arch Gen Psychiatry* 2012;69:1123-30.
- [30] Schardt FW. Clinical effects of fluconazole in patients with neuroborreliosis. *Eur J Med Res* 2004;9:334-6.

EDITORIALS



Lyme disease: time for a new approach?

Many more questions than answers

Liesbeth Borgermans *professor*¹, Christian Perronne *professor*², Ran Balicer *professor*³, Ozren Polasek *professor*^{4,5}, Valerie Obsomer *ecological and environmental risk expert*⁶

¹Department of Family Medicine and Chronic Care, Faculty of Medicine and Pharmacy, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium; ²Infectious Diseases Unit, Hôpitaux Universitaires Paris-Île de France-Ouest, Saint Quentin en Yvelines, France; ³Epidemiology Department, Faculty of Health Sciences, Ben-Gurion University of the Negev, Israel; ⁴Department of Public Health and Croatian Centre for Global Health, University of Split, Croatia; ⁵Centre for Global Health Research, Usher Institute of Population Health Sciences and Informatics, Edinburgh, UK; ⁶Agriculture, Environment, Natural Resources and Environmental Risk Management, Public Service of Wallonia, Namur, Belgium

Lyme disease is the most common vector borne disease in North America and Europe, with 300 000 new cases in the United States¹ and an estimated 100 000 new cases in Europe each year.² These numbers are likely to be underestimates because case reporting is inconsistent³ and many infections go undiagnosed.⁴ Climate change may have contributed to a rapid increase in tick borne diseases, with migratory birds disseminating infected ticks.⁵

Our common understanding of Lyme disease is that a tick bite is followed by the development of a classic rash pattern (*erythema migrans*). When treated early with a relatively short course of antibiotics, most patients have good outcomes.⁶ But the standard two tier testing for Lyme disease is inaccurate in the early stages, and many patients and doctors fail to recognise the rash.⁷ Patients who present with the later stages of the disease can also be easily dismissed because the two tier testing lacks sensitivity and cannot distinguish between current and past infection. At the same time, the evidence remains limited on the reasons for treatment failure and unresolved systemic symptoms in patients with or without serological evidence of the disease. Most patients will present to family physicians, who often have few subsequent resources when the initial treatment proves unsuccessful.

Recently, the medical community has been collectively forced out of its comfort zone on Lyme disease by increasing evidence of the complexity of this multisystem disease.⁸ To further complicate matters, some patients develop long term symptoms. The complexities are essentially related to either a lack of understanding of the disease or conflicting evidence. Many questions await full answers (box).⁹ Evidence that answers these questions, and especially that highlights the inter-relatedness of the different components, could underpin the necessary rethinking around this condition.

Recent evidence shedding light on how spirochaetes of the *Borrelia* genus evade host immune defences and survive

antibiotic challenge¹⁰⁻¹⁵ threaten current beliefs about the persistence of infection, one of the largest points of contention in the medical community. The possibility of persistent infection has important implications for diagnosis, treatment, and doctor-patient interactions.¹⁶

We need more national and international debates on Lyme disease, complemented by a solid research agenda and a focus on cutting edge biological technologies. The use of diverse public health strategies to increase awareness of the risks of Lyme disease and a focus on preventive measures are also important. Family physicians can act as important partners alongside infectious disease specialists and others to drive this debate forward. Discussions should include national medical societies, doctors, patient advocacy groups, international health institutions, insurance companies, lawyers, governments, the private health medical sector, and scientific journals. It needs representatives of many different viewpoints who are prepared to remain open minded.

Previous examples in medical history, such as the delayed recognition of the role of *Helicobacter pylori* in gastric disease, have shown the consequences of ignoring findings that contradict our current beliefs about a disease. In an era where patient centred care is considered the cornerstone of high quality and integrated medicine, we cannot allow ourselves to repeat past mistakes at our patients' expense. The suffering of many affected patients¹⁷ obliges us to learn more about this disease, and fast.

We have read and understood BMJ policy on declaration of interests and declare that we have no competing interests.

Provenance and peer review: Not commissioned; externally peer reviewed.

1 Kuehn BM. CDC estimates 300 000 US cases of Lyme disease annually. *JAMA* 2013;310:1110.

Tick box: research agenda

- Range of clinical presentations, including between sexes
- Diagnostic criteria and tools
- Treatments and their efficacy
- Transmission modes and vectors
- Role of coinfections
- Uncertainty over clinical definition of chronic Lyme disease and whether detection of active infection is essential
- Whether and for how long the pathogen can persist
- Role of psychoneuroimmunology, host-pathogen interactions, and autoimmunity to residual or persisting antigens
- Role of toxins or other bacterial products in symptoms and signs
- Contribution of environmental factors

- 2 Lindgren E, Jaenson T. Lyme borreliosis in Europe: influences and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization Regional Office for Europe. 2006.
- 3 Dubrey SW, Bhaitia A, Woodham S, Rakowicz W. Lyme disease in the United Kingdom. *Postgrad Med J* 2014;90:33-42.
- 4 Perronne C. Lyme and associated tick-borne diseases: global challenges in the context of a public health threat. *Front Cell Infect Microbiol* 2014;4:74.
- 5 Medlock JM, Leach SA. Effect of climate change on vector-borne disease risk in the UK. *Lancet Infect Dis* 2015;15:721-30.
- 6 Jares TM, Mathiasen MA, Kowalski TJ. Functional outcomes in patients with *Borrelia burgdorferi* reinfection. *Ticks Tick-Borne Dis* 2014;5:58-62.
- 7 Stricker RB, Johnson L. Lyme disease: call for a 'Manhattan Project' to combat the epidemic. *PLoS Pathog* 2014;10:e1003796.
- 8 Borchers AT, Keen CL, Huntley AC, Gershwin ME. Lyme disease: a rigorous review of diagnostic criteria and treatment. *J Autoimmun* 2015;57:82-115.
- 9 Borghmans L, Goderis G, Vandaele J, Devroey D. Relevance of chronic Lyme disease to family medicine as a complex multidimensional chronic disease construct: a systematic review. *Int J Family Med* 2014;2014:138016.
- 10 Merilainen L, Herranen A, Schwarzbach A, Gilbert L. Morphological and biochemical features of *Borrelia burgdorferi* pleiomorphic forms. *Microbiology* 2015;161:516-27.
- 11 Timmaraju VA, Theophilus PA, Balasubramanian K, et al. Biofilm formation by *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *FEMS Microbiol Lett* 2015;362:fvn120.
- 12 Sharma B, Brown AV, Matlack NE, Hu LT, Lewis K. *Borrelia burgdorferi*, the causative agent of Lyme disease, forms drug-tolerant persister cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:4616-24.
- 13 Feng J, Auwaerter PG, Zhang Y. Drug combinations against *Borrelia burgdorferi* persisters in vitro: eradication achieved by using daptomycin, cefoperazone and doxycycline. *PLoS One* 2015;10:e0117207.
- 14 Carrasco SE, Troxell B, Yang Y, et al. Outer surface protein OspC is an anti-phagocytic factor that protects *Borrelia burgdorferi* from phagocytosis by macrophages. *Infect Immun* 2015;83:4848-60.
- 15 Dyer A, Brown G, Stejskal L, Laity PR, Bingham RJ. The *Borrelia afzelii* outer membrane protein BAPKO_0422 binds human factor-H and is predicted to form a membrane-spanning beta-barrel. *Biosci Rep* 2015;35:e00240.
- 16 Ali A, Vitulano L, Lee R, Weiss TR, Colson ER. Experiences of patients identifying with chronic Lyme disease in the healthcare system: a qualitative study. *BMC Fam Pract* 2014;15:79.
- 17 Van den Wijngaard CC, Holhuis A, Harms MG, et al. The burden of Lyme borreliosis expressed in disability-adjusted life years. *Eur J Public Health* 2015 Jun 16. [Epub ahead of print.]

Cite this as: *BMJ* 2015;351:h6520

© BMJ Publishing Group Ltd 2015



Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com



Médecine et maladies infectieuses 37 (2007) 487–495

**Médecine et
maladies infectieuses**

<http://france.elsevier.com/direct/MEDMAL/>

Textes d'experts

Méthodes du diagnostic biologique au cours des différentes manifestations de la borréliose de Lyme

Laboratory methods for the diagnosis of clinical forms of Lyme borreliosis

M.-V. Assous

Microbiologie, faculté de médecine René-Descartes, université de Paris-V, Paris, France

Adresses actuelles : Clinical microbiology department, (Pr H. Bercovier) Hebrew University, Hadassah Medical School,

Kiryat-Ein-Kerem POB 1172, 91010 Jérusalem, Israël

Ministry of Health, Government Central Laboratories, POB 34410, 84467 Jérusalem, Israël

Reçu et accepté le 15 janvier 2006

Disponible sur internet le 03 avril 2007

Résumé

Les méthodes du diagnostic biologique doivent être discutées en fonction des formes cliniques, à cause de leur grand polymorphisme. Le travail de clarification nosologique et biologique réalisé par l'« European Concerted Action on Lyme Borreliosis » (EUCALB) est très utile, car peu d'études décrivent les résultats de cohortes incluant l'ensemble des formes cliniques de la borréliose de Lyme. Dans les *Erythema migrans*, la sensibilité de la sérologie est faible (20 à 50 %) ; celle de la culture ou de la PCR autour de 50 %. Dans les formes compliquées précoces, la sérologie est plus sensible (70 à 90 %) avec présence concomitante d'IgM et d'IgG. La recherche des anticorps dans le LCR est d'une très grande utilité (neuroborrélioses). La sensibilité de la culture et de la PCR du LCR sont décevants (10 à 30 %). Dans les arthrites et les acrodermatites chroniques atrophiantes (ACA), la sérologie en IgG est positive dans 100 % des cas avec des taux très élevés ; la recherche des IgM n'est positive que de 5 à 10 %. Dans les arthrites, la PCR est plus sensible que la culture (50 à 70 %). Dans les ACA, la sensibilité par culture varie de 20 à 60 % et par PCR de 60 à 90 %. Les notions de spécificité, d'exposition, de réactions croisées sont cruciales pour l'interprétation de la sérologie. Seule l'utilisation des « profils sérologiques » permet d'exploiter au mieux les résultats. Dans cette approche, l'étude de l'avidité des IgG est contributive. Le western blot sert à confirmer la spécificité des anticorps retrouvés en dépistage (Elisa).

© 2007 Publié par Elsevier Masson SAS.

Abstract

Methods used to diagnose Lyme borreliosis (LB) vary according to clinical presentations. A very good basis to clarify this nosological and clinical entity is the study published by the “European Concerted Action on Lyme Borreliosis” (EUCALB). In fact, only few studies were performed on cohorts of patients including all clinical forms of LB. For *Erythema migrans*, serology sensitivity is low (20% to 50%), while the sensitivity of culture or PCR reaches 50%. In early-complicated forms, serology is more sensitive (70 to 90%) with the presence of concomitant IgG and IgM. Screening for antibodies in CSF is very useful for the diagnosis of neuroborreliosis. For this clinical form, culture or PCR sensitivity is disappointing (10 to 30%). In arthritis and acrodermatitis chronica atrophicans (ACA), IgG serology is 100% positive with very high titers; however IgM serology is only positive in 5 to 10% of the cases. In ACA, culture sensitivity ranges from 20 to 60% and PCR sensitivity from 60 to 90%. Specificity of antibodies, natural exposure to the etiologic agent, and cross-reactivity are critical for the final interpretation of serological assessment. Only the use of “serological profiles” allows the exploitation of detailed results (isotypes, intensity). In this approach, IgG avidity could be constructive. The western-blot is intended to confirm the specificity of antibodies found in screening methods (Elisa).

© 2007 Publié par Elsevier Masson SAS.

Adresse e-mail : mvassous@gmail.com (M.-V. Assous).

0399-077X/\$ - see front matter © 2007 Publié par Elsevier Masson SAS.
doi:10.1016/j.medmal.2006.01.019

Mots clés : Avidité des anticorps ; Borrélioze de Lyme ; Elisa ; PCR ; Western blot

Keywords: Elisa; IgG avidity; Lyme borreliosis; PCR; Western blot

1. Introduction

Le polymorphisme clinique que présente la borrélioze de Lyme est une caractéristique marquante de cette affection [1]. Il est donc tout à fait légitime de discuter des méthodes du diagnostic biologique *en fonction des formes cliniques*. Il est important de rappeler qu'une des causes de ce polymorphisme est « l'organotropisme relatif » des différentes espèces du complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* que nous avons proposé dès 1993 [2] et qui depuis est considéré comme admis pour *Borrelia afzelii* et l'ACA et pour *Borrelia garinii* et les neuroborrélioses [3].

Ce polymorphisme est cependant apparu comme une source de confusion et un facteur critique dans la définition exacte du spectre clinique [1,3]. En effet, peu de maladies infectieuses concernent autant de spécialités médicales : dermatologie, rhumatologie, neurologie, cardiologie et même la psychiatrie, sans parler de la médecine interne. L'absence d'un diagnostic biologique de certitude (« gold standard ») disponible en routine intervient ici comme un élément supplémentaire aggravant le flou qui entoure certaines formes cliniques généralement rares. En effet d'après notre expérience, de nombreux diagnostics de formes compliquées sont posés en se fondant uniquement sur l'association d'une sérologie positive et d'un syndrome clinique non spécifique [1].

En Europe, un important travail de clarification nosologique a été réalisé par une action menée dans le cadre de la Communauté européenne connue sous le nom de EUCALB pour « European Concerted Action on Lyme Borreliosis » [4]. Le texte ainsi que de nombreuses informations et mises à jour se trouvent sur le site <http://www.dis.strath.anticorps.uk/vie/LymeEU/>. Une traduction française a été publiée dans le journal des anciens élèves de l'Institut Pasteur (Numéro 154).

Sur la base de ce consensus présenté à la Fig. 1, nous passerons en revue les différentes formes cliniques afin de décrire la place et l'intérêt des méthodes du diagnostic biologique (sérologie, culture et PCR) dans le contexte du diagnostic de routine.

2. État des Lieux

Peu d'études dans la littérature décrivent des cohortes de patients présentant toutes sinon les principales formes cliniques permettant ainsi de comparer les performances des méthodes sérologiques en fonction des formes cliniques [5–8]. Le plus souvent, seule une forme clinique est étudiée empêchant ainsi la comparaison des performances des méthodes biologiques dans le spectre complet de la maladie. Certaines revues ont été rédigées afin de compenser ce manque, mais elles n'ont pas la même valeur qu'une étude originale [9].

Dans cet exposé, nous nous servirons à la fois des données de la littérature et de notre expérience de 15 années, consacrées au diagnostic biologique de cette affection au cours desquelles nous avons réalisé plus de 50 000 tests et participé au diagnostic de plusieurs centaines de cas. La synthèse des performances des méthodes biologiques est récapitulée au Tableau 1.

3. Forme de contagion : erythema migrans (EM)

3.1. Sérologie

Dans cette forme clinique, la réponse en anticorps est de faible intensité, et inconstante. En effet, cette lésion très localisée n'entraîne la production que d'une quantité faible d'anticorps qui seront dilués dans le torrent circulatoire. Même avec les méthodes Elisa les plus sensibles, la sensibilité est faible et varie suivant les auteurs de 20 à 50 % en Europe (Tableau 1). Il s'agit d'IgM isolées, d'IgG isolées ou des deux isotypes ensemble. Dans notre expérience, nous avons trouvé 64 % des patients positifs en IgG et 76 % positifs en IgM dans un groupe de 38 patients [10]. En immunofluorescence indirecte (IFI) [11] et en immunochromatographie la sensibilité est plus faible, mais peu de données existent dans la littérature sur cette dernière technique.

En conclusion, en présence d'un EM typique la sérologie n'est pas indispensable ; elle peut être utile en cas de doute diagnostique si elle est positive, mais n'exclut en rien le diagnostic en cas de résultat négatif.

Tableau 1
Sensibilité comparée des méthodes biologiques en fonction de la forme clinique (d'après la littérature)

	Forme de contagion		Formes compliquées précoces		Formes compliquées tardives		Sérum	Peau
	Érythème migrant	Sérum	Sérum	LCR	Sérum	Liquide * articulaire		
	Sérum	Peau	Sérum	LCR	Sérum	Liquide * articulaire	Sérum	Peau
Culture	NR	38–80 %	NR	≤ 10 %	NR	< 5 %	NR	20–60 %
PCR	NR	60–90 %	NR	25 %	NR	50–70 %	NR	60–90 %
Elisa	20–50 %	NR	70–90 %	80–100 %	90–100 %	NR	95–100 %	NR

NR : non réalisable ; * : meilleurs résultats avec les biopsies synoviales.

3.2. PCR, culture

La sensibilité est de l'ordre de 50 % pour la culture ou la PCR [12]. Mais ces deux techniques nécessitent une biopsie cutanée préalable ; ce qui n'est pas de pratique courante en France. Il faut rappeler que dans la majorité des cas, le diagnostic d'EM est facile sur les arguments cliniques et épidémiologiques.

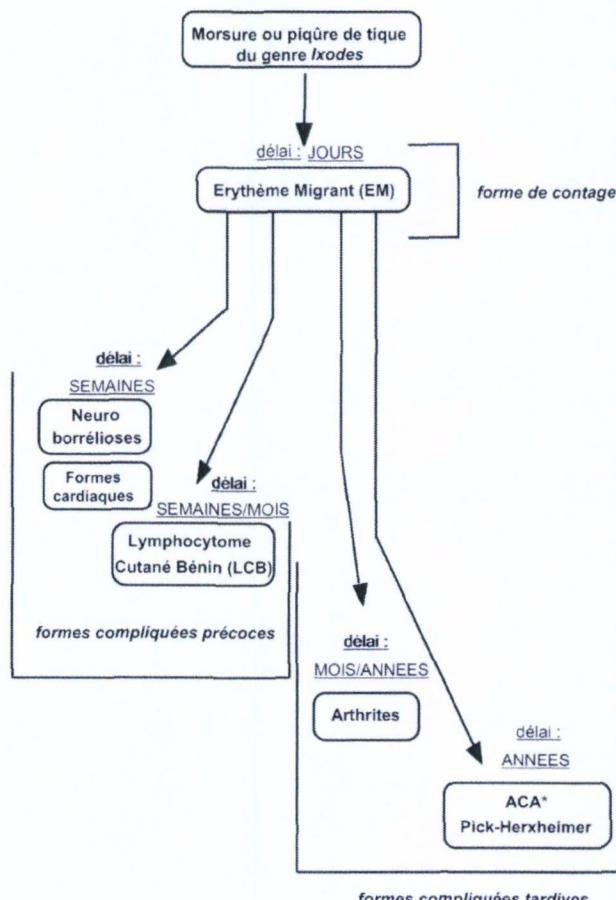


Fig. 1. Principales formes cliniques en Europe.

logiques et que la nécessité d'une sérologie peut se discuter (cf. supra). La PCR ou la culture ne sont disponibles que dans quelques laboratoires en France et nécessitent un important délai pour la réponse ; plusieurs semaines pour la culture et plusieurs jours pour la PCR dite classique. Certes, la PCR en temps réel ne nécessite qu'un délai de réalisation de quelques heures. Mais il est très rare qu'un laboratoire mette en œuvre ce type de méthode très coûteuse que pour un seul patient et il regroupe en général les demandes. En outre, ces méthodes moléculaires ne sont pas à la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM).

En conclusion compte tenu de leur bonne sensibilité entre des mains expertes, la culture et/ou la PCR peuvent être recommandées en cas de forme atypique ; un résultat négatif n'excluant pas le diagnostic.

4. Formes compliquées précoces

4.1. Sérologie

Dans les formes neurologiques, la sérologie est beaucoup plus fréquemment positive que dans les EM, mais les taux d'anticorps sériques restent modérés en intensité (Fig. 2). La sensibilité de la sérologie dans le sérum varie de 70 à 90 % suivant les techniques et les auteurs. Dans ces formes cliniques, la recherche des anticorps dans le LCR est d'une très grande utilité [13,14]. En effet, elle peut s'avérer positive alors que la recherche dans le sérum est négative, la production intrathécale de ces anticorps ayant été démontrée [15]. Suivant les méthodes utilisées, la sensibilité dans le LCR varie de 80 à 100 % (Tableau 1). Dans une étude comparant la sensibilité de la sérologie dans le LCR versus l'index intrathécal chez 33 cas de neuroborréliose, Kaiser et al. [15bis] montrent que cet index permet le diagnostic d'un patient supplémentaire (33/33 au lieu de 32/33). Ils recommandent de recourir à cet index en cas de doute diagnostique. Cependant, un des avantages certains du calcul de ces index est d'aider à faire la différence entre transudation passive des anticorps et synthèse in situ. Il existe dans notre expérience des cas rares de radiculites hyperalgiques qui

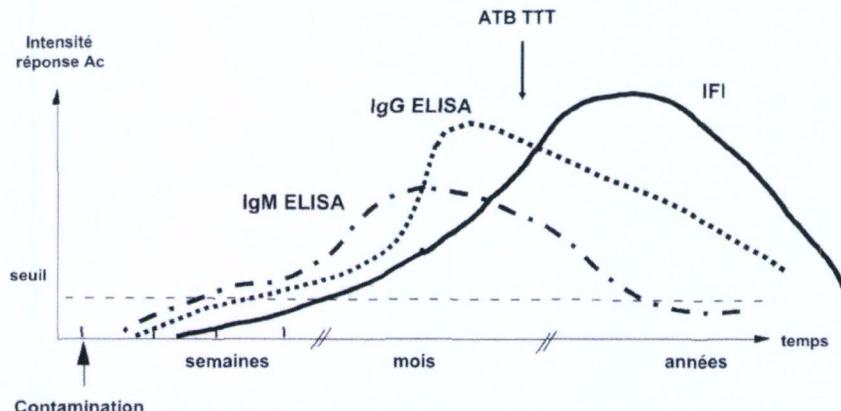


Fig. 2. Cinétique des anticorps en fonction des méthodes sérologiques : exemple d'une neuroborréliose.

ne s'accompagnent ni de méningite lymphocytaire ni d'anticorps dans le LCR.

En technique Elisa, on observe des ratios positifs très précolement dans l'évolution de l'affection. Les IgM et les IgG sont dans ce cas retrouvés de manière concomitante avec des ratios positifs modérés dès le début de l'atteinte neurologique (radiculite isolée et débutante) dans les cas typiques voir Fig. 2. En l'absence de diagnostic et de traitement à ce stade, le taux d'IgM va augmenter suivi par l'ascension des IgG. Il existe de manière constante une méningite lymphocytaire de découverte biologique. Il existe parfois une ascension plus lente des anticorps qui implique la nécessité de contrôler la sérologie sanguine et/ou du LCR, 15 jours à trois semaines après, en cas de premier test négatif.

Pour les formes cardiaques et le lymphocytome cutané bénin (LCB), les profils sérologiques sont identiques bien que peu documentés dans la littérature. La sérologie est généralement positive de façon modérée. Pour le LCB, une biopsie cutanée à visée anatomopathologique est d'usage afin de s'assurer de la nature bénigne de la lésion.

4.2. PCR, culture

Les recherches par culture du LCR ont été décevantes et cela n'est pas dû à la capacité des milieux de culture utilisés. En effet, à partir des tiques l'isolement de *B. burgdorferi sensu lato* admet de très bons rendements. L'hypothèse la plus probable est que cette bactérie développe son pouvoir pathogène en localisation intratissulaire et est donc peu présente dans les liquides. Les rendements décrits vont de 10 à 30 % [9]. Les résultats, pour les méthodes PCR sont identiques. Il semble qu'en tout début de maladie, les résultats soient meilleurs pour ces deux types de méthodes [9]. Ces méthodes peuvent être utiles en cas de diagnostic douteux.

5. Formes compliquées tardives

5.1. Sérologie

Dans les arthrites et les acrodermatites chroniques atrophiantes (ACA), les taux d'anticorps sont particulièrement élevés, atteignant des valeurs supérieures à 1/1024 en IFI, avec une sensibilité proche de 100 %. Il en est de même pour les méthodes Elisa où, dans notre expérience, 100 % des patients sont positifs avec des ratios très élevés (Fig. 3). La sérologie en IgG est positive dans 100 % des cas alors que la recherche des IgM n'est positive que dans un faible pourcentage de cas compris entre 5 et 10 % [9,10]. Ainsi, dans ces formes tardives, la négativité de la sérologie en IgG ou en Ig totales permet d'exclure le diagnostic.

6. PCR, culture

Dans le cas des arthrites, la PCR est plus sensible que la culture (Tableau 1). Suivant les cibles utilisées (flagelline, OspA, P66 ou gènes ribosomaux) les résultats de sensibilité par PCR varient de 50 à 70 %. Là encore, la sensibilité est meilleure avec une biopsie synoviale qu'avec un liquide de ponction [16]. Mais cette biopsie implique un acte spécialisé. De même, dans les ACA, les rendements en culture varient de 20 à 60 % et par PCR de 60 à 90 % [17].

Dans les très rares formes neurologiques tardives (deux cas en dix ans dans notre expérience), la présence d'une méningite lymphocytaire et la démonstration d'une sécrétion intrathécale sont indispensables pour envisager le diagnostic [18].

6.1. Suivi biologique après traitement antibiotique

Après traitement antibiotique, la diminution des taux d'anticorps est d'autant plus lente qu'ils étaient élevés. Après une

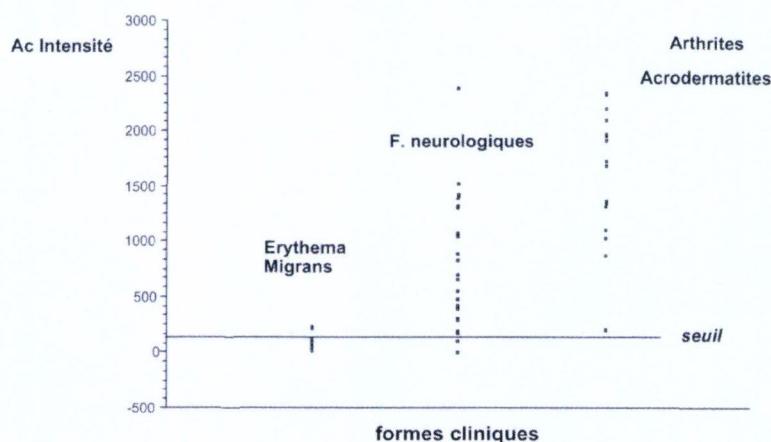


Fig. 3. Intensité de la réponse en anticorps.

possible augmentation transitoire, survient dans la majorité des cas une diminution significative des taux à trois mois ou six mois, suivant les cas, notamment en IgM ; l'IFI pour les anticorps totaux est la meilleure méthode dans notre expérience pour le suivi des patients, car les taux d'anticorps diminuent déjà au bout de trois mois [19]. Chez les patients traités et guéris, il peut subsister des taux d'anticorps dits « cicatriciels » faiblement positifs en IgG pendant des années. L'adjonction de peptide(s) de synthèse et/ou de protéines recombinantes aux antigènes natifs classiquement utilisés modifie probablement cette cinétique. En outre, il n'existe pas de consensus sur la nécessité de ce suivi sérologique. Dans notre expérience, ce suivi peut être utile afin de décider de la poursuite du traitement dans les formes tardives en corrélation avec l'efficacité clinique.

7. Problèmes liés à l'interprétation des résultats de sérologie

7.1. La spécificité, une notion relative

Le problème évoqué par beaucoup d'auteurs est le « bruit de fond » élevé observé pour la borréliose de Lyme dans la population générale (Fig. 4). En effet, en IFI Ig totales par exemple, le seuil de signification statistique retenu (1/256 sans absorption préalable du sérum et 1/64 avec absorption préalable) correspond à la dilution pour laquelle, 95 à 97 % des témoins sont négatifs. C'est en effet un seuil élevé par comparaison avec d'autres sérologies bactériennes utilisant la même technique. En termes épidémiologiques, cela signifie que la prévalence des anticorps dans la population dite « générale » est comprise entre 3 et 5 %. Pour des populations exposées (bûcherons, forestiers, randonneurs, etc.), ce pourcentage peut atteindre 25 et 30 % [20–24]. Ainsi la spécificité est bien une valeur relative et le seuil de signification fixe représente un seuil « moyen ».

La spécificité dépend aussi du type d'échantillon. Ainsi, le bruit de fond dans le LCR est quasiment nul [13] si ce dernier

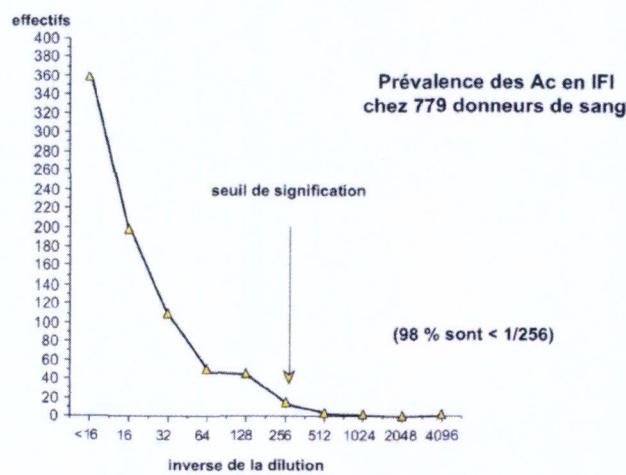


Fig. 4. Bruit de fond dans la population générale.

n'a pas été contaminé par du sérum lors de la ponction. En conséquence un *LCR hémorragique* ne doit pas être testé en sérologie, vu le risque de fausse positivité par erreur sur le seuil de signification statistique.

En Elisa, le seuil est déterminé en additionnant, selon les auteurs, deux [1,96] ou trois [2,6] écart-types à la moyenne des densités optiques (DO) des témoins. Les recommandations de l'EUCALB sont de tester au moins 100 témoins négatifs de la population normale de la même zone géographique et de vérifier qu'au plus 5 % de ces témoins sont positifs au seuil choisi.

La spécificité dépend enfin de l'isotype recherché. Ainsi, la présence d'IgM spécifiques est le plus souvent synonyme d'affection évolutive ou récente alors que les IgG à des taux faibles sont résiduelles ou bien reflètent une exposition à la bactérie dans les populations à risque.

Enfin, la spécificité augmente avec le taux d'anticorps. En effet, la valeur de la spécificité d'un coffret donné est calculée pour la valeur seuil. Si le sérum testé atteint des valeurs double ou triple du seuil indiqué, la spécificité elle aussi augmente de manière très importante.

7.2. Exposition ou maladie infraclinique ?

Les anticorps retrouvés chez les patients dits « exposés » (professions avec activité forestière, chasseurs, randonneurs etc.) ne sont pas à interpréter comme des réactions croisées. Ces anticorps sont spécifiques et leur origine peut s'expliquer de deux façons. L'une des explications proposée, probablement la moins fréquente, est celle d'une infection antérieure inapparente (infraclinique). Cette éventualité nous paraît en effet survenir selon une fréquence faible même s'il est vrai qu'un EM peut passer inaperçu. Une hypothèse plus probable nous semble l'exposition répétée à des morsures de tiques. Ces tiques peuvent être infestées par des quantités faibles de *Borrelia* et/ou par des espèces de *Borrelia* non pathogènes. Dans ce cas, les bactéries seront reconnues par le système immunitaire de l'hôte comme « étrangères » et une réponse immunitaire sera donc enclenchée avec le recrutement de clones spécifiques. Mais il n'y aura pas de maladie clinique, parce que la souche n'est pas pathogène et/ou la quantité de bactéries est insuffisante pour entraîner une infection et/ou le système immunitaire du sujet témoin puis détruit l'agent infectieux. Ainsi, il y aura eu « anticorps sans infection » au sens clinique du terme [21,23,25]. Les expositions répétées pourront entraîner le recrutement de nombreux clones contribuant, dans certains cas, à générer des taux d'anticorps très élevés. En conclusion, cette réponse anticorps au sens immunologique est « spécifique », mais elle n'est pas le témoin d'une infection évolutive.

Nous avons étudié en collaboration avec l'observatoire rural de la Châtre (Dr Christiann, Dr Rayet) une cohorte de chasseurs à la fois par Elisa et par western blot. Le taux de positifs était de 15 % en Elisa de dépistage soit trois à quatre fois plus que la population générale [25]. D'autres équipes ont publié des résultats similaires [18–22]. Les immunoblots qui ont été

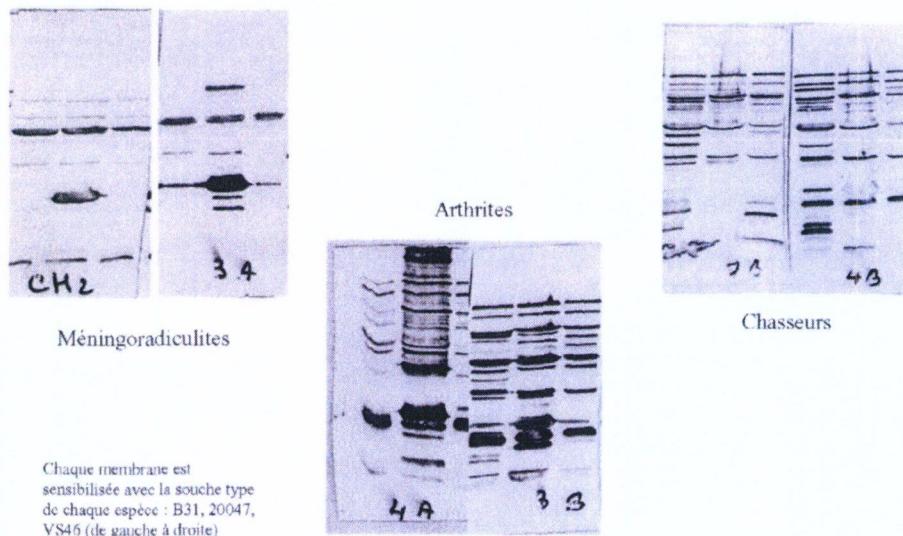


Fig. 5. Réactivité du western blot en fonction du groupe clinique.

réalisés montraient un grand nombre de bandes pour la majorité des patients, mais avec une faible intensité. Pour bien illustrer ce phénomène nous avons regroupé à la Fig. 5, des membranes d'immunoblot représentatives de ce groupe de patients ainsi que des deux formes cliniques compliquées les plus fréquentes de borréliose de Lyme ; à savoir les formes neurologiques (méningoradiculites) et les formes rhumatologiques (arthrites). Comme on le constate, les patients exposés présentent un grand nombre de bandes de faible intensité alors les patients atteints de formes compliquées précoces présentent peu de bandes, mais de faible intensité et que les formes compliquées tardives, de nombreuses bandes de forte intensité.

7.3. Réactions croisées

Les travaux déjà publiés ont permis de cerner les différents contextes dans lesquels des réactions croisées étaient impliquées. On peut ainsi distinguer deux grands groupes :

- celui de la syphilis et des tréponématoses [26–29] où il s'agit d'une authentique réaction croisée au sens immunologique du terme : communauté antigénique vraie entre ces deux espèces bactériennes ;
- le cas des autres réactions décrites, où il s'agit plutôt de phénomènes d'interférence technique et/ou immunologique [30–32].

Notre expérience nous a montré que les réactions croisées avec la syphilis étaient « unidirectionnelles », ce qui signifie que les sérum de patients atteints de borréliose de Lyme étaient toujours négatifs en TPHA et VDRL (pas toujours en FTA). En conséquence, l'attitude la plus efficace en termes de rapidité, de coût et de certitude diagnostique consistera à contrôler en TPHA tous les sérum positifs en sérologie de Lyme. Cette attitude n'est pas prônée par les auteurs interna-

tionaux qui sont le plus souvent des spécialistes qui ne disposent pas facilement de ce test en routine. C'est cependant la méthode la plus simple et la plus fiable. En effet, seuls les anticorps tréponémiques donneront une réaction positive et TPHA et jamais les anticorps anti-*Borrelia* [11].

Pour les maladies auto-immunes, nous avons étudié 100 sérum consécutifs positifs en facteurs antinucléaires, en anticorps antitissus, en anticorps anticardiolipine, ou en facteur rhumatoïde, nous avons montré l'absence de positivité en IFI (IgT) contre 9 % en Elisa IgM et 18 % en Elisa IgG, avec toutefois des ratios modérés compris entre 1 et 1,5.

En IgM, un problème fréquemment rencontré concerne les réactions croisées avec le virus EBV et les *Herpesviridae* en général. Cette réaction est bien documentée et peut être de forte intensité (ratios élevés). Elle est d'autant plus gênante que ces virus entraînent des troubles neurologiques qui rentrent dans le cadre du diagnostic différentiel de la borréliose de Lyme. Pour faire la différence, on pourra s'aider du taux des IgG, qui est normalement positif dans les formes neurologiques de borréliose et négatif dans le cadre des réactions croisées avec les *Herpesviridae*. Si nécessaire, des sérologies virales spécifiques et un western blot Lyme pourront être réalisés.

7.4. Apport de l'avidité

L'avidité des anticorps est utilisée dans plusieurs infections afin de dater leur ancienneté. En effet, il a été démontré que l'avidité des anticorps IgG augmente au fur et à mesure de l'évolution à condition qu'elle soit testée sur un antigène natif afin de pouvoir évaluer l'ensemble du répertoire immunologique potentiel de l'agent infectieux. Le principe technique est simple, il consiste à ajouter une étape d'incubation courte en présence d'une solution d'urée à la fin de l'incubation et de comparer la DO par rapport à un témoin sans urée. Nous avons étudié les trois populations déjà citées (chasseurs, méningo-

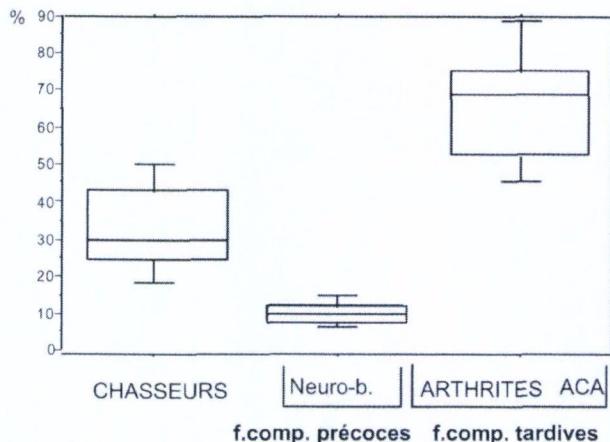


Fig. 6. Pourcentages d'avidité en Elisa des IgG.

diculites et formes tardives) dans l'hypothèse que l'avidité aiderait au diagnostic différentiel [33]. Comme cela est illustré à la Fig. 6, les patients exposés ont un pourcentage d'avidité intermédiaire entre celui des méningoradiculites (inférieur à 20 %) et celui des formes compliquées tardives (supérieur à 60 %). Ainsi, la combinaison des différents marqueurs IgG, IgM et avidité permettrait, notamment de distinguer une borréliose récente évolutive (IgM positifs, avidité basse) d'une exposition (absence d'IgM, avidité modérée). Ce type de méthode reste actuellement dans le cadre de la recherche appliquée, car elle n'est pas disponible dans les tests commerciaux.

8. Place du western blot

Le western blot est considéré comme la méthode de confirmation en cas de sérologie positive. En outre, beaucoup de pays ont standardisé une stratégie sérologique en deux temps avec un Elisa sensible en dépistage et un western blot pour la confirmation [9]. Il est indispensable d'insister sur le fait que le western blot a pour but de confirmer la spécificité des anticorps détectés par les méthodes de dépistage. *En aucune façon un western blot positif n'affirme une borréliose évolutive.*

Dans une étude multicentrique européenne [34] réalisée entre six laboratoires, Hauser et al. proposent un groupe de huit bandes protéiques les plus retrouvées comme significatives par les participants. Pour chaque laboratoire, un sous-groupe de cinq à six protéines parmi ces huit est inclus dans ses critères de positivité. Dans une revue récente, B. Wilske [9] explique que même s'il est possible de définir des critères d'interprétation de positivité pour le western blot, ces règles sont spécifiques de la souche utilisée et ne sont pas transposables d'une souche à l'autre. Afin d'améliorer cette situation, beaucoup d'espoirs sont fondés sur des western blot utilisant des protéines recombinantes [9], qui sont généralement appelées « Line Immunoblots », et qui permettraient d'aboutir à une bonne standardisation. En effet, ces derniers permettent de simplifier considérablement la lecture des résultats. En outre, il est possible d'utiliser plusieurs homologues de la même protéine afin de tenir compte de la variabilité intersouche.

Quo qu'il en soit, pour le moment, les critères de positivité existant ne prennent pas en compte la forme clinique suspectée. Il est clair que le nombre moyen de bandes augmente avec le délai d'évolution de la maladie [2]. Les anticorps à apparaître en premier sont dirigés contre l'OspC et la flagelline (p41). Puis le nombre de bandes recrutées augmente pour atteindre plus d'une dizaine de protéines différentes dans les formes compliquées tardives, leur intensité aussi augmente avec l'évolution.

Comme cela est proposé par la nomenclature, il nous paraît nécessaire de réaliser un western blot en cas de sérologie positive. Mais vu la difficulté d'interprétation, il nous semble justifié de faire appel à un laboratoire ayant une grande expérience. Il nous paraît aussi utile que des recommandations nationales soient proposées en termes d'indication, de choix de réactif et d'interprétation.

8.1. Notion de profils sérologiques

Si l'on limite l'utilisation de la sérologie à ses résultats qualitatifs, on n'exploite que très partiellement son potentiel afin d'arriver au diagnostic définitif. Il est souhaitable que les résultats fournis par les méthodes Elisa soient exprimés de manière semi-quantitative en fournissant plusieurs classes de résultats ; par exemple : négatif, douteux, positif faible, positif fort. Malheureusement ni la plupart des coffrets commerciaux, ni les études publiées n'insistent suffisamment sur cet aspect. Le tableau de recommandations de l'EUCALB [4] a heureusement intégré cet aspect semi-quantitatif.

Nous avons récapitulé aux Figs. 7 et 8, les résultats de ratio en Elisa IgG et IgM pour chaque forme clinique en y ajoutant les résultats du groupe « exposé » (chasseurs). La combinaison des résultats des isotypes et de l'intensité de la réponse anticorps apporte une amélioration diagnostique par l'existence de profils sérologiques. Par exemple, pour les arthrites et ACA taux d'IgM douteux ou faible et taux d'IgG très élevé.

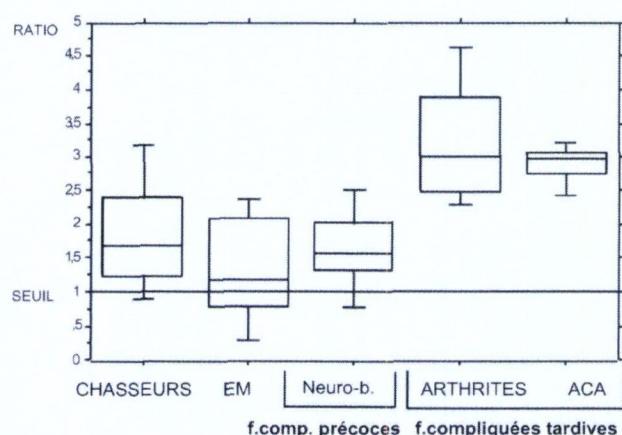


Fig. 7. Distribution des ratios en Elisa des IgG.

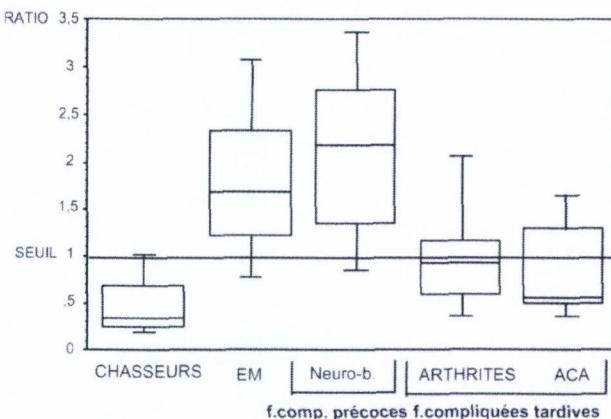


Fig. 8. Distribution des ratios en Elisa des IgM.

9. Conclusion

La borréliose de Lyme fournit donc un excellent exemple de la difficulté d'interprétation du diagnostic biologique indirect. Tous les éléments que nous avons décrits interviennent pour compliquer l'analyse : bruit de fond élevé dans la population générale, variation de la prévalence suivant les populations, existence de réactions croisées, variabilité des résultats suivant la forme clinique de l'affection, grand nombre des spécialités médicales concernées par cette affection, éventail de cas reportés recouvrant un très grand nombre de pathologies (fibromyalgie, dépression, irritabilité, troubles du sommeil, démences etc.) vulgarisation des « connaissances » par médiatisation grand public, fréquence trop faible de l'affection pour que chaque praticien dispose d'une expérience personnelle.

Insistons sur un dernier point, valable pour toutes les sérologies bactériennes : « la présence d'anticorps, même spécifiques, n'est pas synonyme de maladie évolutive ». La seule conduite permettant de poser des diagnostics pertinents consistera à mettre en œuvre une confrontation clinicobiologique visant à utiliser les méthodes biologiques comme des outils de confirmation d'une hypothèse diagnostique.

Remerciements

Nous remercions tout particulièrement le Dr Gérard Paul pour la relecture et les corrections du manuscrit.

Références

- [1] Stanek G, Strle F. Lyme borreliosis. Lancet 2003;362(9396):1639–47.
- [2] Assous MV, Postic D, Paul G, Nérot P, Baranton G. Western Blot analysis of sera from Lyme borreliosis patients according to the genomic species of the *Borrelia* strains used as antigens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1993; 12:261–8.
- [3] Nadelman RB, Wormser GP. Lyme borreliosis. Lancet 1998;352(9127): 557–65.
- [4] Gray J. Risk assessment in Lyme borreliosis. Wiener Klinische Wochenschrift Dec 1999;111(22-23):990–3.
- [5] Dhote R, Assous M, Basse-Guérineau A, Beaumesnil V, Philippon A, Christoforov B. Clinical and epidemiological features of a large cohort of 170 patients with all clinical forms of Lyme borreliosis (LB) in France. VIII Lyme borreliosis International Conference; Munich, 20–24 June, 1999.
- [6] Bigaignon G, Tomasi JP, Goubau P, Martin P. A clinical and seroepidemiological study of 190 Belgian patients suffering from borreliosis. Acta Clin Belg 1989;44:174–81.
- [7] Berglund J, Eitrem R, Ornstein K, Lindberg A, Ringer A, Elmrud H, et al. An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. N Engl J Med 1995;333:1319–27.
- [8] Monteforte P, Aceto P, Buffini L, Rovetta G, Bianchi G. Lyme borreliosis: clinical manifestations in 230 patients. VII International Congress on Lyme borreliosis; San Francisco, June 16–21, 1996 (p. Abstr. D664).
- [9] Wilske B. Diagnosis of lyme borreliosis in Europe. Vector Borne Zoonotic Dis 2003;3(4):215–27.
- [10] Dhote R, Basse-Guérineau AL, Beaumesnil V, Christoforov B, Assous MV. Full spectrum of clinical, serological and epidemiological features of complicated forms of Lyme borreliosis in the Paris, France, area. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000;19(nov):809–15.
- [11] Assous MV. Borrélioïde de Lyme en 1995. Feuil Biol 1995;36:15–25.
- [12] Zore A, Ruzic-Sabljic E, Maraspin V, Cimperman J, Lotric-Furlan S, Pikelj A, et al. Sensitivity of culture and polymerase chain reaction for the etiologic diagnosis of *erythema migrans*. Wien Klin Wochenschr 2002;114 (13-14):6069.
- [13] Assous M, Candalot B, Dourmon E. Maladie de Lyme : intérêt diagnostique du titrage des anticorps dans le liquide céphalorachidien. Presse Med 1987; 16:310–1.
- [14] Siernstedt G, Granstrom M, Hederstedt B, Skoldenberg B. Diagnosis of spirochetal meningitis by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Indirect Immunofluorescence Assay in serum and cerebrospinal fluid. J Clin Microbiol 1985;21:819–25.
- [15] Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, Von Busch K, Kuhbeck R, Pfister HW, et al. Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphocytic meningoencephalitis (Bannwarth's syndrome). J Infect Dis 1986;153:304–14.
- [15] (bis) Kaiser R, Lucking CH. Intrathecal synthesis of specific antibodies in neuroborreliosis. Comparison of different Elisa techniques and calculation methods. J Neurol Sci 1993;118(1):64–72.
- [16] Jaulhac B, Chary-Valckenaere I, Sibilia J, Javier RM, Piemont Y, Kuntz JL, et al. Detection of *Borrelia burgdorferi* by DNA amplification in synovial tissue samples from patients with Lyme arthritis. Arthritis Rheum 1996;39 (5):736–45.
- [17] Moter SE, Hofmann H, Wallich R, Simon MM, Kramer MD. Detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in lesional skin of patients with *erythema migrans* and acrodermatitis chronica atrophicans by ospA-specific PCR. J Clin Microbiol 1994;32(12):2980–8.
- [18] Stanek G, O'Connell S, Cimmino M, Aberer E, Kristoferitsch W, Granstrom M, et al. European Union concerted action on risk assessment in Lyme borreliosis: clinical case definitions for Lyme borreliosis. Wiener Klinische Wochenschrift 1996;108(23):741–7.
- [19] Zoller L, Haude M, Hassler D, Burkard S, Sonntag HG. Spontaneous and post-treatment antibody kinetics in late Lyme borreliosis. Serodiagn Immunother Infect Dis 1989;3:345–53.
- [20] Assous MV, Benhamou CL, Gauvain JB, Conte P, Vinzia C, Soufflet L. Prevalence of Antibodies against *Borrelia burgdorferi* in the area of Orléans (France). IV international Conference On Lyme Borreliosis; Stockholm, Sweden, June 18–21, 1990 (p. W/TH-P-26, p. 62).
- [21] Doby JM, Couatarmanac'h A. Populations humaines à risques dans les spirochèoses à tiques ? Premiers résultats d'une enquête sérologique chez des professionnels de la forêt. Med Mal Infect 1986;12:759–61.
- [22] Huycke MM, Dalessio DD, Marx JJ. Prevalence of Antibody to *Borrelia Burgdorferi* by Indirect Fluorescent Antibody Assay, Elisa, and Western Immunoblot in Healthy Adults in Wisconsin and Arizona. J Infect Dis 1992; 165(6):1133–7.
- [23] Kuiper H, Dejongh BM, Nauta AP, Houweling H, Wiessing LG, Vanchantane AWM, et al. Lyme Borreliosis in Dutch Forestry Workers. J Infect 1991;23(3):279–86.
- [24] Smith HV, Gray JS, McKenzie G. A Lyme Borreliosis Human Serosurvey of Asymptomatic Adults in Ireland. Zbl Bakt 1991;275(3):382–9.

- [25] Rayet P, Christiann F, Patey O, Basse-Guérineau A, Lafaix C, Theron Le Gargasson J, et al. Differences between the seroepidemiological features of an asymptomatic seropositive group of naturally exposed hunters and a control group of Lyme borreliosis (LB) patients. Paris: XIX^e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse; 1999.
- [26] Le Flohic AM, L'Huissier C, Muzelec Y, L'Emeillat M, Prigent Y, Kerdraon G, et al. Syphilis vénérienne et maladie de Lyme. Med Mal Infect 1986;10:566–7.
- [27] Magnarelli LA, Anderson JF, Johnson RC. Cross-reactivity in serological tests for Lyme disease and other spirochetal infections. J Infect Dis 1987; 156:183–8.
- [28] Magnarelli LA, Miller JN, Anderson JF, Riviere GR. Cross-reactivity of non-specific treponemal antibody in serologic tests for Lyme disease. J Clin Microbiol 1990;28:1276–9.
- [29] Raoult D, Hechemy KE, Lecam C, Enea M, Tamalet J. Réactions croisées dans la maladie de Lyme intérêt du western blot. Presse Med 1988;17:485.
- [30] Barka NE, Agopian MS, Peter JB. False positive IgM antibodies to *Borrelia burgdorferi* in indirect Elisa as a result of IgM Rhumatoid factor. J Infect Dis 1990;161:1312.
- [31] Fawcett PT, Gibney KM, Rose CD, Dubbs SB, Doughty RA. Frequency and specificity of antibodies that cross-react with *Borrelia burgdorferi* antigens. J Rheumatol 1992;19(4):582–7.
- [32] Lovece S, Stern R, Kagen LJ. Effects of rheumatoid factor, antinuclear antibodies and plasma regain on the serologic assay for Lyme disease. J Rheumatol 1991;18:1813–8.
- [33] Basse Guérineau AL, Dhote R, Christiann F, Rayet P, Assous MV. Differentiation between early and late complicated Lyme borreliosis by specific IgG avidity. Lancet 1999;354(9184):1096–7.
- [34] Robertson J, Guy E, Andrews N, Wilske B, Anda P, Granstrom M, et al. A European multicenter study of immunoblotting in serodiagnosis of lyme borreliosis. J Clin Microbiol 2000;38:2097–102.

Christian Perronne, janvier 2016

Christian Perronne, Docteur en Médecine et Docteur ès Sciences, est Professeur en Maladies infectieuses et tropicales à la Faculté de Médecine Paris – Ile de France – Ouest, Université de Versailles-St Quentin en Yvelines (UVSQ), Paris-Saclay. Il est Chef du Département de Médecine de l'Hôpital Universitaire Raymond Poincaré à Garches (Hauts-de-Seine) de l'Assistance Publique – Hôpitaux de Paris depuis 1994. Ancien diplômé de l'Institut Pasteur en Bactériologie et Virologie, il a été Directeur-adjoint du Centre National de Référence de la Tuberculose et des Mycobactéries à l'Institut Pasteur de Paris jusqu'en 1998. Il est ancien Président du Collège des Professeurs de Maladies infectieuses et tropicales, co-fondateur et ancien Président de la Fédération Française d'Infectiologie (FFI). Il a été Président du Comité technique des vaccinations de 2001 à 2007, comité en charge des recommandations vaccinales nationales. A l'Agence du Médicament (actuellement Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, ANSM), il a été membre du Groupe des traitements anti-infectieux de 2000 à 2006 et il a été Président du groupe de travail chargé d'élaborer les recommandations nationales basées sur les preuves du bon usage des antibiotiques dans les infections respiratoires. Il a été investigator principal de plusieurs essais de recherche clinique de l'Agence Nationale de Recherches sur le SIDA (ANRS) sur l'infection à VIH et les hépatites virales. Christian Perronne a été Président du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Il est Président de la Commission Maladies transmissibles du Haut Conseil de la Santé publique (HCSP), qui élabore pour le Ministère de la Santé des recommandations pour les politiques vaccinales et de santé publique. Il a été Président du Conseil National des Universités (CNU) de 2009 à 2015, sous-section Maladies infectieuses et tropicales. Il a été membre du Comité scientifique de l'Institut de Recherche en Microbiologie et Maladies infectieuses (IMMI), institut thématique de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) de 2009 à 2013. Il est membre de l'Unité de recherche PheMI (Pharmacoepidemiology and infectious diseases), Institut Pasteur, INSERM, Université de Versailles-Saint Quentin, Université Paris-Sud, Paris-Saclay. Il est Vice-président du groupe européen d'experts sur la vaccination (ETAGE) à l'Organisation Mondiale de la Santé. Il est auteur ou co-auteur de 297 publications scientifiques internationales référencées.

La maladie de Lyme et les maladies associées

Christian Perronne

- **Département des Maladies infectieuses**
*Hôpital Universitaire Raymond Poincaré
Assistance Publique – Hôpitaux de Paris
Université de Versailles – St Quentin en Yvelines
92 Garches*
- **Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP), Paris**

Difficultés pour le clinicien

- Piqûre de tique : 30% des cas
- Erythème migrant (lésion cutanée rouge autour de la piqûre) souvent absent, méconnu ou non diagnostiqué
- La maladie peut tout simuler (la grande simulatrice)

Maladie de Lyme aux phases secondaires et tertiaires

- Le diagnostic repose essentiellement sur la sérologie non fiable
- Conséquences :
 - Malades sous-diagnostiqués
 - Epidémiologie sous-estimée

Sérologie : sensibilité variable selon le test

- Marangoni J Med Microbiol 2005
- De Marteno Med Mal Infect 2007
- Ang Eur J Microbiol Infect Dis 2011

Sensibilité des IgM et/ou IgG varie de 20 à 70% pour *Borrelia burgdorferi* !

Quelques rares publications biaisées vantent des résultats supérieurs

Les recommandations de l'IDSA

- En grande partie, non basées sur les preuves
 - *Lee & Vielmayer. Analysis of overall level of evidence behind Infectious Diseases Society of America practice guidelines. Arch intern Med, 2011, 171, 18-22*
- Avis d'experts

Sensibilité des ELISA : mesurée chez des donneurs de sang en bonne santé (dans chaque région)

European concerted action on Lyme borreliosis (EUCALB)

- **La valeur seuil du test est choisie pour éviter d'avoir plus de 5% de donneurs de sang séropositifs pour le Lyme** (Assous Med Mal Infect 2007)
- **Décision arbitraire d'experts, il y a plus de 30 ans**

Rapport du Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP), 2014 : Calibration des tests sérologiques

- Grande variabilité des tests commerciaux
- Beaucoup de tests utilisés il y a quelques années n'existent plus
- Les nouveaux tests se calibrent sur les plus anciens sans revoir les méthodes d'évaluation de la sensibilité et de la spécificité

**Evaluation des tests sérologiques de la maladie
de Lyme utilisés en France en 2013
Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP, 2014)**

- **Tests ne répondant pas aux
« normes » :**
 - **20 / 33 ELISA**
 - **4 / 13 Western blots**

Cas confirmés de maladie de Lyme à sérologie négative

- Fait établi dans les publications scientifiques depuis 30 ans
- Y compris dans les journaux médicaux majeurs

**La souche de référence B31 américaine
("one size fits all") ne convient pas à tous les
pays ni à toutes les régions du monde**

- Mavin J Clin Microbiol 2007 ; Mavin J Clin Pathol 2009
- Ecosse : amélioration de la sensibilité de la sérologie

en utilisant pour les tests des souches locales écossaises de *Borreliae* au lieu de la souche B31

2011 : les CDC d'Atlanta revoient les définitions de cas

- Le Western blot peut suffire +++
IDSA, EUCALB : exigent toujours l'ELISA positif !
- Possibilité de déclarer des cas certains mais aussi des cas probables (critères cliniques)

Août 2013. CDC d'Atlanta

- Le Lyme est reconnu 10 fois plus fréquent aux USA
- 300 000 cas par an
Contre 30 000 cas par an au cours des 10 années précédentes
- « **Lyme disease = a tremendous public health problem in the United States** »

Espèces de *Borrelia* responsables de maladies de Lyme ou apparentées

- ***Borrelia burgdorferi* sensu lato**
 - *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (Amérique du Nord, Afrique du Nord, Europe, Asie)
(diversité génétique)
 - *B. afzelii*
 - *B. garinii* (plusieurs sérotypes)
 - *B. bavariensis* (ex *B. garinii* OspA serotype 4)
- ***Borrelia lonestari*** (Amérique du Nord)
- ***Borrelia miyamotoi*** (Asie, Europe, Amérique du Nord)
Aussi responsable de fièvres récurrentes
- **Beaucoup d'autres**

**Persistance de *Borrelia burgdorferi* chez les macaques
Rhésus après le traitement antibiotique d'infections
disséminées.**

Embers et al. PLOS One 2012

Autres infections transmises à l'homme par les tiques

- **Parasites**

- *Babesia divergens, B. microti*

- **Bactéries**

- *Ehrlichia chaffeensis (USA)*
 - *Anaplasma phagocytophilum (Europe)*
 - *Rickettsia sp., Coxiella burnetii*
 - *Francisella tularensis, Bartonella*
 - ***Candidatus Neoehrlichia mikurensis*** (récemment découverte en Suisse)

- **Virus**

- Notamment l'encéphalite à tiques

Nécessité de développer la recherche

□ Pour les tests diagnostiques

□ Pour les traitements d'entretien

□ Les formes persistantes de *Borrelia* ne sont pas sensibles aux mêmes anti-infectieux que les formes à multiplication rapide (Feng & Auwaerter 2014)

□ In vitro, des molécules non antibiotiques sont actives (ex. la clofazimine, des antiparasitaires ou anti-fongiques). Quelques études chez l'homme (hydroxychloroquine, fluconazole)

Lyme et politique

- **Lois reconnaissant le Lyme chronique**
 - Confirmation officielle de la mauvaise qualité des tests diagnostiques
 - Autorisation des traitements alternatifs
 - Interdiction de poursuivre les « Lyme literate doctors » (LLD)
- **Lois votées dans plusieurs états**
 - **Canada**
 - Virginie, Vermont, New York
- **Projet de loi fédérale aux USA**
 - Votée à l'unanimité à la Chambre des Représentants
 - Toujours à l'étude au Sénat

Publications de l'auteur

- Clarissou J, Song A, Bernede C, Guillemot D, Dinh A, Ader F, Perronne C, Salomon J. Efficacy of a long-term antibiotic treatment in patients with a chronic tick associated poly-organic syndrome (TAPOS). *Med Mal Infect* 2009;39:108-15.
- Roche-Lanquetot MO, Ader F, Durand MC, Carlier R, Defferière H, Dinh A, Herrmann JL, Guillemot D, Perronne C, Salomon J. Results of a prospective standardized study of 30 patients with chronic neurological and cognitive disorders after tick bites (in French). *Med Mal Infect* 2008;38:443-8. doi: 10.1016/j.medmal.2008.06.007
- Ghez D, Bernard L, Bayou E, Bani-Sadr F, Vallée C, Perronne C. *Bartonella henselae* infection mimicking a splenic lymphoma. *Scand J Infect Dis*, 2001, 33, 935-6.
- Perronne C. Lyme disease antiscience. *Lancet Infect Dis* 2012;12:361-2. doi: 10.1016/S1473-3099(12)70053-1.
- Perronne C. Lyme and associated tick-borne diseases: global challenges in the context of a public health threat. *Front Cell Infect Microbiol* 2014;doi:10.3389/fcimb.2014.00074.
- Perronne C. Critical review of studies trying to evaluate the treatment of chronic Lyme disease. *Presse Med* 2015;doi: 10.1016/j.lpm.2015.06.002
- Borgermans L, Perronne C, Balicer R, Plasek O, Obsomer V. Lyme disease: time for a new approach? 2015. *Br. Med J.* 2015. doi: 10.1136/bmj.h6520