

Waarom is er geen betrouwbare test voor de ziekte van Lyme?

door Niek Haak

met dank aan Tom Grier, Alexander Klusman en Theodoor Scheepers

illustraties: Marianne Geugjes, Marja Visser en Niek Haak

1 – Borrelia en lymeziekte

Lymeziekte is een complexe multisysteemziekte die veroorzaakt wordt door de bacterie *Borrelia burgdorferi* en overgebracht door een tekenbeet. *Borrelia burgdorferi sensu lato* (afgekort Bb sl) is een verzamelnaam voor vijftien verwante *Borrelia*-soorten, waarvan er minstens vijf lymeziekte kunnen veroorzaken. In Europa worden de meeste lymegevallen veroorzaakt door *Borrelia afzelii* en *Borrelia garinii*, in de VS door *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. Omdat teken en andere organismen die de bacterie overbrengen zich makkelijk over de wereld verplaatsen en patiënten in het buitenland gebeten kunnen worden, is het belangrijk rekening te houden met andere dan de voor de betreffende regio bekendste Bb-soorten. Behalve *Borrelia* kunnen door een tekenbeet nog andere infecties (zgn. co-infecties) worden overgebracht, die soms vergelijkbare symptomen veroorzaken. Sinds begin jaren zeventig is het aantal gevallen van lymeziekte in gematigde streken explosief toegenomen. Een sluitende verklaring voor de sterke toename ontbreekt tot nu toe. Op het Noordelijk halfrond is Lyme inmiddels de belangrijkste door vectoren (stekende insecten, spinnen, teken etc.) overgebrachte infectieziekte¹.

Sinds de ontdekking van de oorzaak begin jaren tachtig is lymeziekte een controversieel onderwerp. Er is veel onderzoek gedaan naar de *Borrelia* bacterie, maar de vooruitgang ten aanzien van diagnose en behandeling was – vooral de laatste vijftien jaar – minimaal. Een deel van de problematiek is terug te voeren op de unieke eigenschappen van *Borrelia*.

2 – Eigenschappen van Borrelia

Spirocheetvorm en pleomorfisme

Borrelia burgdorferi is een spirocheet, een spiraalvormige bacterie met eigenschappen die sterk afwijken van die van ‘gewone’ bacteriën. Andere spirocheten zijn onder andere *Treponema pp* (veroorzaker van syfilis), *Borrelia recurrentis* (veroorzaker van relapsing fever) en *Leptospira* (veroorzaker van leptospirosen). Spirocheten hebben een zeer langgerekt, schroefvormig lichaam. Ze verplaatsen zich met een soort kurkentrekker



beweging relatief makkelijk in weefsel en zijn dus niet beperkt tot het bloed of andere lichaamsvloeistoffen. *Borrelia* is een pleomorfe organisme: behalve de spirocheetvorm zijn er sterk afwijkende verschijningsvormen die te maken hebben met de levenscyclus van het organisme en bescherming tegen ongunstige omstandigheden^{2,4}. *Borrelia* kan zich snel inkapselen tot een cystevorm die relatief inactief is en waaruit later (als de omstandigheden gunstiger zijn) weer een spirocheet ontstaat. Rond de diverse verschijningsvormen en de voortplanting van *Borrelia* bestaan nog veel vragen.

Genetica

Het genoom (erfelijk materiaal) van *Borrelia* is relatief klein, maar zeer complex van organisatie. Het bestaat uit één lineair chromosoom van ruim 900.000 baseparen, plus 21 plasmiden met samen nog eens ruim 600.000 baseparen^{5,6}. Plasmiden zijn kleine stukjes erfelijk materiaal die zich buiten het chromosoom bevinden. Bij in vitro kweek (in het lab) kunnen plasmiden en daarmee eigenschappen van de bacterie, veranderen of verloren gaan. Het aantal plasmiden bij Bb is ongebruikelijk hoog; *Treponema pp* heeft bijvoorbeeld helemaal geen plasmiden. Verondersteld wordt dat Bb zich dankzij de plasmiden sneller kan aanpassen aan veranderende omstandigheden. Het genoom van *Borrelia* kan relatief klein zijn omdat de bacterie voor zijn stofwisseling verregaand afhankelijk is van de gastheer. De meeste van de ongeveer 850 genen hebben waarschijnlijk te maken met overleven in de diverse soorten gastheren van de bacterie.

Veel variaties

Ons afweersysteem signaleert een bacterie infectie onder andere via antigenen, kenmerkende bouwstenen aan de buitenkant van de bacterie. Deze antigenen kunnen per *Borrelia*-stam (waarvan er honderden bekend zijn) variëren en veranderen als de bacterie in vitro gekweekt wordt. Onderzoek en diagnostische testen concentreren zich op de paar bekendste *Borrelia*-soorten en dan vooral de Amerikaanse laboratoriumstam B31. In Europa is er meer variatie in Bb-stammen dan in de VS⁷ en het risico bestaat dat de gebruikte diagnostische testen een deel daarvan missen.

Er is een zekere samenhang tussen Bb-soort en ziekteverschijnselen⁷: de ‘Amerikaanse’ Bb ss wordt geassocieerd met artritis, *B. garinii* met neuroborreliose en *B. afzelii* met huidziektes zoals ACA. Er is daardoor ook duidelijk verschil in het ziektebeeld tussen de VS en Europa. Onduidelijk is of de ziekteverwekkende eigenschappen samenhangen met de Bb-soort, of bijvoorbeeld met de aanwezigheid van bepaalde plasmiden⁸. Onbekend is ook waarom mensen soms ernstig ziek worden door *Borrelia*, terwijl een infectie bij de meeste andere gastheren relatief mild verloopt. Het vermoeden bestaat dat infecties met meerdere Bb-stammen of co-infecties een ernstiger verloop hebben⁹⁺¹⁰. Meer informatie hierover zou van groot belang kunnen zijn voor interpretatie van eerder uitgevoerd medisch onderzoek én voor een betere diagnose en behandeling van patiënten.

Stealth technologie en infectie

Borrelia kan alleen binnen een gastheer bestaan en maakt gebruik van allerlei vormen van ‘stealth technologie’ om de gastheer binnen te dringen en daar te overleven¹¹⁺¹². Al in de maag van de teek begint *Borrelia* zich aan te passen aan de nieuwe gastheer en met hulp van stoffen in het speeksel van

de teek is het mogelijk ongemerkt in de bloedbaan van de gastheer te komen. Via het bloed kan de bacterie zich relatief snel door het lichaam verspreiden; verplaatsing gebeurt ook via het lymfestelsel en weefsels (bijv. zenuwbanen bij *Borrelia garinii*). De verplaatsing van *Borrelia*-bacteriën in de huid veroorzaakt de voor Lyme kenmerkende EM (erythema migrans).

Borrelia varieert regelmatig zijn antigenen, zodat als het ware de bacterie steeds een andere vermomming gebruikt en het afweersysteem er geen greep op krijgt. De patiënt maakt dan wel antilichamen tegen Bb, maar ze hebben geen blijvend effect omdat steeds nieuwe Bb varianten verschijnen, zo wordt verondersteld. De variatie van antigenen maakt het moeilijk om blijvende immuniteit tegen de bacterie op te bouwen en is een probleem bij ontwikkeling van vaccins. Het afweersysteem wordt door *Borrelia* niet alleen omzeild maar ook gemanipuleerd¹¹. Zo worden delen van de afweer onderdrukt, terwijl andere delen gebruikt worden om weefsel van de gastheer te beschadigen en binnen te dringen. Al kort na een tekenbeet kan *Borrelia* de bloed-hersenbarrière passeren en doordringen in het centraal zenuwstelsel.

De bacterie heeft een voorkeur voor weefsels waar het bloed minder goed doordringt en/of de afweer minder effectief is, zoals hersenen, oog, huid, bindweefsel en gewrichtskapsels. Mogelijk beschermt de bacterie zich daarbij extra via zogenaamde biofilms. *Borrelia* kan diverse soorten cellen, zoals B- en T-cellen in het bloed, zenuwcellen, endotheelcellen en fibroblasten binnendringen en daar overleven. Binnen een lichaamscel is *Borrelia* vrijwel ongrijpbaar voor het afweersysteem, diagnostische testen en de meeste antibiotica; hetzelfde geldt voor diverse afwijkende Bb verschijningsvormen.



3 – Lymeziekte en het afweersysteem

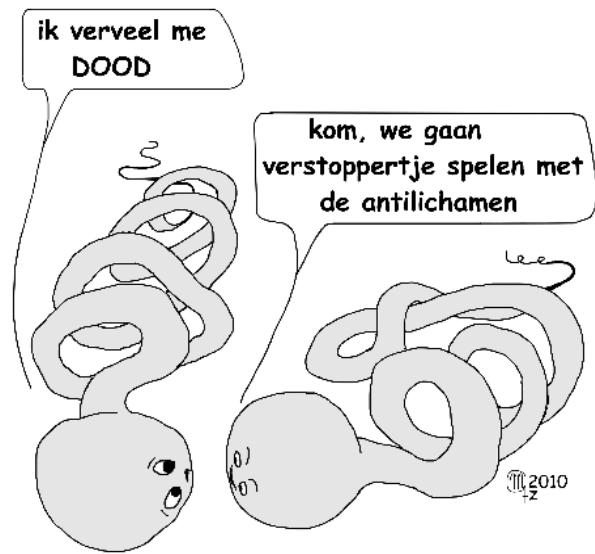
Afweersysteem en serologie

De meest gebruikte lymetesten zijn zogenaamde serologische testen. Ze meten de werking van ons afweersysteem tegen de *Borrelia*-bacterie, via aanwezigheid van afweerstoffen in het bloed. Ongeveer drie tot zes weken na de eerste ontdekking van een schadelijke ziekteverwekker in de bloedstroom groeit een witte bloedcel, de B-cel lymfocyt, uit tot plasmacel en produceert immunoglobuline type M (IgM) antistof. Na nog een viertal weken, als de infectie nog in de bloedbaan zit, maakt een nieuwe set plasmacellen IgG-antistoffen. Het lichaam maakt deze antistoffen om aan antigenen van de bacterie te binden en zo de bacterie herkenbaar voor witte bloedcellen te maken, die vervolgens de infectie kunnen vernietigen.

Er zijn vele redenen waarom een serologische test onbetrouwbaar is. In de eerste weken na besmetting zijn nog geen antistoffen aanwezig in het bloed en zal de uitslag van een bloedtest dus altijd negatief zijn. Ook in een later stadium kan de test ten onrechte negatief uitvallen. Als vanaf het begin van de infectie nooit veel bacteriën aanwezig waren in de bloedstroom, kan de afweerreactie van de gastheer beperkt of nooit op gang gebracht zijn. De afweerreactie kan ook onderdrukt zijn door de stealth technologie van *Borrelia* of door gebruik van medicijnen zoals corticosteroïden of antibiotica. Ook als het lichaam wél antistoffen aanmaakt kan de testuitslag negatief zijn. Als er relatief veel bacteriën zijn (bijvoorbeeld in de eerste weken na infectie) worden alle antistoffen gebonden in immuuncomplexen, die door de standaard testen niet gemeten worden. De gebonden antistoffen zijn met een gewijzigde procedure wél te meten¹³, maar in de praktijk gebeurt dat niet.

Anderzijds bewijst aanwezigheid van antilichamen tegen *Borrelia* niet per definitie dat er sprake is van infectie. Sommige artsen wijzen graag op de mogelijkheid van een ‘serologisch litteken’. In het algemeen worden IgM-antistoffen gezien als aanwijzing voor een recente of nog actieve infectie. Bij andere bacteriële infecties verdwijnen de IgM-antistoffen na enkele weken, aanwezigheid van alleen IgG-antistoffen wordt dan meestal gezien als teken van een inmiddels uitgedoofde infectie. Bij Lyme is de situatie gecompliceerder en kunnen beide soorten antistoffen nog jarenlang aanwezig blijven, soms ook als de patiënt zich weer beter voelt¹⁴⁺¹⁵. Anderzijds zijn er patiënten waarbij nooit antistoffen tegen Bb te meten zijn, maar wel via andere technieken een besmetting kan worden vastgesteld. Dergelijke seronegativiteit is al zeker twintig jaar bekend in de literatuur, maar sommige artsen en

onderzoekers doen alsof het niet bestaat. Het is merkwaardig dat het opsporen van een ziekteverwekker, die gespecialiseerd is in het ontwijken van de afweer, in de praktijk sterk gebaseerd wordt op de afweerreactie van de patiënt.



Auto-immuniteit of persistentie?

Sommige bekende onderzoekers stellen dat door een ‘adequate’ antibioticakuur van enkele weken alle *Borrelia*-bacteriën gedood worden, of dat er onvoldoende overblijven om nog ziekte te kunnen veroorzaken. Ervaring leert echter dat een aanzienlijk deel van de (chronische) lymepatiënten na een standaard antibioticakuur niet volledig herstelt. In het verleden werden resterende symptomen na een AB kuur vaak toegeschreven aan ‘inbeelding’ bij de patiënt. Recenter verklaart men resterende symptomen en aanwezig blijven van anti-Bb afweerstoffen soms met auto-immuniteit¹⁵⁻¹⁹. Antilichamen die ons afweersysteem maakt tegen antigenen van *Borrelia* kunnen soms reageren met onze eigen lichaamscellen en zo schade veroorzaken. Verondersteld wordt dat deze kruisreacties doorgaan nadat de bacterie verdwenen is en zo de ‘auto-immuniteit’ veroorzaken. Voor deze veronderstelling is echter nog nooit degelijk bewijs geleverd. Het is veel logischer dat de lymepatiënten nog steeds ziek zijn omdat de antibiotica onvoldoende effect heeft gehad²⁰⁻²².

We weten uit dierproeven dat zelfs bij langdurig gebruik van hoog gedoseerde antibiotica nog Bb-spirochetten (en cystevormen) in de weefsels aanwezig blijven²³⁺²⁴, waardoor na beëindiging van de AB-kuur de ziekte opnieuw kan toeslaan. Het is aannemelijk dat dit verschijnsel, persistentie, ook bij mensen optreedt²⁺⁴; in de literatuur zijn talloze voorbeelden te vinden. De discussie over dit onderwerp is belangrijk voor (chronische) lymepatiënten, want dit bepaalt of/hoe ze verder behandeld moeten worden.

4 – Diagnostische testen voor Lymeziekte

Diagnose richtlijn

In de CBO-behandelingsrichtlijnen²⁵ wordt voor het stellen van de diagnose uitgegaan van een zeer beperkt aantal kenmerken, de zogenaamde typische symptomen. Verondersteld wordt dat als deze kenmerken er niet zijn de diagnose Lyme zeer onwaarschijnlijk of onmogelijk is. Maar lang niet iedere patiënt met klachten herinnert zich een tekenbeet en de EM, het meest betrouwbare kenmerk van Lyme, verschijnt lang niet altijd en varieert meer van uiterlijk dan vaak gedacht wordt. Ouder onderzoek noemt een EM-frequentie tussen 25 en 60 procent, de EUCALB-richtlijn spreekt van 40-60 procent. Sinds halverwege de jaren negentig is vooral in Amerikaanse publicaties ineens sprake van 90-100 procent. Dat hoge percentage lijkt een gevolg van ‘tunnelvisie’ bij de onderzoekers: patiënten zonder EM worden niet verder onderzocht of krijgen een andere diagnose dan Lyme en komen dus niet in de Lyme-statistieken terecht. Symptomen zijn doorgaans ook geen betrouwbare basis. Er is veel overlap met andere ziektebeelden en symptomen kunnen sterk variëren in de tijd en tussen patiënten. In de praktijk spelen diagnostische testen, ondanks de officiële richtlijn, vaak een doorslaggevende rol bij de diagnose en dus de vraag of en hoe behandeld wordt. Door lage gevoeligheid van de beschikbare testen wordt een deel van de patiënten nu niet (of fout) behandeld. Als er al behandeld wordt, dan kiest de arts meestal voor een standaardprotocol, na afloop waarvan de patiënt verondersteld wordt genezen te zijn.

Fout-positief en fout-negatief

Een diagnostische test moet gevoelig zijn: de kans dat de test een aanwezige *Borrelia*-besmetting niet vindt moet minimaal zijn, in vaktermen een kleine kans op een fout-negatief resultaat. Anderzijds moet de test zo specifiek mogelijk zijn en niet een *Borrelia*-besmetting aangeven die er in werkelijkheid niet is: een kleine kans op een fout-positief resultaat. Een fout-positief resultaat kan onder andere ontstaan door kruisreacties, bijvoorbeeld omdat de patiënt besmet is met een bacterie zoals *Treponema* die verwantschap met *Borrelia* heeft. Gevoeligheid en specificiteit zijn in de praktijk vaak afhankelijk van elkaar: als een test zeer specifiek is zal vaak de gevoeligheid omlaag gaan en andersom. Fabrikanten en laboratoria verstrekken voor hun eigen tests vaak extreem optimistische gegevens die geen enkele relatie met de dagelijkse praktijk hebben.

Een belangrijke vraag bij beoordeling van lymetests is, wanneer men van een fout-positief of fout-



negatief testresultaat spreekt. Dit wordt zelden expliciet vermeld en vaak is het afhankelijk van de vraag wat men precies onder Lyme verstaat. Bij veel onderzoek is duidelijk dat men allerlei patiënten die (wellicht) met *Bb* besmet zijn in het vakje ‘geen Lyme’ stopt, bijvoorbeeld wegens ontbreken van een EM, omdat ze bepaalde lymesymptomen missen of na een korte AB-kuur genezen zijn verklaard. Een positieve uitslag voor deze patiënten bij een lymetest wordt dan ‘fout-positief’ of ‘overdiagnose’ genoemd²⁶, wat zeer dubieus is. Twijfelachtig is ook of je een positieve testuitslag bij iemand die (nog) gezond is, maar later wellicht Lyme krijgt zomaar ‘fout-positief’ mag noemen. We weten dat Lyme jarenlang kan sluimeren voordat de ziekte echt toeslaat. Ook de categorie die volgens de onderzoekers wél Lyme heeft is zelden representatief: vaak gaat het om ‘modelpatiënten’ waarbij eerder (met een vergelijkbare test) Lyme is vastgesteld. Mede door dit soort factoren komt men in vergelijkende onderzoeken naar diagnostische testen tot sterk uiteenlopende conclusies, waardoor nauwelijks te zeggen is hoe betrouwbaar een bepaalde test in de praktijk is.

De bekendste lymetesten

Er zijn vijf belangrijke methoden voor het testen op de ziekte van Lyme. Bij al deze testen wordt geprobeerd aanwezigheid van de ziekteverwekker *Borrelia* aan te tonen in het lichaam van de patiënt. Van de meeste testen bestaan allerlei variaties waar we hier niet nader op in gaan.

1 Antistoffentesten (serologische testen): de bekendste zijn ELISA (EIA) en Western Blot. Deze testen zijn indirect: ze meten niet de aanwezigheid van de bacterie zelf, maar de aan- of afwezigheid van antistoffen die het lichaam tegen *Borrelia*-bacteriën maakt.

2 Kweek van de levende bacterie.

3 Directe waarneming van de bacterie onder de microscoop.

4 Antigeen-detectie: dit is het zoeken naar specifieke stukjes van de bacterie (bijvoorbeeld eiwitten).

5 PCR test: opsporen van kenmerkend bacterieel DNA door polymerase-kettingreactietest.

De serologische testen worden uitgevoerd op basis van bloed, plasma of hersenvocht; bij de andere testen kan ook gebruik gemaakt worden van urine- en weefselmonsters.

Algemene problemen

Bij alle lymetesten zijn er een aantal fundamentele problemen, die vaak te maken hebben met de afwijkende aard van spirocheten en dus ook bij andere spirocheetziekten kunnen optreden.

- De veel gebruikte serologische testen zijn indirect, ze werken alleen wanneer de afweerreactie van de patiënt goed op gang komt en er voldoende (vrije) antilichamen zijn.
- De meeste testen werken met lichaamsvloeistoffen zoals bloed of hersenvocht. Gebruik van weefselmonsters is alleen in uitzonderlijke gevallen een optie. *Borrelia* heeft een voorkeur voor weefsels en kan al snel na de besmetting de bloedbaan verlaten, waardoor de bacterie in bloed of hersenvocht niet meer goed aantoonbaar is.
- De testen zijn gebaseerd op de bekendste Bb (laboratorium-) stammen. Er zijn echter vele varianten, die ook nog snel kunnen wijzigen met als gevolg dat de test niet altijd goed werkt.
- De bacterie heeft diverse afwijkende vormen zoals CWD- en cystevorm, waar het afweersysteem niet of nauwelijks vat op heeft en die met de gangbare testen vaak niet aantoonbaar zijn.

- Timing: een tijdige diagnose is belangrijk, hoe langer gewacht wordt met behandelen van Lymeziekte, hoe groter de kans dat de infectie chronisch wordt. Antilichamen zijn met de gangbare technieken pas vier tot zes weken na de besmetting aantoonbaar, aantonen via kweek kost drie tot acht weken.

- Onvoldoende standaardisatie: van veel testen bestaan allerlei variaties, waarvan soms de details niet bekend zijn (vanwege commerciële belangen, patentkwesies etc.). Laboratoria gebruiken hun eigen procedures en beoordelingsnormen en vergelijking met andere methodes/labs blijft meestal achterwege. Uitkomsten van de testen zijn daardoor onderling nauwelijks vergelijkbaar en de praktijk leert dat verschillende laboratoria met hetzelfde monster regelmatig tot tegengestelde conclusies komen.²⁷

- Artsen zijn vaak onbekend met de details en de lage betrouwbaarheid van de diverse lymetests.

5 – Serologische testen

De serologische testen (bloedtesten) Lyme ELISA en Western Blot zijn het bekendste.

ELISA

De Elisa lymetest is goedkoop, simpel en snel uit te voeren en wordt daarom het meest gebruikt. Deze test meet de totale hoeveelheid IgG- en IgM-antilichamen tegen *Borrelia*. Er zijn vele varianten van de test en de kwaliteit van de gebruikte testkits loopt sterk uiteen. Vergelijkende onderzoeken noemen een gevoeligheid van 35 tot 90 procent en een specificiteit van 75-90 procent (oudere testen) resp. 90-95 procent (nieuwere testen)²⁷⁻³². Vooral in de eerste fase van de ziekte, wanneer de kansen voor behandeling het best zijn, is de gevoeligheid laag. Recentere versies zoals C6 Elisa lijken op basis van vooral Amerikaanse onderzoek beter (gevoeligheid 60-100 procent, specificiteit 99-100 procent)³³⁺³⁴. Bij Europees onderzoek werd echter een veel lagere gevoeligheid gevonden, waarschijnlijk als gevolg van grotere variaties tussen de Europese Bb-stammen³⁵. Gemiddeld wordt met de Elisa-test naar schatting 40 procent van de besmettingen gemist, wat in de praktijk betekent dat bijna de helft van de patiënten ten onrechte 'gezond' wordt verklaard.

De gangbare opvatting bij veel artsen dat een lage Elisa-waarde betekent dat de patiënt niet of nauwelijks ziek is, klopt niet: een lage Elisa-waarde bij een lymepatiënt met veel symptomen is juist een heel ernstige zaak. Uit dierproeven blijkt dat dieren die aanvankelijk geen of weinig afweer tegen *Borrelia* ontwikkelen en dus 'negatief' testen, later



6 – Directe testen

De diagnostiek voor Lyme is momenteel sterk gebaseerd op de indirecte serologische testen. Een directe test is niet afhankelijk van een goede werking van het afweersysteem en kan in een eerder stadium gebruikt worden, wat belangrijk is voor een tijdige diagnose. De directe tests worden echter weinig gebruikt wegens o.a. hogere kosten, complexere procedures voor het lab en onbekendheid bij de artsen.

Kweek

Kweken wordt vaak gezien als de ‘gouden standaard’ voor de bevestiging van een infectie, een positieve kweek is daarom zeer belangrijk³². Sommige spirochetes, zoals *Treponema pallidum*, kunnen alleen gekweekt worden in levende proefdieren. Bij *Borrelia burgdorferi* is in vitro kweken wel mogelijk, maar relatief lastig. Er is een speciaal kweekmedium nodig, er wordt veel ervaring van het lab vereist en door de zeer trage groei van Bb duurt het drie tot acht weken voordat er een uitslag is (bevestigd via bijv. microscopie). Het lijkt er op dat er Bb-stammen bestaan die met de huidige technieken slecht of helemaal niet te kweken zijn en die dus door deze test gemist worden. De gevoeligheid van kweek is vrij goed (50-70 procent) bij gebruik van weefselmonsters, maar laag voor lichaamsvloeistoffen³⁰⁻³²⁺³⁸. Een PCR-test heeft doorgaans een vergelijkbare gevoeligheid en zal vanwege tijdwinst en kosten vaak de voorkeur hebben. Als diagnostisch hulpmiddel bij Lyme heeft kweken vooral nut in aanvulling op de andere testen.

Microscopische observatie

Borrelia is relatief groot (lang) en dun. De doorsnede van 0,2-0,3 micrometer zit op de grens van het oplossend vermogen van een lichtmicroscop; met zogenaamde donkerveld verlichting zijn de spirochetes echter goed zichtbaar te maken. De zichtbaarheid kan verbeterd worden door onder andere zilverkleuring of gebruik van fluorescerende antistoffen. Met de juiste antistof kan bevestigd worden dat het om *Borrelia* gaat en niet een andere spirocheet of artefact. Ook kunnen afwijkende levensvormen van Bb of intracellulaire versies herkend worden, wat met veel andere tests moeilijk of onmogelijk is.

Het officiële standpunt is dat het met een optische microscoop vrijwel onmogelijk is om *Borrelia* waar te nemen en dat microscopisch onderzoek van bijvoorbeeld bloedmonsters dus geen zin heeft voor diagnose van Lyme. Microscopisch onderzoek wordt wél uitgevoerd voor diagnose van de spirocheetinfecties relapsing fever en syfilis. Het is merkwaardig dat dit bij Lyme wordt afgeraden. De belangrijkste reden dat deze techniek bij Lyme niet

gebruikt wordt lijkt te zijn dat het relatief veel tijd (= geld) en ervaring vereist.

Antigen detectie

Het direct aantonen van bacteriële antigenen (bijvoorbeeld oppervlakte eiwitten van *Borrelia*) in bloed of urine klinkt als een aantrekkelijke methode. Een voorbeeld hiervan is de LDA (Lyme Dot Blot Assay). Antigen testen worden weinig gebruikt en in officiële richtlijnen met nadruk afgeraden. Dit lijkt vooral gebaseerd op een ouder (onjuist) Amerikaans onderzoek dat stelde dat deze methode veel foutpositieven oplevert³⁹⁺⁴⁰. Sindsdien is er helaas geen nieuw vergelijkend onderzoek naar antigen-tests meer gedaan.

PCR test

Met de polymerase-kettingreactie (PCR) kan DNA-materiaal dat specifiek is voor de *Borrelia*-bacterie in korte tijd meer dan een miljard keer vermenigvuldigd worden. Daardoor is zelfs een minimale hoeveelheid DNA al aantoonbaar. PCR is een testmethode die in principe zeer specifiek en gevoelig is. PCR werkt ook wanneer de afweer (nog) niet op gang is gekomen, of onderdrukt wordt door medicijnen. PCR kan ook extra informatie leveren, bijvoorbeeld met welke Bb-stam(men) de patiënt besmet is. Door onder andere onvoldoende standaardisatie en onbekendheid bij artsen werd de test tot voor kort weinig gebruikt. PCR werkt net als kweek goed bij weefselmonsters en gewrichtsvloeistof (gevoeligheid 50-90 procent), voor ruggenmergvocht zijn de meningen verdeeld en voor bloed/ plasma is de gevoeligheid meestal laag (10-30 procent), wat PCR ongeschikt maakt voor algemene screening³⁰⁺³²⁺³⁸⁺⁴¹⁻⁴³.

PCR van urinemonsters lijkt een handige methode, maar schattingen ten aanzien van de gevoeligheid lopen sterk uiteen, van minder dan 10 procent tot ruim 90 procent³⁰⁺³²⁺⁴²⁻⁴⁶. Waarschijnlijk heeft deze variatie vooral te maken met gebruikte procedures en ervaring bij het laboratorium dat de test uitvoert. Vanwege de hoge specificiteit is een positieve PCR uitslag van groot belang, al is niet iedereen het daarmee eens⁴⁷. Recent, onafhankelijk vergelijkend onderzoek naar de diverse beschikbare PCR-tests ontbreekt. Met betere standaardisatie en verificatie lijkt dit echter een veelbelovende techniek.

7 – Toekomstige ontwikkelingen

Nieuwe technieken kunnen helpen om bestaande tests te verbeteren en een beter beeld te krijgen van het verloop van de ziekte en effectiviteit van de behandeling. Protein microarrays⁴⁸⁺⁴⁹ en biochips⁵⁰ kunnen gebruikt worden om te zoeken naar een groot aantal bacteriële antigenen tegelijk. Door naar de juiste antigenen te zoeken is wellicht een betere

overeenkomst mogelijk tussen testuitslag en ziektebeeld. Bij PCR kan ook geprofiteerd worden van de snelle ontwikkelingen in biochemie en micro-electronica. Een optie zijn DNA-chips, die tegelijk op een groot aantal verschillende DNA-sequenties kunnen testen (bijvoorbeeld voor alle bekende Bb-soorten). Bij lichtmicroscopie kan door nieuwe technieken de resolutie verbeterd worden en door beeldherkenning kan de verwerking geautomatiseerd worden. Hoewel ontwikkeling van dit soort technologie veel geld kost, zouden de kosten per test (nu vaak een grote hindernis) ver omlaag kunnen, als patentkwesties en commercieel eigenbelang tenminste geen roet in het eten gooien. Een deel van de testproblemen zal ook met nieuwe technologie blijven: als het monster van de patiënt te weinig *Borrelia* (materiaal) bevat houdt alles op.

8 – Conclusie

De meeste testen houden onvoldoende rekening met de grote variatie in *Borrelia*-stammen, de veranderende antigenen, de verschillende verschijningsvormen van de bacterie, de diverse immunologische reacties die patiënten kunnen vertonen en de voorkeur van de spirocheet voor weefsels. Testen en werkwijzen zijn vaak onvoldoende gestandaardiseerd, wat interpretatie van de resultaten bemoeilijkt. De Elisa-test, die verreweg het meest gebruikt wordt, mist in de praktijk (gemiddeld) bijna de helft van de besmettingen. Ook bij andere tests is de gevoeligheid te laag om een besmetting met *Borrelia* te kunnen uitsluiten. De beschikbare tests kunnen wél aanvullende informatie geven. Het zou bij de huidige stand van de techniek beter zijn om de diagnose te baseren op een combinatie van diverse tests (bijv. serologie + PCR)³⁰⁻³², maar om praktische en financiële redenen gebeurt dat in de praktijk zelden.

Wat we nodig hebben is een algemene, betrouwbare screeningstest voor alle bekende *Borrelia*-soorten; vaststellen van de Bb-soort/stam zou kunnen helpen bij betere diagnose en behandeling. Vooralsnog is het grootste probleem het te grote vertrouwen van artsen in de testen. Op korte termijn is vooral vooruitgang te bereiken met betere voorlichting en goede richtlijnen voor artsen en laboratoria.

dit artikel verscheen oorspronkelijk in LJNI 4-2009.

Referenties:

[1] Valkenburgh S, van Oosterom R, Stenvers O, Aalten M, Braks M, Schimmer B, van de Giessen A, van Pelt W, Langelaar M. Zoonoses and Zoonotic Agents in Humans, Food, Animals and Feed in the Netherlands 2003-2006. RIVM 2007.

[2] Mursic VP, Wanner G, Reinhardt S, Wilske B, Busch U, Marget W. Formation and cultivation of *Borrelia burgdorferi* spheroplast-L-form variants. *Infection*. 1996 May-Jun;24(3):218-26.

[3] MacDonald AB. A life cycle for *Borrelia spirochetes*? *Med Hypotheses*. 2006;67(4):810-8.

[4] Miklossy J, Kasas S, Zurn AD, McCall S, Yu S, McGeer PL. Persisting atypical and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* and local inflammation in Lyme neuroborreliosis. *J Neuroinflammation*. 2008 Sep 25;5:40.

[5] Fraser CM, Casjens S, et al. Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature*. 1997 Dec 11;390(6660):580-6.

[6] Casjens S, Palmer N, van Vugt R, Huang WM, Stevenson B, Rosa P, Lathigra R, Sutton G, Peterson J, Dodson RJ, Haft D, Hickey E, Gwinn M, White O, Fraser CM. A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol*. 2000 Feb;35(3):490-516.

[7] Wang G, van Dam AP, Schwartz I, Dankert J. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*. 1999 Oct;12(4):633-53.

[8] Skotarczak B. Adaptation factors of *Borrelia* for host and vector. *Ann Agric Environ Med*. 2009 Jun;16(1):1-8.

[9] Swanson SJ, Neitzel D, Reed KD, Belongia EA. Coinfections acquired from ixodes ticks. *Clin Microbiol Rev*. 2006 Oct;19(4):708-27.

[10] Hovius JW, Li X, Ramamoorthi N, van Dam AP, Barthold SW, van der Poll T, Speelman P, Fikrig E. Coinfection with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Borrelia garinii* alters the course of murine Lyme borreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007 Mar;49(2):224-34.

[11] Rupprecht TA, Koedel U, Fingerle V, Pfister HW. The pathogenesis of Lyme neuroborreliosis: from infection to inflammation. *Mol Med*. 2008 Mar-Apr;14(3-4):205-12.

[12] Tilly K, Rosa PA, Stewart PE. Biology of infection with *Borrelia burgdorferi*. *Infect Dis Clin North Am*. 2008 Jun;22(2):217-34, v.

[13] Brunner M, Sigal LH. Use of serum immune complexes in a new test that accurately confirms early Lyme disease and active infection with *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol*. 2001 Sep;39(9):3213-21.

[14] Hammers-Berggren S, Lebech AM, Karlsson M, Svenungsson B, Hansen K, Stiernstedt G. Serological follow-up after treatment of patients with erythema migrans and neuroborreliosis. *J Clin Microbiol*. 1994 Jun;32(6):1519-25.

[15] Kalish RA, McHugh G, Granquist J, Shea B, Ruthazer R, Steere AC. Persistence of immunoglobulin M or immunoglobulin G antibody responses to *Borrelia burgdorferi* 10-20 years after active Lyme disease. *Clin Infect Dis*. 2001 Sep 15;33(6):780-5.

[16] Steere AC, Gross D, Meyer AL, Huber BT. Autoimmune mechanisms in antibiotic treatment-resistant Lyme arthritis. *J Autoimmun*. 2001 May;16(3):263-8.

[17] Singh SK, Girschick HJ. Lyme borreliosis: from infection to autoimmunity. *Clin Microbiol Infect*. 2004 Jul;10(7):598-614.

[18] Cairns V, Godwin J. Post-Lyme borreliosis syndrome: a meta-analysis of reported symptoms. *Int J Epidemiol*. 2005 Dec;34(6):1340-5.

- [19] Marques A. Chronic Lyme disease: a review. *Infect Dis Clin North Am.* 2008 Jun;22(2):341-60, vii-viii.
- [20] Stricker RB, Lautin A, Burrascano JJ. Lyme disease: point/counterpoint. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2005 Apr;3(2):155-65.
- [21] Phillips SE, Burrascano JJ, Harris NS, Johnson L, Smith PV, Stricker RB. Chronic infection in 'post-Lyme borreliosis syndrome'. *Int J Epidemiol.* 2005 Dec;34(6):1439-40; author reply 1440-3.
- [22] Stricker RB, Johnson L. Searching for autoimmunity in "antibiotic-refractory" Lyme arthritis. *Mol Immunol.* 2008 Jun;45(11):3023-4.
- [23] Straubinger RK. PCR-Based quantification of *Borrelia burgdorferi* organisms in canine tissues over a 500-Day postinfection period. *J Clin Microbiol.* 2000 Jun;38(6):2191-9.
- [24] Hodzic E, Feng S, Holden K, Freet KJ, Barthold SW. Persistence of *Borrelia burgdorferi* following antibiotic treatment in mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 May;52(5):1728-36.
- [25] Speelman P, de Jongh BM, Wolfs TF, Wittenberg J; Kwaliteitsinstituut voor de Gezondheidszorg (CBO). [Guideline 'Lyme borreliosis']. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2004 Apr 3;148(14):659-63.
- [26] Steere AC, Taylor E, McHugh GL, Logigian EL. The overdiagnosis of Lyme disease. *JAMA.* 1993 Apr 14;269(14):1812-6.
- [27] Hunfeld KP, Stanek G, Straube E, Hagedorn HJ, Schörner C, Mühlshlegel F, Brade V. Quality of Lyme disease serology. Lessons from the German Proficiency Testing Program 1999-2001. A preliminary report. *Wien Klin Wochenschr.* 2002 Jul 31;114(13-14):591-600.
- [28] Goossens HA, van den Bogaard AE, Nohlmans MK. Evaluation of fifteen commercially available serological tests for diagnosis of Lyme borreliosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999 Aug;18(8):551-60.
- [29] Marangoni A, Sparacino M, Mondardini V, Cavrini F, Storni E, Donati M, Cevenini R, Sambri V. Comparative evaluation of two enzyme linked immunosorbent assay methods and three Western Blot methods for the diagnosis of culture-confirmed early Lyme borreliosis in Italy. *New Microbiol.* 2005 Jan;28(1):37-43.
- [30] Coulter P, Lema C, Flayhart D, Linhardt AS, Aucott JN, Auwaerter PG, Dumler JS. Two-year evaluation of *Borrelia burgdorferi* culture and supplemental tests for definitive diagnosis of Lyme disease. *J Clin Microbiol.* 2005 Oct;43(10):5080-4. Erratum in: *J Clin Microbiol.* 2007 Jan;45(1):277.
- [31] Chmielewska-Badora J, Cisak E, Wójcik-Fatla A, Zwoliński J, Buczek A, Dutkiewicz J. Correlation of tests for detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in patients with diagnosed borreliosis. *Ann Agric Environ Med.* 2006;13(2):307-11.
- [32] Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007 Feb;49(1):13-21.
- [33] Liang FT, Steere AC, Marques AR, Johnson BJ, Miller JN, Philipp MT. Sensitive and specific serodiagnosis of Lyme disease by enzyme-linked immunosorbent assay with a peptide based on an immunodominant conserved region of *Borrelia burgdorferi* vlsE. *J Clin Microbiol.* 1999 Dec;37(12):3990-6.
- [34] Wormser GP, Liveris D, Hanincová K, Brisson D, Ludin S, Stracuzzi VJ, Embers ME, Philipp MT, Levin A, Agüero-Rosenfeld M, Schwartz I. Effect of *Borrelia burgdorferi* genotype on the sensitivity of C6 and 2-tier testing in North American patients with culture-confirmed Lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2008 Oct 1;47(7):910-4.
- [35] Tjernberg I, Sillanpää H, Seppälä I, Eliasson I, Forsberg P, Lahdenne P. Antibody responses to borrelia IR(6) peptide variants and the C6 peptide in Swedish patients with erythema migrans. *Int J Med Microbiol.* 2009 Aug;299(6):439-46.
- [36] Goettner G, Schulte-Spechtel U, Hillermann R, Liegl G, Wilske B, Fingerle V. Improvement of Lyme borreliosis serodiagnosis by a newly developed recombinant immunoglobulin G (IgG) and IgM line immunoblot assay and addition of VlsE and DbpA homologues. *J Clin Microbiol.* 2005 Aug;43(8):3602-9.
- [37] Donta ST. Late and chronic Lyme disease. *Med Clin North Am.* 2002 Mar;86(2):341-9, vii.
- [38] Cerar T, Ogrinc K, Cimperman J, Lotric-Furlan S, Strle F, Ruzić-Sabljić E. Validation of cultivation and PCR methods for diagnosis of Lyme neuroborreliosis. *J Clin Microbiol.* 2008 Oct;46(10):3375-9.
- [39] Klempner MS, Schmid CH, Hu L, Steere AC, Johnson G, McCloud B, Noring R, Weinstein A. Intralaboratory reliability of serologic and urine testing for Lyme disease. *Am J Med.* 2001 Feb 15;110(3):217-9.
- [40] Stephens BG, Harris NS. Intralaboratory reliability of serologic and urine testing for Lyme disease. *Am J Med.* 2001 Oct 15;111(6):502-3.
- [41] Dumler JS. Molecular diagnosis of Lyme disease: review and meta-analysis. *Mol Diagn.* 2001 Mar;6(1):1-11.
- [42] Lebech AM. Polymerase chain reaction in diagnosis of *Borrelia burgdorferi* infections and studies on taxonomic classification. *APMIS Suppl.* 2002;(105):1-40.
- [43] Wang G. Direct detection methods for Lyme *Borrelia*, including the use of quantitative assays. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2002 Winter;2(4):223-31.
- [44] Bergmann AR, Schmidt BL, Derler AM, Aberer E. Importance of sample preparation for molecular diagnosis of Lyme borreliosis from urine. *J Clin Microbiol.* 2002 Dec;40(12):4581-4.
- [45] Rauter C, Mueller M, Diterich I, Zeller S, Hassler D, Meergans T, Hartung T. Critical evaluation of urine-based PCR assay for diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2005 Aug;12(8):910-7.
- [46] Aberer E, Bergmann AR, Derler AM, Schmidt B. Course of *Borrelia burgdorferi* DNA shedding in urine after treatment. *Acta Derm Venereol.* 2007;87(1):39-42.
- [47] Agüero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I, Wormser GP. Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev.* 2005 Jul;18(3):484-509.
- [48] Xu Y, Bruno JF, Luft BJ. Profiling the humoral immune response to *Borrelia burgdorferi* infection with protein microarrays. *Microb Pathog.* 2008 Nov-Dec;45(5-6):403-7.
- [49] Barbour AG, Jasinskas A, Kayala MA, Davies DH, Steere AC, Baldi P, Felgner PL. A genome-wide proteome array reveals a limited set of immunogens in natural infections of humans and white-footed mice with *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun.* 2008 Aug;76(8):3374-89.
- [50] Zammattéo N, Hamels S, De Longueville F, Alexandre I, Gala JL, Brasseur F, Remacle J. New chips for molecular biology and diagnostics. *Biotechnol Annu Rev.* 2002;8:85-101.