



Maladie de Lyme, tests et traitement : le point sur la controverse *A propos de l'inefficacité des tests biologiques et de la preuve de l'existence d'une forme chronique*

Alexis Lacout^{*,1} and Christian Perronne²

Résumé

La maladie de Lyme est causée par une infection par la bactérie *Borrelia burgdorferi*. D'autres espèces de *Borrelia* ont été découvertes et provoquent des maladies similaires. La première espèce décrite, *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, a été isolée aux États-Unis. La maladie de Lyme est une grande simulatrice pouvant ressembler à de nombreuses maladies, notamment des maladies auto-immunes.

Les tests diagnostiques ELISA et Western blot censés présenter, d'après certains experts, une sensibilité de presque 100 %, sont en fait souvent négatifs chez de nombreux patients ayant une authentique maladie de Lyme. Ces tests sont mal calibrés, de médiocre qualité avec un seuil de positivité des anticorps défini de manière arbitraire pour ne jamais trouver plus de 5% de patients avec un test positif dans chaque région.

Il existe une controverse sur l'existence de la forme chronique. Cependant, une chronicité est observée chez de nombreux patients, et les mécanismes de persistance de *Borrelia* sont très bien documentés dans les publications scientifiques. Récemment, en 2018, la Haute Autorité de Santé a défini le SPPT (Syndrome persistant polymorphe après possible piqûre de tique), qui permet d'effectuer un traitement antibiotique empirique d'épreuve devant une maladie persistante mal expliquée par les investigations habituelles, même en cas de sérologie Lyme négative.

La maladie de Lyme, par ailleurs, s'associe fréquemment à de nombreuses autres infections inapparentes, appelées crypto-infections, qu'elles soient parasitaires, bactériennes, virales, ou même fongiques. Le traitement doit être efficace sur *Borrelia* et les autres co-infections. Un traitement antibiotique long de plusieurs semaines ou mois, souvent associé à des médicaments anti-parasitaires, peut être nécessaire. Les rechutes sont fréquentes à l'arrêt du traitement, expliquées par les mécanismes de persistance de *Borrelia*, et nécessitent rapidement l'instauration à nouveau des traitements préalablement efficaces.

Nier les réalités scientifiques publiées décrites dans cet article a pour conséquence des centaines de milliers de malades en errance souffrant de symptômes invalidants, non soignés, alors qu'un traitement anti-infectieux approprié et de coût modique permet une rémission dans de très nombreux cas. Cette revue fait aussi le point sur les données politico-militaires à l'origine du déni « officiel » de la forme chronique de cette maladie potentiellement très invalidante.

Affiliation:

¹Centre de diagnostic, ELSAN, Centre médico – chirurgical, 83 avenue Charles de Gaulle, Aurillac, France

²Infectious and tropical diseases, Paris, France

*Corresponding author:

Alexis Lacout, Centre de diagnostic, ELSAN, Centre médico – chirurgical, 83 avenue Charles de Gaulle, Aurillac, France

Citation: Alexis Lacout, Christian Perronne. Maladie de Lyme, tests et traitement : le point sur la controverse *A propos de l'inefficacité des tests biologiques et de la preuve de l'existence d'une forme chronique*. Archives of Microbiology and Immunology. 8 (2024): 562-581.

Received: December 04, 2024

Accepted: December 09, 2024

Published: December 30, 2024

Mots clefs: *Borrelia burgdorferi*, syndrome post-borréliose de Lyme (PTLDS), Centers for Disease Control, syndrome persistant polymorphe après une possible piqûre de tique (SPPT), Maladie de Lyme, *Mycoplasma* spp, *Rickettsia* spp, *Bartonella* spp, *Candida* spp, *Babesia* spp, *Theileria* spp, ELISA, Western Blot

Historique

La maladie de Lyme est causée par une infection par la bactérie *Borrelia burgdorferi*. D'autres espèces de *Borrelia* ont été découvertes et provoquent des maladies similaires. La première espèce décrite, *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, a été isolée aux États-Unis. Le complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato comprend *Borrelia burgdorferi* sensu stricto et d'autres espèces. Dix espèces de ce complexe ont été identifiées en Eurasie : *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia bavariensis*, *Borrelia spielmanii*, *Borrelia lusitaniae*, *Borrelia japonica*, *Borrelia sinica*, *Borrelia valaisiana*, *Borrelia tanukii*, *Borrelia turdi* et *Borrelia yangtze*. Quatre espèces de ce complexe ont été identifiées en Amérique du Nord : *Borrelia americana*, *Borrelia andersonii*, *Borrelia californiensis*, *Borrelia kurtenbachii* et *Borrelia mayonii*. Trois espèces de ce complexe, *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia bissettii* et *Borrelia carolinensis*, sont présentes en Eurasie et dans les Amériques (1) Outre ce complexe d'espèces de *Borrelia* responsables des maladies de Lyme ou de type Lyme, de nombreuses espèces de *Borrelia* sont responsables des fièvres récurrentes, certaines d'entre elles ayant été décrites des décennies avant la découverte de *Borrelia burgdorferi*. Le groupe des *Borrelia* des fièvres récurrentes comprend : *Borrelia crocidurae*, *Borrelia duttonii*, *Borrelia recurrentis*, *Borrelia hispanica*, *Borrelia coriaca*, *Borrelia lonestari*, *Borrelia miyamotoi*, *Borrelia parkeri*, *Borrelia turicatae*, *Borrelia hermsii*, *Borrelia anserina* et *Borrelia persica* (2). En 2020, une nouvelle espèce, *Candidatus Borrelia mahuryensis*, a été isolée en Guyane française. *Borrelia miyamotoi* est connue pour être responsable du syndrome de Lyme ou de la fièvre récurrente. Il a été démontré qu'une espèce de *Borrelia*, génétiquement apparentée à *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, a été isolée par PCR chez l'homme des glaces « Ötzi », une momie vieille de plus de 5 000 ans découverte dans les Alpes en 1991.

Différents signes et symptômes, cutanés, neurologiques, rhumatologiques ou psychiatriques, liés à une piqûre de tique, ont été observés et décrits pour la première fois à la fin du 19^{ème} siècle. Pendant des décennies, le lien entre ces différentes présentations cliniques, observées par divers spécialistes, n'a pas été fait. Une maladie unique n'a donc pas été suspectée et cette infection n'a pas eu de nom. L'acrodermatite chronique atrophiante a été décrite pour la première fois en 1883 par Alfred Buchwald. Ce syndrome a ensuite été appelé syndrome de Pick-Herxheimer. Arvid

Afzelius a découvert l'érythème migrant en 1909. En 1922, Garin et Bujadoux ont rapporté le premier cas de méningo-radculite dans le Journal de Médecine de Lyon. La responsabilité d'un agent infectieux transmis par les tiques est suspectée (3). Cette forme clinique neurologique a été confirmée par Bannwarth en 1941 (syndrome de Garin-Bujadoux-Bannwarth).

C'est aux États-Unis, à Lyme, ville du Connecticut, en 1975, qu'une épidémie d'arthrite juvénile est survenue. En 1982, Willy Burgdorfer, entomologiste et bactériologiste américain né à Bâle en Suisse en 1925, découvre la cause de la maladie : un spirochète nommé « *Borrelia burgdorferi* » en son honneur (4).

Maladie

La maladie de Lyme est principalement transmise par les piqûres de tique avec un risque de contamination majoré si la tique est restée accrochée longtemps et est gorgée de sang. D'autres modes de transmission seraient possibles, en particulier en périnatal, ou par voie sexuelle (5, 6).

On décrit classiquement trois phases de la maladie :

La phase primaire représentée par l'érythème migrant est une tache rouge qui s'étend progressivement avec un aspect typique, concentrique en cocarde ou en anneau. Cependant, l'érythème migrant est inconstant et peut être absent ou non vu (s'il siège par exemple sur le cuir chevelu), dans à peu près la moitié des cas (7). Il faut, à ce stade vérifier si le patient présente d'autres symptômes (fatigue, douleurs articulaires par exemple) ce qui fera évoquer une forme d'emblée disséminée.

La phase secondaire se manifeste par une atteinte aiguë consécutive à une dissémination de *Borrelia* par voie sanguine survenant plus tardivement : citons les atteintes cardiaques, l'érythème migrant multiple, le lymphocytome borrélien (lésion saillante de la peau de 1 à 2 cm de diamètre rouge-violacée siégeant habituellement sur le lobe de l'oreille, le mamelon, le scrotum), l'arthrite, ou la méningo-radculite par exemple.

La phase tertiaire correspond à une évolution chronique de la maladie. Citons l'acrodermatite chronique atrophiante, également appelée maladie de Pick-Herxheimer (peau atrophique parcheminée), les arthrites chroniques, des troubles neurologiques et différentes autres manifestations.

L'existence d'une forme chronique, bien qu'étayée abondamment dans la littérature comme nous le verrons, se manifeste par des symptômes extrêmement variés pouvant toucher tous les organes ; elle est dénommée « Post-treatment Lyme Disease Syndrome » (PTLDS), syndrome post-traitement de la maladie de Lyme, par les scientifiques reconnaissant la présence de manifestations somatiques

au long cours, mais refusant d'admettre l'existence d'une réelle chronicité de la maladie. Rebman et al. décrivent bien l'ensemble des manifestations que l'on peut observer (8).

La maladie de Lyme est en fait une « grande simulatrice » comme la syphilis l'était (remarquez que les deux maladies sont dues à un spirochète) et peut donc être confondue avec beaucoup de maladies. Beaucoup d'affections pourraient être secondaires à une maladie de Lyme ou à une autre infection. Il faut se rappeler que le lupus peut donner une fausse sérologie syphilitique. La maladie de Lyme peut provoquer une auto-immunité et pourrait être le déclencheur de maladies dites de système comme le lupus érythémateux disséminé, la dermatomyosite, la sclérodémie locale et la sclérose systémique (9, 10). Des anticorps dirigés contre la myéline ont en effet été détectés chez certains patients atteints de la borréliose de Lyme (11, 12).

La Haute Autorité de Santé française (HAS) a adopté une nouvelle entité en 2018, le SPPT ou syndrome persistant polymorphe après possible piqûre de tique qui est définie par :

- une piqûre de tique possible ;
- la triade clinique associant plusieurs fois par semaine, depuis plus de 6 mois : un syndrome polyalgique (douleurs musculo-squelettiques et/ou d'allure neuropathique et/ou céphalées), à une fatigue persistante avec réduction des capacités physiques, et à des troubles cognitifs (troubles de la concentration et/ou de l'attention, troubles mnésiques, lenteur d'idéation) ;
- avec ou sans antécédent d'érythème migrant. Cette triade peut être associée à des signes fonctionnels polyorganiques.

Cette entité est très similaire à la fibromyalgie, aux syndromes de fatigue chronique et au PTLDS. La différence entre le SPPT et le PTLDS est que le diagnostic de la maladie de Lyme n'a pas à être prouvé et que les patients peuvent ne pas avoir reçu de traitement.

La maladie de Lyme fait l'objet de nombreuses controverses, concernant essentiellement la fiabilité des tests diagnostiques et l'existence d'une forme chronique, ce que nous allons développer (13). Enfin, il faut rappeler que, si la maladie de Lyme proprement dite est une infection due à *Borrelia* spp., le PTLDS est souvent associé à des poly-infections par plusieurs types de micro-organismes, bactéries, parasites, virus et même champignons. Ces co-infections peuvent être transmises par les tiques ou avoir d'autres modes de transmission. Leur rôle éventuel dans le déclenchement ou le maintien d'une maladie chronique n'est pas encore bien établi. Le rôle possible des « infections inapparentes » dans la genèse des maladies chroniques inflammatoires ou dégénératives a été décrit en 1933 par Charles Nicolle, qui était directeur de l'Institut Pasteur de Tunis et qui a reçu le

prix Nobel en 1928 (14). Le concept d'infections inapparentes traduit en anglais par « infections occultes » a été repris par Willy Burgdorfer lui-même en 1954 (15). Le terme de « crypto-infections » est aujourd'hui proposé (Quatrième Conférence Européenne sur les Crypto-infections, Fourth European Conference on Crypto-infections, Compiègne, France, 4-5 octobre 2024).

Epidémiologie

En France, d'après les données de Santé publique France, la fréquence de la maladie est presque multipliée par 10 en 10 ans (plus de 55 000 nouveaux cas en 2016 selon le réseau sentinelle, sous-estimant l'incidence, car les statistiques sont fondées sur la sérologie et ne prennent pas en compte pas la plupart des formes chroniques). Ceci a aussi été observé aux États-Unis. En Angleterre, la fréquence des paralysies faciales liées à la maladie de Lyme a augmenté, elle, de 42 % en quatre ans, tandis que dans le sud de la Pologne, la fréquence de la maladie a été multipliée par 35 entre 1998 et 2014 (16, 17). Le taux d'incidence annuel de la borréliose de Lyme en France était estimé à 91 cas pour 100 000 habitants (60 033 cas estimés) en 2020, contre 76 cas pour 100 000 habitants (50 133 cas estimés) en 2019. Depuis 2009, il fluctue entre un minimum de 41 en 2011 et un maximum de 104 en 2018 (18).

Les tests diagnostiques

Aujourd'hui, il est habituel et recommandé de documenter une infection chaque fois que cela est possible. *Borrelia* est difficile à observer et à cultiver. C'est pourquoi le diagnostic est généralement posé (sauf au stade de l'érythème migrant, où le diagnostic est clinique) sur la base d'une sérologie utilisant le système des « tests à deux niveaux » : une méthode ELISA suivie, en cas de positivité, d'un Western blot pour confirmation. Les anticorps sont recherchés dans le sang et parfois dans le liquide céphalo-rachidien. Cependant, en 2011, les Centres américains de contrôle et de prévention des maladies (CDC) ont reconnu l'existence de cas séronégatifs de maladie de Lyme et ont modifié leurs critères de déclaration. Ainsi, un médecin peut déclarer comme « maladie de Lyme probable » un cas pour lequel d'autres diagnostics différentiels ont été recherchés et exclus et si l'état du patient s'est amélioré après un traitement antibiotique empirique recommandé pour la maladie de Lyme. En France, Eldin et al., tout en concluant que la sérologie est une méthode très sensible (à un stade plus avancé que l'érythème migrant), mettent en garde contre l'interprétation isolée du test. Les auteurs recommandent de corréliser la sérologie avec le contexte clinique : il est nécessaire d'évaluer la probabilité pré-test de la maladie, car cette probabilité a un impact direct sur les valeurs prédictives positives et négatives (19).

La sérologie est une méthode entachée d'opacité pouvant

être négative en la présence d'une authentique maladie de Lyme (20-22) pour différentes raisons que nous allons développer. La sérologie une méthode indirecte basée sur la détection d'anticorps. Les anticorps peuvent être absents ou non détectés pour différentes raisons : (a) le taux d'anticorps peut être fonction du statut immunitaire du patient, or celui-ci est variable et *Borrelia* peut induire une immunodépression relative (23-25), (b) en raison d'une antibiothérapie récente (c) car les anticorps peuvent être séquestrés dans des immuns complexes et donc non détectés (26, 27), (d) la bactérie peut être quiescente, en faible nombre, localisée dans des sanctuaires (tissus fibreux, localisation intracellulaire) et donc ne pas ou ne plus stimuler le système immunitaire (30-31), (e) toutes les souches de *Borrelia* ne sont pas prises en compte dans ces tests mentionnant néanmoins, sans argument scientifique, rechercher les anticorps contre l'ensemble du complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

Surtout, le test a été calibré a priori pour ne jamais trouver plus de 5 % de patients avec un test positif, ce qui est écrit en toute lettres dans l'article de Assous et al. (32) « *The European Concerted Action on Lyme Borreliosis (EUCALB) recommends testing at least 100 negative controls from the normal population in the same geographical area, and checking that no more than 5% of these controls are positive at the chosen threshold.* » Nous ne savons pas d'où proviennent ces 5% (dans ces conditions, une épidémie ne peut en aucune manière être détectée) et quel est le test de référence. Le seuil de détection des anticorps est donc arbitraire.

Le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) a fait état d'une faible sensibilité du dosage immuno-enzymatique/immunoblot de 0,77 (IC à 95 % : 0,67-0,85) pour le diagnostic de la neuroborréliose, et a averti que les résultats de la sérologie devaient être interprétés avec prudence (33). Une analyse exhaustive de toutes les données publiées sur le sujet, réalisée par deux chercheurs britanniques, Cook et Puri, publiée fin 2016 a démontré que la capacité de détection de la sérologie est inférieure à 60 % (34). Un autre article publié dans le *Journal of Clinical Microbiology* explique, comme l'avait déjà souligné un rapport du ECDC publié en avril 2016, qu'il n'est pas possible de calibrer correctement les sérologies pour la maladie de Lyme. En effet, pour calibrer convenablement les tests, il faut être capable de déterminer une population malade et une population non malade. Or, tout le problème avec cette maladie est de définir et détecter la population malade (35).

A ce titre, intéressons-nous de savoir comment ces tests ont été constitués. Quand on prend les kits ELISA validés, on s'aperçoit que tous les kits ont été validés par les fabricants par comparaison avec des kits validés antérieurement. De plus, le tableau clinique choisi par tous les fabricants est celui de l'érythème migrant et de l'acrodermatite chronique atrophique ; ces expressions de la maladie de Lyme ne sont qu'une des nombreuses manifestations de cette maladie. En remontant la filière des kits ELISA validés à partir d'un kit antérieur lui-même validé par un kit précédent, on arrive en 1989 à la notice du kit *MarDx Borrelia burgdorferi EIA IgG + IgM* dont les performances diagnostiques sont

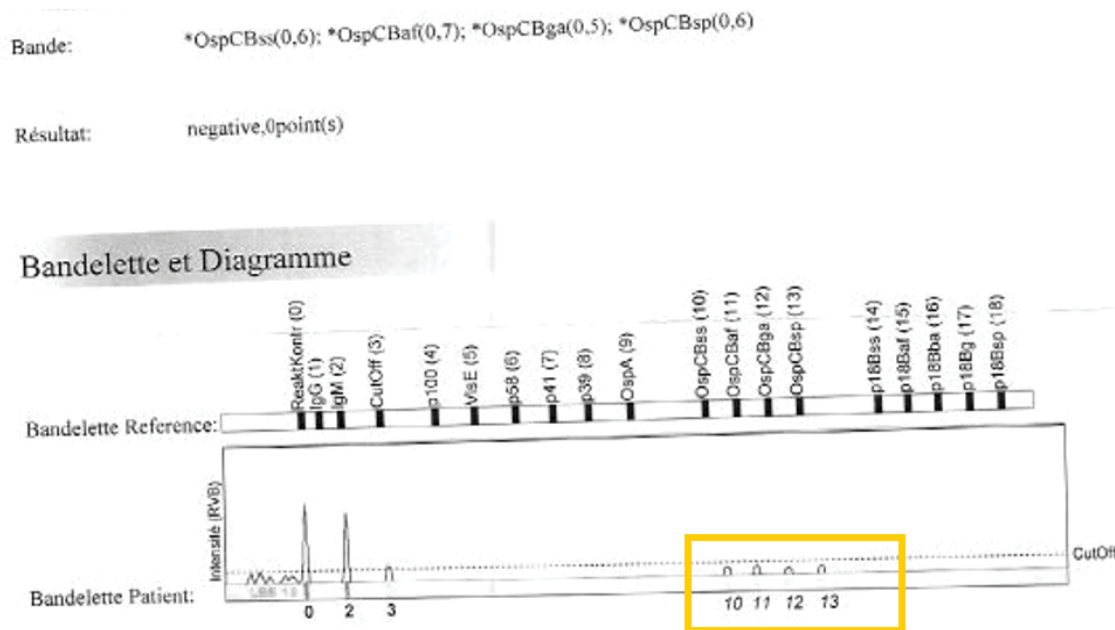


Figure 1: Présence de multiples anticorps (encadré jaune) sous le seuil arbitraire (pointillés) chez un patient atteint de maladie de Lyme.

une comparaison avec celles d'un kit « in house », donc fabriqué maison, par un laboratoire « référent » ; ni le nom du kit, ni celui du laboratoire « référent » ne sont cités dans la notice. L'élaboration de ces tests souffre de l'opacité la plus complète. De plus, comme déjà évoqué, le kit *MarDx Borrelia burgdorferi ELA IgG + IgM est* indiscutablement un test sérologique constitué à partir des antigènes de *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, découvert par Willy Burgdorfer au début des années 80 aux États Unis, et du fait de sa constitution, ne reconnaîtrait que les antigènes de *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. Cependant, des experts du monde entier continuent d'affirmer, à l'encontre des données publiées, que la sérologie de Lyme est très sensible et qu'elle peut détecter toutes les différentes espèces, principalement du complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Aucune preuve ne vient étayer cette affirmation. De plus, nous avons vu plus haut que de nombreuses espèces de *Borrelia*, pathogènes pour l'homme, n'appartiennent pas au complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Il est surprenant qu'aucun test de diagnostic n'ait été mis au point pour ces espèces. Nous avons pu confirmer que la sérologie de Lyme n'est pas en mesure de diagnostiquer l'infection par *Borrelia miyamotoi* (36-38).

En France comme dans de nombreux autres pays, il est interdit de pratiquer un test sérologique Western blot comme test diagnostique en première intention. Ce test n'est pratiqué que si le premier test ELISA est positif ou douteux. Il est dommage de ne pas pouvoir effectuer systématiquement le test Western blot car il est plus sensible (39). De plus, il permet de voir tous les anticorps, incluant ceux qui sont sous le seuil arbitraire de détection. Un autre point controversé est le fait que de nombreux experts affirment que la présence d'anticorps IgM n'est qu'un marqueur de l'infection primaire. C'est généralement le cas dans les maladies infectieuses. Cependant, il a été démontré que les *Borrelia* peuvent interférer avec les plasmocytes, bloquant le passage de la production d'IgM à la production d'IgG. Ainsi, chez de nombreux patients souffrant de la maladie de Lyme chronique, les IgM peuvent être présentes à long terme et constituent un bon marqueur de chronicité (40-43).

En France, le rapport du Haut Conseil de la santé publique (HCSP) de 2014 avait déjà souligné (Tableau 1) la mauvaise qualité des tests français ELISA et Western blot : composition variable et imprécise des réactifs, réactions croisées, mode d'établissement du seuil de positivité, études de performances incomplètes ou inexistantes, absence de comparaison entre les réactifs (44). Il avait été dès lors préconisé, pour les malades suspectés de maladie de Lyme, et ayant une sérologie négative, un traitement antibiotique d'épreuve, véritable test diagnostique basé sur la réponse du patient au traitement. En 2011, le CDC d'Atlanta avait d'ailleurs déjà demandé aux médecins américains de déclarer comme maladie de Lyme probable les cas de malades à sérologie négative qui

se seraient améliorés sous traitement antibiotique d'épreuve. Toutes ces limites ont été également prises en compte en juin 2018 en France par la Haute Autorité de santé (HAS) : une antibiothérapie d'épreuve a été recommandée en 2018 pour les patients présentant une sérologie négative (45).

Le rapport du groupe de travail officiel du ministère de la Santé américain (US Department of Health and Human Services) adressé au Congrès des États-Unis le 14 novembre 2018 confirme pleinement que les tests diagnostiques actuels ne sont pas fiables, que les co-infections associées à la maladie de Lyme dues à d'autres pathogènes transmis lors des piqûres de tiques ne sont pas recherchées (46). Le Professeur Benoît Jaulhac, directeur du Centre National de Référence (CNR) des borrelioses de Strasbourg en France, qui défend la fiabilité des tests depuis longtemps, a fini par reconnaître dans un article publié qu'aucun test diagnostique biologique n'est parfait (19). En 2007, Benoît Jaulhac a été co-auteur des recommandations européennes pour la neuroborreliose (47). Il est stipulé dans leurs lignes directrices que des critères diagnostiques pragmatiques, en particulier la réponse à un traitement antibiotique d'épreuve utilisé comme test diagnostique, sont pertinents pour diagnostiquer la neuroborreliose en cas de sérologie négative. Il est surprenant que cette stratégie diagnostique ne soit pas recommandée pour d'autres formes cliniques de la maladie.

Nous pensons que les tests PCR permettant l'identification directe du matériel génétique de la bactérie sont intéressants, ce qui a déjà été évoqué par Bil-Lula et al. (48). Beaucoup de tests PCR recherchant *Borrelia* spp. ne détectent néanmoins pas *Borrelia hermsii* ni *Borrelia miyamotoi*.

Nous avons pratiqué des études PCR lors de deux études, à la recherche de *Borrelia* et de diverses co-infections (bactériennes, virales, parasitaires et fongiques), sur 4 milieux, appelés matrices (le sang veineux, le sang capillaire, les urines et la salive), sur deux prélèvements réalisés à deux jours d'intervalle. Les résultats montrent la présence de nombreuses bactéries, virus, parasites et *Candida* avec des résultats différents suivant les jours de prélèvement (49, 50). Dans l'étude de Bil-Lula, 3 % des résultats négatifs de l'ELISA IgM, 2,8 % des résultats négatifs du Line blot IgM, 3,1 % et 2,7 % des résultats négatifs de l'ELISA IgG et du Line blot IgG, respectivement, se sont révélés positifs en PCR (48). Dans l'une de nos études, parmi les 9 patients testés positifs pour *Borrelia* par PCR, seul 1 patient avait une sérologie *Borrelia* positive (en IgG). Il s'agit d'une preuve supplémentaire de la mauvaise efficacité de la sérologie Lyme (22).

Peut-être que pour les patients présentant une maladie de Lyme chronique, un prélèvement une fois par jour pendant une semaine sur les 4 matrices permettrait un dépistage optimal des co-infections. Si l'on pense qu'il existe un cycle

nyctéméral, il pourrait être intéressant de collecter des échantillons à différents moments de la journée, comme cela a été observé pour les filaires, qui peuvent être diurnes ou nocturnes. *Borrelia* peut se trouver dans différents environnements et différents milieux (51-53). On peut en outre imaginer la réalisation de PCR dans différents milieux, sur des biopsies profondes, sur des cytoponctions, le liquide synovial, et le liquide céphalo-rachidien. La prise de médicaments susceptibles de lyser les biofilms pourrait peut-être améliorer le rendement des PCR (54). L'ELISPOT (enzyme-linked immunospot) mesure la réponse spécifique des lymphocytes T à *Borrelia* (ou à d'autres agents infectieux) et pourrait avoir un intérêt, et montrer le caractère actif de l'infection (55). Ces méthodes sont encore mal évaluées.

Les particules Nanotrap® permettant la détection de la protéine de surface extérieure A de *Borrelia* dans l'urine peuvent constituer une technique très sensible (56). Malgré toutes ces données publiées, certains experts continuent d'affirmer que la recherche dans ce domaine n'est plus utile puisque les tests sérologiques sont parfaits!

Certains d'entre eux affirment qu'il n'est pas utile de développer des tests de diagnostic pour les *Borrelia* appartenant au complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato, arguant que ces espèces sont rares ou ne sont pas réellement pathogènes. Mais aucune étude ne vient étayer cette affirmation. En France, le Centre national de référence pour la borréliose affirme que *Borrelia miyamotoi* n'est pas un pathogène significatif en France. Cependant, nous avons publié la plus grande série d'infections à *Borrelia miyamotoi* isolées par PCR chez 43 patients français souffrant d'une maladie chronique de type Lyme (36). Nous avons pu constater que l'érythème migrant était rarement observé chez ces patients et, comme mentionné plus haut, la sérologie de Lyme n'était pas contributive. Beaucoup de patients infectés par *Borrelia miyamotoi* présentaient des signes de dysrégulation thermique, comme des bouffées de chaleur, des frissons, des épisodes de sueurs ou de la fièvre, ressemblant à des signes de fièvres récurrentes. Ainsi, notre observation est en accord avec le fait que *Borrelia miyamotoi*, d'un point de vue génétique, est intermédiaire entre les espèces de *Borrelia* responsables de la maladie de Lyme ou de syndromes apparentés et les espèces de *Borrelia* responsables de fièvre récurrente. D'autres méthodes de recherche des différents germes doivent être imaginées et développées comme par exemple la microscopie optique du sang frais « vivant » (c'est-à-dire non fixé), en utilisant diverses techniques combinées : contraste de phase, fond noir et éclairage de Köhler. La présence de spirochètes est néanmoins souvent observée chez des sujets sains. La recherche de ces crypto-infections reste actuellement difficile. Pour l'heure, un traitement d'épreuve reste indispensable, ciblant principalement *Borrelia* (doxycycline, ceftriaxone, macrolides) et les piroplasmes

(atovaquone – proguanil, et azithromycine par exemple) en deuxième intention. Beaucoup de maladies de Lyme sont donc non diagnostiquées d'autant que cette maladie est une « grande simulatrice ».

La controverse sur la chronicité

L'existence de la forme chronique de la maladie de Lyme est controversée et fait l'objet de débats. La conférence de consensus de 2006 en France limite le traitement antibiotique à 3 semaines (57), même s'il est prouvé que *Borrelia* a des capacités de persistance. La plupart des médecins pensent que la maladie de Lyme est guérie après 3 semaines d'antibiothérapie, et que les symptômes observés ensuite sont soit liés à des phénomènes dysimmunitaires, soit psychologiques. Nous ne nions pas la possibilité d'anomalies du système immunitaire en particulier d'une auto-immunité provoquée par *Borrelia* (8, 9, 58). Certaines maladies de système pourraient avoir une cause infectieuse et ensuite évoluer pour leur propre compte. En fait, le rôle de l'infection persistante dans la persistance des symptômes n'a jamais été correctement étudié, aucune étude de patients n'ayant évalué l'effet d'une antibiothérapie suffisamment longue. On sait néanmoins que l'association de doxycycline et d'hydroxychloroquine peut être particulièrement efficace chez les patients présentant une polyarthrite rhumatoïde. L'hydroxychloroquine est un immunomodulateur, présente des propriétés anti-inflammatoires et surtout est un puissant effet anti-infectieux, qui de plus potentialise l'action de certains antibiotiques (comme la doxycycline) en alcalinisant le phagolysosome (59-64), même si les tétracyclines employées seules sont déjà efficaces (65). Il est important de noter que l'hydroxychloroquine, à elle-seule, est efficace sur *Borrelia*.

Bien que certains scientifiques expliquent cette efficacité par les propriétés anti-inflammatoires intrinsèques de l'hydroxychloroquine, son action anti-infectieuse est à notre avis le mécanisme principal, l'inflammation disparaissant avec le germe causal. Actuellement, un des traitements de choix sont les anti-TNF ou les immunosuppresseurs efficaces sur les symptômes, mais dangereux à long terme, pouvant favoriser des infections, et potentiellement cancérogènes (66).

Bien qu'il existe des phénomènes auto-immuns, la persistance de la bactérie malgré un traitement antibiotique de 3 semaines explique probablement les symptômes chroniques de la maladie de Lyme. La persistance de *Borrelia* est étayée dans de très nombreux livres (67) et articles dans la littérature scientifique chez l'homme et les animaux. Nous en listons un grand nombre afin qu'il ne soit plus possible de le nier. L'autopsie d'une patiente atteinte de maladie de Lyme, traitée plusieurs années par des antibiotiques, a montré la présence de *Borrelia* (68). L'existence de formes persistantes est bien connue, en fait admise et étudiée dans la littérature. Ces formes

pourraient être traitées avec de la ceftriaxone administrée de manière pulsée (69). Des prélèvements effectués sur des patients correctement traités selon les recommandations actuelles montrent en effet la présence de la bactérie par PCR, et même en culture (70-74). Après un traitement antibiotique, la membrane synoviale peut encore contenir des spirochètes : bien que la PCR ait été négative dans le liquide synovial et l'urine, elle a confirmé la persistance de *Borrelia* dans la membrane synoviale de quatre patients atteints d'arthrite de Lyme et ayant reçu un traitement antérieur (74). Battafarano et al. ont décrit le cas d'un patient présentant une arthrite de Lyme septique chronique du genou pendant sept ans, malgré de multiples essais d'antibiotiques et des synovectomies. La présence de *Borrelia* a été documentée dans la synovie et le liquide synovial (75). Bayer et al. ont rapporté la présence d'ADN de *Borrelia burgdorferi* dans une série de 97 patients PCR-positifs qui avaient été traités avec des antibiotiques pendant de longues périodes et qui présentaient des symptômes de maladie de Lyme chronique (76). Feng et al. démontrent aussi la persistance de *Borrelia* malgré les traitements et plaident pour l'évaluation d'associations d'antibiotiques (77, 78). Weber et al. ont trouvé des *Borrelia* chez un nouveau-né dont la mère a été traitée par amoxicilline (79). Beaucoup d'autres articles décrivent des cas de persistance de *Borrelia* (70-74, 80-97). L'affirmation selon laquelle les PCR, lorsqu'elles sont positives, ne signifient pas que la bactérie soit présente dans l'organisme et bien vivante, en raison d'une soi-disant persistance de fragments d'acides nucléiques (ADN), est totalement fautive. Il a en effet été démontré, à la suite des travaux de Jules Hoffmann, prix Nobel, que de l'ADN « nu », qui se serait échappé d'une bactérie morte, est très rapidement détruit par des enzymes dans les tissus des mammifères, dont l'homme, et ne peut de ce fait être détecté par PCR. La théorie du Pr Christmann, dite de l'« ADN fossile », faisant croire qu'une bactérie présente dans le sang ou les tissus de l'organisme des semaines ou des années auparavant, n'est plus présente, mais a tout de même laissé une « mémoire » de son passage, résultant en une PCR positive relève de l'antiscience. D'ailleurs, on trouve la bactérie, on le rappelle, en culture même après une antibiothérapie (70-74). La bactérie peut échapper au système immunitaire (30-31), induire une immunodépression relative (23-25), et se réfugier en intracellulaire (98), ou dans des sanctuaires peu vascularisés et moins accessibles au système immunitaire (car moins irrigués par la circulation sanguine), comme le tissu fibreux, les tendons par exemple (99).

Borrelia spp. possède deux mécanismes intrinsèques lui permettant de ne pas être atteinte par les traitements antibiotiques : (Tableau 1)

(a) Les biofilms: ce sont des « carapaces » de matériel extra-cellulaire sous lesquelles la bactérie se protège, seule ou en association avec d'autres micro-organismes (68,

100-103). La plupart des antibiotiques ne pénètrent pas cette carapace et sont donc inefficaces. Les biofilms de *Borrelia* ont été observés in vitro et in vivo dont dans un lymphocytome borrélien (104), dans des cerveaux de patients atteints de maladie d'Alzheimer avec une corrélation avec le développement de plaques amyloïdes (105-110).

(b) Les formes rondes: la forme spiralée de *Borrelia* peut se transformer, surtout dans des conditions hostiles, en des formes atypiques non spiralées : les « round bodies » ou variants sphéropastes, formes L sans paroi (cellules sphériques de *Borrelia burgdorferi* avec une enveloppe cellulaire flexible renfermant de nombreux flagelles (111-118). Ces formes seraient plus aptes à survivre à long terme en particulier en présence de bêta-lactamines. Le passage de la forme spiralée à la forme ronde et inversement a déjà été filmé et publié (116). Les formes rondes peuvent redonner des spirochètes : leurs potentiels pathogènes est donc certain. Il existe aussi des « blebs », morphotype caractérisé par la formation de vésicules de la membrane externe à la surface de *Borrelia* (113). Ces blebs qui expriment des antigènes de *Borrelia* à la surface de la cellule infectée, pourraient déclencher des réactions auto-immunes. *Candida* spp. pourrait avoir une relation symbiotique avec *Borrelia* et favoriser la persistance (119). C'est une hypothèse fondée que nous avons formulée. Nous avons récemment démontré que *Candida* pouvait être isolé par PCR dans le sang ou d'autres matrices de patients PTLDS (Multi-matrix real time *Candida* PCR in 108 patients with polymorphic signs ; soumis pour publication). Ces résultats méritent d'être confirmés. Nous rappelons que *Candida* peut produire des mycotoxines, simulant par leurs actions délétères une véritable maladie de Lyme (120, 121). Le fluconazole, un antifongique, a déjà été employé avec succès lors de neuroborrélioses, soit que cette molécule soit directement active sur *Borrelia*, soit que ces patients présentaient une candidose associée (122). Les coopérations entre bactéries et champignons sont décrites et pourraient jouer un rôle dans la chronicité de la maladie (123). Les parasites comme les helminthes pourraient également contenir *Borrelia*, ce qui expliquerait les réactions de Jarisch-Herxheimer observées lors de l'emploi de flubendazole chez les patients présentant une maladie de Lyme (124).

Depuis 2023, l'existence d'une chronicité des symptômes en relation avec la maladie de Lyme est maintenant reconnue et publiée par le CDC d'Atlanta (125). Comme nous venons de le voir, la persistance de *Borrelia* est un fait scientifique indiscutable. Si *Borrelia* persiste, la chronicité est une conséquence logique. Si un micro-organisme qui a induit une maladie est capable de provoquer une rechute, c'est qu'il est toujours présent et capable de se multiplier. Les patients considérés comme guéris, parce qu'ils sont devenus asymptomatiques et le restent après plusieurs années, sont très probablement encore porteurs de *Borrelia*, mais sous une

forme quiescente. *Borrelia burgdorferi* est, parmi les bactéries pathogènes pour l'homme ou les animaux, celle qui contient le plus grand nombre de gènes de fonction, lui permettant de s'adapter aux variations de l'environnement et aux conditions hostiles, telles que les attaques immunitaires, le changement de pH du milieu, le défi antibiotique, etc.

La preuve de la persistance est évidente dans la littérature, avec de nombreuses observations de patients alternant entre rémission et rechute lors de l'instauration et de l'arrêt des antibiotiques (126), ainsi que de patients maintenus en rémission avec de faibles doses d'antibiotiques en entretien (127). Il est étonnant que malgré l'abondante bibliographie sur ce sujet, la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et d'autres sociétés savantes en France et dans d'autres pays persistent à nier l'existence de la forme chronique de la maladie de Lyme, et à ne pas vouloir s'y intéresser. De plus, elles ne proposent pas d'études de haut niveau pour mettre fin à cette controverse. La conséquence est que des centaines de milliers de patients ne sont pas traités d'une maladie potentiellement partiellement ou totalement curable et souffrent pendant des années. Les patients ne sont alors pas écoutés et considérés comme ayant une maladie psychiatrique ou psychosomatique (128). Nous pouvons rappeler ici ce que disait le découvreur de *Borrelia burgdorferi*, Willy Burgdorfer lui-même, lors d'une interview, « *que les recommandations de la société américaine de maladies infectieuses (Infectious Diseases Society of America, IDSA), dont s'inspirèrent les recommandations françaises obsolètes de 2006, étaient honteuses, que l'argent allait depuis plus de trente ans aux mêmes personnes qui ne trouvaient rien, et que la sérologie Lyme devait être revue par des chercheurs ne publiant pas des résultats avant d'avoir effectué leurs recherches !* »

Les co-infections

Les tiques peuvent être poly-infectés et donc transmettre de nombreux agents infectieux. Dans l'étude de Moutailler et al., parmi les 267 tiques femelles analysées individuellement, près de la moitié (45 %) étaient infectées par au moins un agent pathogène. Parmi ceux-ci, les agents les plus répandus étaient les *Borrelia* spp., 21,7 % au total, dont *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (5,6 %), *Borrelia afzelii* (9,4 %), *Borrelia garinii* (10,8 %), *Borrelia valaisiana* (6,0 %) et *Borrelia spielmanii* (2,2 %). Les germes les plus fréquents étaient ensuite *Bartonella henselae* (17,6 %) et des *Rickettsia* du groupe de la fièvre boutonneuse (16,8 %), principalement *Rickettsia helvetica*, puis *Borrelia miyamotoi* (3,0 %), *Anaplasma phagocytophilum* (2,6 %), *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* (1,4 %) et *Babesia divergens* (0,37 %). De plus, 9 % des tiques étaient porteuses d'ADN de deux pathogènes, 6,7 % étaient porteuses d'ADN de trois pathogènes, 1,9 % étaient porteuses d'ADN de quatre pathogènes et 0,75 % étaient porteuses d'ADN de cinq pathogènes différents (129).

Nous avons procédé à plusieurs études recherchant diverses bactéries, parasites, virus et *Candida* chez des patients présentant un SPPT ou une suspicion de maladie de Lyme chronique (39, 40, Multi-matrix real time *Candida* PCR in 108 patients with polymorphic signs ; soumis pour publication). Dans l'une de ces études, 108 patients ont été inclus (50). Au total, 864 échantillons ont été analysés au jour 0 et au jour 3, à partir de sang veineux, de sang capillaire, d'urine et de salive (Figure 1). Les micro-organismes les plus fréquemment trouvés étaient *Mycoplasma* spp. suivis par *Rickettsia* spp. et *Theileria* spp. Il est intéressant de noter que les *Theileria* sont des parasites de type piroplasmes, bien connus en médecine vétérinaire mais inconnus, avant notre étude, en médecine humaine. Nous ne pouvons trouver que ce que nous cherchons. La collaboration avec les vétérinaires doit être encouragée car l'homme et l'animal partagent le même environnement. En 2016, M. Vayssier-Taussat et al. ont rapporté chez des patients souffrant d'un syndrome de type Lyme, l'isolement de plusieurs espèces de *Bartonella*, bien connues chez les animaux, mais jusqu'alors inconnues chez les humains (130). Dans notre étude Les bactéries les plus fréquemment trouvées sont *Mycoplasma* spp. suivies par *Rickettsia* spp. et *Theileria* spp. Quatorze PCR (5 à J0 et 9 à J3) chez 10 patients (9,3%) étaient positives pour *Borrelia*. Trente PCR (18 à J0 et 12 à J3) chez 22 patients (20,4%) étaient positives pour *Bartonella* (50). Les virus les plus fréquemment trouvés étaient HHV6 et CMV.

Les agents infectieux étaient plus souvent trouvés dans le sang capillaire que dans le sang veineux, ce qui s'explique peut-être par les conditions locales de flux ou de température (131). Les patients étaient souvent poly-infectés. Parmi les 108 patients inclus dans notre étude (50), aucun micro-organisme n'a été trouvé chez 5 patients (4,6 %), un seul micro-organisme chez 32 patients (29,6 %), deux micro-organismes différents chez 33 patients (30,6 %), trois micro-organismes chez 25 patients (23,1 %), quatre micro-organismes chez

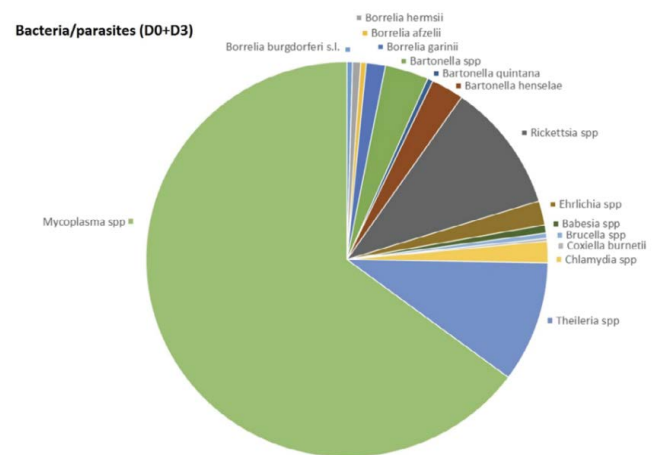


Figure 2a: Bacteria and parasites: PCR results at D0 + D3

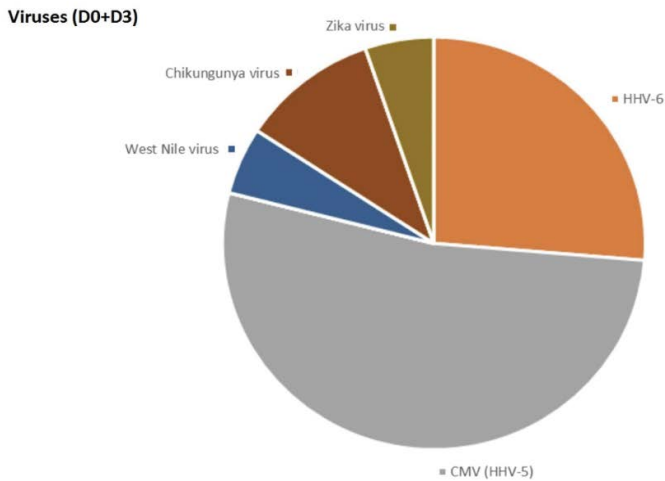


Figure 2b: Virus: PCR results at D0 + D3

Figure 2: Mas M, Lacout A, Véronique Perronne V, Lequette Y, Gadiolet Y, Rambeaud B, Trouillas P, Franck M, Perronne C. Multi-Matrix Real Time PCR in 108 Patients with Polymorphic Signs Suggestive of Fibromyalgia or Related to A Tick Bite. *Archives of Microbiology and Immunology*. 7 (2023): 250-270 (Réfèrece 50).

10 patients (9,3 %), cinq micro-organismes ou plus chez 3 patients (2,8 %). Les infections au piroplasma *Babesia* pourraient être plus fréquentes qu'on ne le pense. Dans une étude, la séropositivité en IgG pour au moins une des *Babesia* spp. était significativement plus fréquente chez les individus séropositifs pour *Borrelia* (16,3 %) que dans le groupe contrôle sain (2,5 %) (132). Une de nos séries rétrospectives ayant évalué les infections à *Babesia* a montré 41 % de sérologie positive (22). Les patients ayant eu une splénectomie peuvent avoir des tableaux très aigus parasitémiqes rapidement mortels. En dehors de ces cas aigus, une infection persistante semble être fréquente, mais très rarement diagnostiquée (133). Les patients atteints de babésiose se plaignent souvent de frissons, de sensations de chaleur et de froid, de sueurs abondantes, parfois de fièvre, d'essoufflement ; des arthralgies et des myalgies sont également décrites (134, 135). Les babésioses peuvent également rechuter, souvent chez les patients immunodéprimés (136-138). Martinot et al. reconnaissent méconnaître cette pathologie qu'ils considèrent rare et difficile à diagnostiquer (13).

Aux États-Unis, les équipes de Maggi, Moyazeni et Breitschwert ont montré une forte prévalence de *Bartonella* spp. dans les tableaux de fibromyalgies, fatigue chronique et PTLDS (post-treatment Lyme disease syndrome), voisins voire indifférenciables du SPPT (140, 141). En somme, ces co-infections doivent être recherchées et traitées chez les patients présentant une maladie évocatrice de Lyme chronique. L'absence de traitement spécifique peut évidemment se solder par un échec thérapeutique, et les médecins pourront faussement conclure que la maladie de Lyme du patient ne s'améliore pas sous antibiotiques.

Les crypto-infections, nouveau paradigme

Parler de « maladie de Lyme » est sans doute réducteur, compte tenu des multiples co-infections et des différents contextes génétiques dans lesquels ces maladies se développent. Ce que ces infections ont en commun, c'est une évolution torpide et un diagnostic difficile qui n'est souvent pas posé. Comme nous l'avons vu plus haut, Charles Nicolle s'est beaucoup intéressé au concept des « infections inapparentes », telles que le typhus, la syphilis et la fièvre récurrente à *Borrelia recurrentis* (14). En ne recherchant pas toutes les co-infections possibles et en limitant la cause du PTLDS/SPPT au complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato*, la plupart des médecins nient l'existence de la maladie de Lyme chronique. C'est pourquoi nous parlons maintenant de crypto-infections pour évoquer ces infections cachées (67, 142).

Il se pourrait que beaucoup de maladies chroniques, idiopathiques, dégénératives comme la maladie d'Alzheimer (105-111), ou auto-immunes (8-12) soient la conséquence de ces crypto-infections, d'autant que les agents infectieux peuvent parfois déclencher une auto-immunité. L'autisme pourrait avoir parfois une relation avec les infections et le microbiote intestinal, pouvant expliquer que certains enfants puissent voire leur maladie s'améliorer avec des traitements anti-infectieux (143-149). L'association *Streptococcus A* et troubles obsessionnels est bien connue dans le syndrome PANDAS. Il convient d'être prudent, mais les cas observés et publiés, ainsi que les mécanismes physiopathologiques en faveur plaident pour la réalisation d'études scientifiques. La doxycycline pourrait être efficace dans la polyarthrite rhumatoïde (65) et les atteintes discales dégénératives inflammatoires pourraient en fait avoir une cause infectieuse cachée (150, 151). La maladie de Crohn pourrait être en fait provoquée par une mycobactérie atypique et les traitements anti-infectieux par rifabutine et macrolides peuvent être efficaces (152). En effet, la prétendue « disparition » des maladies infectieuses grâce à l'hygiène, à la vaccination et aux thérapies anti-infectieuses, concerne surtout les formes apparentes d'infection. La recherche en infectiologie doit désormais s'intéresser aux crypto-infections qui semblent jouer un rôle majeur dans les maladies chroniques. Il s'agit d'un nouveau paradigme qui pourrait conduire à de nombreuses avancées dans le domaine.

Traitements

Nous évoquerons rapidement le traitement préventif lors d'une piqûre de tiques. Il y a des opinions divergentes, certains préconisant un traitement antibiotique dès lors que la tique est gorgée de sang, donc sphérique, ce qui veut dire qu'elle est accrochée depuis suffisamment longtemps pour avoir effectué un repas sanguin et transmettre l'infection. Cela induirait malheureusement beaucoup de traitements, eu égard à la fréquence des piqûres de tiques. Certains ont

recommandé un traitement systématique pour les enfants, les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées. Il est admis que le site de la piqûre doit être surveillé pendant une longue période pour chercher l'apparition d'un érythème migrant. Cependant, dès 1986, Willy Burgdorfer avait averti avec ses collègues que l'érythème migrant n'était observé que dans moins de 50 % des cas de maladie de Lyme disséminée (7). Il faut cependant noter que d'autres agents infectieux n'entraînent pas de signes cutanés et que la transmission d'un piroplasma, par exemple, passera de toute façon inaperçue. Tout érythème migrant doit être traité rapidement par antibiotique pendant deux semaines.

Pour ce qui est de l'indication du traitement, nous avons vu que les tests n'étaient pas fiables et ne pouvaient en aucun cas exclure une maladie de Lyme. Par ailleurs, les co-infections ne sont habituellement pas recherchées. Actuellement, un traitement anti-infectieux d'épreuve devrait s'imposer dans tous les cas de SPPT – maladie de Lyme chronique ou fibromyalgie, d'une durée d'au moins un mois. Les antibiotiques habituellement utilisés pour la maladie de Lyme sont les tétracyclines, les macrolides et les pénicillines. La ceftriaxone est le médicament de choix pour les atteintes neurologiques graves, mais les autres antibiotiques peuvent également être efficaces dans ces cas. L'hydroxychloroquine est souvent ajoutée à faible dose (100 à 200 mg par jour), car elle possède un effet anti-infectieux propre sur *Borrelia* et qu'elle alcalinise le phagolysosome, potentialisant ainsi l'action des antibiotiques associés et parce qu'elle présente en outre des effets anti-inflammatoires et d'immunomodulation. Comme précédemment évoqué, il est probable que l'effet anti-inflammatoire de l'hydroxychloroquine provienne essentiellement de son effet anti-infectieux (59-64).

Il existe une controverse sur la durée du traitement. La plupart des médecins pensent la maladie guérie au bout de trois semaines d'antibiothérapie. Cependant, il est bien établi dans la littérature médicale qu'une proportion significative des patients traités présente encore des signes de progression. Les médecins considèrent alors la maladie comme psychosomatique. Nous avons évoqué la persistance de *Borrelia*, expliquée par les différents mécanismes biologiques. Selon nous, le traitement doit être poursuivi tant que les symptômes du patient diminuent, jusqu'à ce qu'un plateau soit atteint. Le traitement peut donc être long de plusieurs semaines, voire plusieurs mois pour les cas les plus anciens et les plus sévères. Chaque fois que nous avons demandé un financement pour mettre en place un essai clinique randomisé afin de confirmer la grande efficacité d'une combinaison de doxycycline et d'hydroxychloroquine pendant au moins quatre mois, la demande a été rejetée sous prétexte qu'il n'est pas utile de faire une étude sur la forme chronique de la maladie qui, officiellement, n'existe pas ! De plus, les rechutes, qui peuvent survenir plus ou moins

rapidement à l'arrêt du traitement, doivent être traitées le plus vite possible. Les médecins spécialisés dans la prise en charge de la maladie de Lyme chronique connaissent bien ces événements fréquents. Nous avons publié plusieurs cas cliniques de patients gravement handicapés qui ont fini par être en rémission (126, 153). Cette expérience est partagée par les médecins du monde entier prenant en charge les cas de maladie de Lyme chronique, avec des taux d'amélioration/guérison proches de 80 % (154). Ajoutons qu'il faut également prendre en compte la présence de co-infections et savoir par exemple traiter une piroplasmose associée par des médicaments spécifiques, comme par exemple l'association d'atovaquone-proguanil et d'azithromycine. Nous avons publié le cas d'une femme de 36 ans, immunocompétente, non splénectomisée, présentant depuis plusieurs années un « syndrome persistant polymorphe » avec une asthénie majeure, des troubles neurologiques et cognitifs (troubles de la concentration et de la mémoire) et des signes somatiques polymorphes : douleurs musculaires, articulaires et neurologiques, sueurs nocturnes, frissons, etc. depuis plusieurs années. La sérologie *Babesia* et la PCR étaient positives. Après une première exacerbation des symptômes, un traitement combiné a été spectaculairement efficace. La patiente est en rémission complète depuis plusieurs années (133). La présence d'une candidose éventuelle doit aussi être prise en compte, d'autant que ces champignons peuvent sécréter des mycotoxines induisant des symptômes voisins de ceux de la maladie de Lyme chronique ou du SPPT (120, 121). Nous avons observé des cas d'amélioration sous fluconazole, ce qui a déjà été publié par et Schardt et al (122). D'autres traitements anti-infectieux mériteraient d'être évalués, comme par exemple le disulfirame, la dapsone ou le nitazoxanide, qui présente des effets anti-bactériens, notamment anti-*Borrelia*, anti-parasitaires et anti-viraux (155-158) et pourrait inhiber la formation de biofilms (159).

La controverse vient surtout d'une étude publiée n'ayant pas montré d'efficacité (160). Cependant, cette étude est de médiocre qualité car, (a) trop courte (b) elle ne tient pas compte de la possibilité de co-infections ; (c) elle ne tient pas compte des réactions de Jarisch-Herxheimer liées à la destruction des bactéries et à la libération de toxines par celles-ci, réactions qui ont été bien reconnues dans le traitement de la syphilis dans le passé. Pour la maladie de Lyme chronique, ces exacerbations induites par le traitement peuvent être prolongées et fluctuer avec une alternance d'aggravations et d'améliorations des symptômes. Ces exacerbations peuvent durer plusieurs jours, semaines ou même mois. Après 3 ou 4 semaines, durée « classique » du traitement, il est souvent difficile d'observer une amélioration. Pour les médecins expérimentés, ces exacerbations confirment l'efficacité du traitement. De nombreux médecins, peu habitués au traitement de la maladie de Lyme chronique, considèrent ces

exacerbations comme des échecs du traitement et l'arrêt, à la recherche d'un autre diagnostic, généralement un trouble psychiatrique. C'est pourquoi de nombreux patients, qui connaissent une aggravation transitoire et sont en voie d'amélioration ou de guérison, sont rejetés par le système médical. La réaction de Jarisch-Herxheimer serait médiée par le TNF (161, 162). Plus généralement, l'inflammation observée au cours de certaines maladies auto-immunes pourrait être la conséquence de crypto-infections, dont la maladie de Lyme. Les anti-TNF peuvent alors réduire les symptômes, mais sans traiter la cause. Une autre étude, plus ancienne semble avoir été conçue pour échouer comme l'ont dit Bransfield et al. dans une lettre en réponse (163, 164). En effet, en plus des autres critiques qui ont pu être faites, les auteurs de l'étude ont exclu les patients ayant une PCR positive à *Borrelia burgdorferi* dans le plasma ou le LCR « Les patients ayant un test positif pour l'ADN de *Borrelia burgdorferi* par réaction en chaîne par polymérase (PCR) dans le plasma ou le liquide céphalorachidien au départ ont également été exclus » ! Bransfield et al. répondent « Pourquoi un test PCR positif pour *Borrelia burgdorferi* a-t-il été un critère formel d'exclusion d'une étude destinée à éclairer la controverse sur la maladie de Lyme chronique ? S'il existe un consensus sur le fait que la positivité de la PCR constitue une confirmation en laboratoire de l'infection active, et si les patients présentant un résultat positif ont été exclus de cette étude contrôlée par placebo pour des raisons éthiques, ce point aurait dû être mis en exergue » (164). Donta critique ces études, car elles sont trop courtes : « L'étude n'a pas répondu à la question de savoir si de meilleurs résultats auraient résulté d'une durée plus longue du traitement par ceftriaxone intraveineuse ou par doxycycline orale, ou d'un traitement par différents antibiotiques pendant la même période ou une période plus longue. » (165). Dans le passé, il n'y avait pas besoin d'études randomisées pour prouver l'efficacité des antibiotiques, comme celle de la pénicilline dans la pneumonie franche lobaire aiguë à pneumocoques. Lorsqu'un taux de guérison est élevé, il n'est pas nécessaire d'utiliser un placebo. Dans le cas de la maladie de Lyme chronique, l'efficacité d'un traitement de longue durée a déjà été montrée (154).

Par ailleurs, le choix de la molécule est important. Le tinidazole et le métronidazole peuvent s'avérer plus efficaces sur les formes chroniques que les autres antibiotiques habituellement utilisés (pénicillines, céphalosporines, doxycycline par exemple) (166-167). Un traitement pulsé pourrait être également intéressant, peut être en permettant à *Borrelia*, en l'absence de traitement, de se retransformer en spirochètes sensibles aux antibiotiques (69). Les médicaments anti-infectieux doivent également en théorie pénétrer en intracellulaire, et franchir la barrière hémato-encéphalique, donc avec un dosage suffisamment élevé (168, 169). Les co-infections doivent être recherchées et traitées avec des médicaments anti-infectieux adaptés. Dans

notre pratique, nous observons qu'il faut traiter les rechutes le plus rapidement possible, avec les molécules qui avaient été efficaces. La rémission est alors presque constante souvent plus rapide (126). La supplémentation en vitamine D, qui joue un rôle dans l'immunité et qui pourrait avoir une efficacité anti-infectieuse, comme cela a été démontré pour la tuberculose, pourrait être utile. (170).

Nous préconisons une étude (a) suffisamment longue, (b) tenant compte des éventuelles co-infections, et (c) incluant une évaluation et une notation régulières de tous les symptômes et de l'état général du patient, tant pendant le traitement qu'à son arrêt. Il faut garder à l'esprit qu'il s'agit d'une étude complexe, car la maladie n'est pas homogène en raison de la présence d'éventuelles co-infections. Les populations ne sont pas homogènes non plus. Comme pour la plupart des maladies chroniques, de multiples facteurs peuvent influencer l'évolution de la maladie : génétique, habitudes alimentaires, exercice physique, stress, exposition à des produits toxiques, à des perturbateurs endocriniens, à des métaux lourds, auto-immunité, immunosuppression, etc. La controverse scientifique autour de la maladie de Lyme, que nous avons abordée dans cet article, est expliquée dans le livre « La vérité sur la maladie de Lyme » (67), traduit en anglais (Crypto-infections. Hammersmith 2021) où l'on trouve une bibliographie abondante.

A qui profite le déni ?

En juin 2019, Kris Newby a publié un livre intitulé « *Bitten. The secret history of Lyme disease and biological weapons* », où elle dit avoir interviewé Willy Burgdorfer, le découvreur de l'agent causal de la maladie (171). Kris Newby explique qu'elle a visionné un enregistrement de Willy Burgdorfer, mort en 2014, dans lequel il raconte avoir travaillé sur des armes biologiques pour l'armée américaine durant la Guerre Froide aux Rocky Mountain Laboratories à Hamilton (Montana). Il était notamment chargé, disait-il, d'élever des puces, des tiques, des moustiques et d'autres insectes ou arthropodes suceurs de sang et de les infecter avec des agents pathogènes capables de transmettre des maladies à l'homme.

Comme Willy Burgdorfer, avant sa mort, a donné une partie des archives de son laboratoire à Kris Newby, tout ce qu'elle a écrit est prouvé. Quelques semaines après la publication de son livre, la Chambre des Représentants des Etats-Unis a voté en juillet 2019 une résolution demandant une commission d'enquête sur l'activité du Pentagone dans ce domaine. Malheureusement, un haut fonctionnaire du ministère de la défense a bloqué le projet. Si l'on regarde l'histoire, un chercheur vétérinaire nazi, Erich Traub, a travaillé en Allemagne pendant la Seconde Guerre mondiale pour développer des armes biologiques. Il a étudié sur des prisonniers humains plusieurs maladies vectorielles, dont

celles induites par *Borrelia*. Arrêté par les Soviétiques dans son laboratoire de l'île de Riems, il a été exfiltré vers les États-Unis en 1949, dans le cadre de l'opération Paperclip du gouvernement américain. L'objectif de ce programme était d'exploiter les connaissances scientifiques allemandes dans le contexte de la Guerre Froide et de la rivalité avec l'Union soviétique. Erich Traub a dû participer au développement du « Plum Island animal disease center ». Ce centre était situé sur Plum Island, à seize kilomètres de la ville de Lyme (Connecticut). Voici ce que dit le livre de Kris Newby : « Peu avant sa mort, Willy a été filmé en train de dire qu'il pensait que l'épidémie de maladies transmises par les tiques qui s'était déclarée autour de Lyme, dans le Connecticut, avait été causée par la diffusion d'armes biologiques. C'était un aveu stupéfiant, mais il pourrait expliquer pourquoi la maladie de Lyme est si difficile à diagnostiquer et à traiter, et pourquoi l'épidémie se propage si loin et si vite ». Les archives de Willy Burgdorfer nous apprennent que dans la région de Lyme, au tout début de l'épidémie, on a observé de nombreux cas d'infection par une nouvelle rickettsie fabriquée par l'homme, *Rickettsia helvetica*, initialement décrite dans les archives comme « l'agent suisse » (écrit en français). Willy Burgdorfer pouvait rédiger ses notes en français. Cette bactérie nouvellement décrite était en fait issue d'une recombinaison de gènes de *Rickettsia* suisses et de *Rickettsia* des Montagnes Rocheuses. De nombreux cas de babésiose ont également été signalés dans la région à cette époque. En lisant ces archives, on découvre que la prétendue épidémie de Lyme, due à une seule espèce de *Borrelia*, était en fait un mélange de crypto-infections. Malgré le déni des autorités, il a été prouvé que l'armée a pulvérisé des tiques marquées au carbone 14 sur : Montpelier (Vermont) en août 1966, septembre 1967, août 1968 et 1969, Newport News (Virginie) en septembre 1967 et août 1967, Mill Canyon (Utah) en août 1966 et juillet 1967. Ces éléments soulèvent deux questions. Y a-t-il un lien avec l'épidémie croissante de la maladie de Lyme (tiques et micro-organismes éventuellement modifiés, plus résistants et à potentiel infectieux accru) ? Ces expériences militaires expliquent-elles l'omerta sur la maladie de Lyme, compte tenu des responsabilités potentiellement considérables des scientifiques et des Etats impliqués ? (Annexe 2 du livre Bitten de Kris Newby) (171, 172). Il y a également des implications financières. Le traitement de la maladie de Lyme chronique pourrait être coûteux (173, 174). A l'inverse, il faut réfléchir au fait qu'un patient guéri de la maladie de Lyme (avec des traitements pas chers) est un patient perdu pour des médicaments coûteux, comme les anti-TNF, qui pourraient lui être prescrits pour le reste de sa vie. En effet, comme nous l'avons vu, cette maladie peut imiter de nombreuses autres affections, notamment auto-immunes. Il est clair que, d'un point de vue financier, les entreprises pharmaceutiques ne favorisent pas la reconnaissance de la maladie de Lyme chronique.

Conclusion

La maladie de Lyme est plus complexe que ce qui est admis en pratique courante, car la bactérie *Borrelia* provoque des tableaux cliniques très différents selon le terrain génétique des patients atteints et parce qu'elle s'associe fréquemment à des co-infections, bactériennes, parasitaires, virales ou fongiques. Une co-infection fongique, notamment à *Candida* spp., est à prendre en compte, car les champignons peuvent produire des mycotoxines et pourraient coopérer avec *Borrelia*. Il est prouvé scientifiquement que les tests ne sont pas fiables, en particulier la sérologie, et que la forme chronique de la maladie existe, en raison d'une persistance bactérienne dont les mécanismes ont été observés et abondamment publiés. La maladie de Lyme peut simuler ou provoquer un grand nombre de maladies, notamment auto-immunes. Nier ces réalités scientifiques a pour conséquence que des centaines de milliers de malades sont en errance, souffrant de symptômes invalidants, et non soignés alors qu'un traitement anti-infectieux approprié assez long permet la rémission dans une majorité de cas.

Financement de l'étude

Les auteurs déclarent que cette étude a été financée par l'association BonSens.org pour couvrir les frais de publication.

Tableau 1

Capacité de persistance de <i>Borrelia</i>
Biofilms
Formes rondes ou en L
Sanctuarisation (tissu fibreux, intracellulaire, éventuellement à l'intérieur des parasites)
Capacité à échapper au système immunitaire
Coopération avec des champignons tels que <i>Candida</i> spp.
Sérologie Lyme
Mauvais calibrage et mauvaise qualité des réactifs
Préparation opaque
Pas de diagnostic de référence précis pour le développement des tests
Seuil de positivité arbitraire (moins de 5 % des tests doivent être positifs)
Test Western blot plus sensible interdit en France en première intention
Test développé à partir de <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto
Séquestration des anticorps dans les complexes immuns
Immunosuppression relative des patients (moins d'anticorps)
Quiescence des <i>Borrelia</i> qui ne stimulent pas la production d'anticorps

Bibliographie

- Rudenko N, Golovchenko M, Grubhoffer L, Oliver JH Jr. Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. *Ticks Tick Borne Dis* 2 (2011): 123-8.
- Ras NM, Lascola B, Postic D, Cutler SJ, Rodhain F, Baranton G, Raoult D. Phylogenesis of relapsing fever *Borrelia* spp. *Int J Syst Bacteriol* 4 (1996), 4: 859-65.
- Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis J.P. Lyme disease: a tick-borne spirochetosis? *Science* 216 (1982): 1317-1319.
- Garin C, Bujadoux A. Paralyse par les tiques. *J Med Lyon* 71 (1922): 765-767.
- Figuroa R, Bracero LA, Aguero-Rosenfeld M, Beneck D, Coleman J, Schwartz I. Confirmation of *Borrelia burgdorferi* spirochetes by polymerase chain reaction in placentas of women with reactive serology for Lyme antibodies. *Gynecol Obstet Invest* 41 (1996): 240-3.
- Middelveen MJ, Burke J, Sapi E, Bandoski C, Filush KR, Wang Y, Franco A, Timmaraju A, Schlinger HA, Mayne PJ, Stricker RB. Culture and identification of *Borrelia* spirochetes in human vaginal and seminal secretions 18 (2014): 309.
- Reik L Jr, Burgdorfer W, Donaldson JO. Neurologic abnormalities in Lyme disease without erythema chronicum migrans. *Am J Med* 81 (1986): 73-8.
- Rebman AW, Bechtold KT, Yang T, Mihm EA, Soloski MJ, Novak CB, Aucott JN. The clinical, symptom, and quality-of-life characterization of a well-defined group of patients with posttreatment Lyme disease syndrome. *Front Med* 14 (2017): 224.
- Doskaliuk B, Zimba O. *Borrelia burgdorferi* and autoimmune mechanisms: implications for mimicry, misdiagnosis, and mismanagement in Lyme disease and autoimmune disorders. *Rheumatol Int*. 2024.
- Keshtkarjahromi M, Rebman AW, Antar AAR, Manabe YC, Gutierrez-Alamillo L, Casciola-Rosen LA, Aucott JN, Miller JB. Autoantibodies in post-treatment Lyme disease and association with clinical symptoms. *Clin Exp Rheumatol*. 2024, 42: 1487-1490.
- Garcia-Monco, J. C., J. L. Coleman, and J. L. Benach. 1988. Antibodies to myelin basic protein in Lyme disease patients. *J. Infect. Dis.* 1988, 158: 667-668.
- Baig S, Olsson T, Höjeberg B, Link H. Cells secreting antibodies to myelin basic protein in cerebrospinal fluid of patients with Lyme neuroborreliosis. *Neurology*. 41: 581-7.
- Perronne C. Lyme and associated tick-borne diseases: global challenges in the context of a public health threat. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014, 3: 74.
- Nicolle C. « Destin des Maladies Infectieuses » (in French), Paris, Librairie Félix Alcan, 1933. Republished by Association des Anciens Élèves de l'Institut Pasteur (Association of the Pasteur Institute Alumni), Paris, France Lafayette, 1993.
- Burgdorfer W. On the occult infection in relapsing fevers. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*. 1954, 47: 664-7.
- Cooper L, Branagan-Harris M, Tuson R, Nduka C. Lyme disease and Bell's palsy: an epidemiological study of diagnosis and risk in England. *Br J Gen Pract*. 2017, 67: e329-e335.
- Bandola K, Koperny M, Seweryn MA, Żak J, Bała MA. The Lyme disease as the increasing health problem in Małopolskie voivodeship compared with Poland in 1998-2014. *Przegl Epidemiol*. 2016, 70: 529-538.
- Borréliose de Lyme : données épidémiologiques (2020).
- Eldin C, Jaulhac B, Mediannikov O, Arzouni JP, Raoult D. Values of diagnostic tests for the various species of spirochetes. *Med Mal Infect*. 2019, 49: 102-111.
- Alby K, Capraro GA. Alternatives to Serologic Testing for Diagnosis of Lyme Disease. *Clin Lab Med*. 2015, 35: 815-25.
- Stricker RB, Johnson L. Lyme disease: the next decade. *Infect Drug Resist*. 2011, 4: 1-9.
- Lacout A, Mas M, Franck M, Perronne V, Pajaud J, Pierre Yves Marcy PY, Perronne C. Serological and PCR evidence of Infection in 105 Patients with SPPT. *Arch Microbiol Immunol*. 2021, 5: 139-150.
- Widhe M, Jarefors S, Ekerfelt C, Vrethem M, Bergstrom S, Forsberg P, et al. *Borrelia*-specific interferon-gamma and interleukin-4 secretion in cerebrospinal fluid and blood during Lyme borreliosis in humans: Association with clinical outcome. *J Infect Dis*. 2004, 189: 1881-91.
- Elsner RA, Hastej CJ, Olsen KJ, Baumgarth N. Suppression of long-lived humoral immunity following *Borrelia burgdorferi* infection. *PLoS Pathog*. 2015, 11: e1004976.
- Tal MC, Hansen PS, Ogasawara HA, Feng Q, Volk RF, Lee B, Casebeer SE, Blacker GS, Shoham M, Galloway SD, Sapiro AL, Hayes B, Torrez Dulgeroff LB, Raveh T, Pothineni VR, Potula HS, Rajadas J, Bastounis EE, Chou S, Robinson WH, Coburn J, Weissman IL, Zaro BW. P66 is a bacterial mimic of CD47 that binds the anti-

- phagocytic receptor SIRP α and facilitates macrophage evasion by *Borrelia burgdorferi*. bioRxiv. 2024.
26. Schutzer SE, Coyle PK, Belman AL, Golightly MG, Drulle J. Sequestration of antibody to *Borrelia burgdorferi* in immune complexes in seronegative Lyme disease. *Lancet*. 1990, 335: 312-5.
 27. Perronne C, Lacout A, Marcy PY, El Hajjam M. Errancy on Lyme diagnosis. *Am J Med*. 2017, 130: e219.
 28. Girschick HJ, Huppertz HI, Rüssmann H, Krenn V, and Karch H. Intracellular persistence of *Borrelia burgdorferi* in human synovial cells. *Rheumatol Int*. 1996, 16: 125-132.
 29. Häupl T, Hahn G, Rittig M, Krause A, Schoerner C, Schönherr U, et al. Persistence of *Borrelia burgdorferi* in ligamentous tissue from a patient with chronic Lyme borreliosis. *Arthritis Rheum*. 1993, 36: 1621-6.
 30. Berndtson K. Review of evidence for immune evasion and persistent infection in Lyme disease. *Int J Gen Med*. 2013, 23: 291-306.
 31. Aslam B, Nisar MA, Khurshid M, Farooq Salamat MK. Immune escape strategies of *Borrelia burgdorferi*. *Future Microbiol*. 2017, 12: 1219-1237.
 32. Assous MV. 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]. *Med Mal Infect*. 2007, 37: 487-95.
 33. Leeflang MM, Ang CW, Berkhout J et al. The diagnostic accuracy of serological tests for Lyme borreliosis in Europe: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect. Dis*. 2016, 25: 140.
 34. Cook MJ, Puri BK. Commercial test kits for detection of Lyme borreliosis: a meta-analysis of test accuracy. *Int J Gen Med*. 2016, 9: 427-440.
 35. Lacout A, Marcy PY, Mas M, Perronne C, Franck M. Value of patient population selection and Lyme borreliosis tests. *J Clin Microbiol*. 2019, 57: e01517-18.
 36. Franck M, Ghozzi R, Pajaud J, Lawson-Hogban NE, Mas M, Lacout A, Perronne C. *Borrelia miyamotoi* : 43 cases diagnosed in France by real-time PCR in patients with persistent polymorphic signs and symptoms. *Front Med*. 2020, 7: 55.
 37. Branda JA, Rosenberg ES. *Borrelia miyamotoi*: a lesson in disease discovery. *Ann Intern Med*. 2013, 159: 61-2.
 38. 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.
 39. Karlsson M, Møllegård I, Stiernstedt G, Wretling B. Comparison of Western blot and enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of Lyme borreliosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1989, 8: 871-7.
 40. Hastey CJ, Olsen KJ, Elsner RA, Mundigl S, Tran GVV, Barthold SW, Baumgarth N. *Borrelia burgdorferi* infection-induced persistent IgM secretion controls bacteremia, but not bacterial dissemination or tissue burden. *J Immunol*. 2023, 211: 1540-1549.
 41. Moffat CM, Sigal LH, Steere AC, Freeman DH, Dwyer JM. Cellular immune findings in Lyme disease. Correlation with serum IgM and disease activity. *Am J Med*. 1984, 77: 625-32.
 42. 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, 33: 780-5. doi: 10.1086/322669. Epub 2001 Aug 10. PMID: 11512082.
 43. Hastey CJ, Elsner RA, Barthold SW, Baumgarth N. Delays and diversions mark the development of B cell responses to *Borrelia burgdorferi* infection. *J Immunol*. 2012, 188: 5612-22.
 44. Borréliose de Lyme. Rapport du groupe de travail. 28 mars (2014).
 45. Borréliose de Lyme. Recommandations (2018).
 46. Tick-Borne Disease Working Group. 2018 Report to Congress.
 47. Blanc F, Jaulhac B, Fleury M, de Seze J, de Martino SJ, Remy V, Blaison G, Hansmann Y, Christmann D, Tranchant C. Relevance of the antibody index to diagnose Lyme neuroborreliosis among seropositive patients. *Neurology*. 2007, 69: 953-8.
 48. Bil-Lula I, Matuszek P, Pfeiffer T, Woźniak M. Lyme borreliosis: the utility of improved real-time PCR assay in the detection of *Borrelia burgdorferi* infections. *Adv Clin Exp Med*. 2015, 24: 663-70.
 49. Lacout A, Mas M, Pajaud J, Perronne V, Lequette Y, Franck M, Perronne C. Real time micro-organisms PCR in 104 patients with polymorphic signs and symptoms that may be related to a tick bite. *Eur J Microbiol Immunol*. 2021.
 50. Mas M, Lacout A, Véronique Perronne V, Lequette Y, Gadiolet Y, Rambeaud B, Trouillas P, Franck M, Perronne C. Multi-matrix real time PCR in 108 patients with polymorphic signs suggestive of fibromyalgia or related to a tick bite. *Arch Microbiol Immunol*. 2023, 7: 250-270.

51. Preac-Mursic et al. First isolation of *Borrelia burgdorferi* from an iris biopsy. J Clin Neuroophthalmol. 1993, 13: 155-61.
52. Haupl et al. Persistence of *Borrelia burgdorferi* in ligamentous tissue from a patient with chronic Lyme borreliosis. Arthritis Rheum. 1993, 36: 1621-6
53. Straubinger RK. PCR-Based quantification of *Borrelia burgdorferi* organisms in canine tissues over a 500-day postinfection period. J Clin Microbiol. 2000, 38: 2191-9.
54. Lacout A, Dacher V, El Hajjam M, Marcy PY, Perronne C. Biofilms busters to improve the detection of *Borrelia* using PCR. Med Hypotheses. 2018, 112: 4-6.
55. Raffetin A, Saunier A, Bouiller K, Caraux-Paz P, Eldin C, Gallien S, Jouenne R, Belkacem A, Salomon J, Patey O, Talagrand-Reboul E, Jaulhac B, Grillon A. Unconventional diagnostic tests for Lyme borreliosis: a systematic review. Clin Microbiol Infect. 2020, 26: 51-59.
56. Magni R, Espina BH, Shah K, Lepene B, Mayuga C, Douglas TA, Espina V, Rucker S, Dunlap R, Petricoin EF, Kilavos MF, Poretz DM, Irwin GR, Shor SM, Liotta LA, Luchini A. Application of Nanotrap technology for high sensitivity measurement of urinary outer surface protein A carboxyl-terminus domain in early stage Lyme borreliosis. J Transl Med. 2015, 13: 346.
57. Hansmann Y, Chirouze C, Tattevin P, Alfandari S, Caumes E, Christmann D, Salomon J, Michelet C, Rabaud C, Roblot F; Société de pathologie infectieuse de langue française. Position de la Société de pathologie infectieuse de langue française à propos de la maladie de Lyme [Lyme disease: The French Infectious Diseases Society's statement]. Med Mal Infect. 2016, 46: 343-345.
58. Lochhead RB, Strle K, Arvikar SL, Weis JJ, Steere AC. Lyme arthritis: linking infection, inflammation and autoimmunity. Nat Rev Rheumatol. 2021, 17: 449-461.
59. Steere AC, Angelis SM. Therapy for Lyme arthritis: strategies for the treatment of antibiotic-refractory arthritis. Arthritis Rheum. 2006, 54: 3079-86.
60. Cimmino MA, Sambri V, Massaria F, Accardo S. An in vitro study of the susceptibility of *Borrelia burgdorferi* to hydroxychloroquine sulfate. Clin Exp Rheumatol. 1994, 12: 461-2.
61. Donta ST. Macrolide therapy of chronic Lyme Disease. Med Sci Monit. 2003, 9: 136-42.
62. Cimmino MA, Moggiana GL, Parisi M, Accardo S. Treatment of Lyme arthritis. Infection. 1996, 24: 91-3.
63. Massarotti EM. Lyme arthritis. Med Clin North Am. 2002, 86: 297-309.
64. Lacout A, Perronne C, Lounnas V. Hydroxychloroquine in hospitalized patients with Covid-19. N Engl J Med. 2021, 384: 881-882.
65. Stone M, Fortin PR, Pacheco-Tena C, Inman RD. Should tetracycline treatment be used more extensively for rheumatoid arthritis? Metaanalysis demonstrates clinical benefit with reduction in disease activity. J Rheumatol. 2003, 30: 2112-22.
66. Berghen N, Teuwen LA, Westhovens R, Verschueren P. Malignancies and anti-TNF therapy in rheumatoid arthritis: a single-center observational cohort study. Clin Rheumatol. 2015, 34: 1687-95.
67. Perronne C. La vérité sur la maladie de Lyme. Paris, Odile Jacob 2017.
68. Sapi E, Kasliwala RS, Ismail H, Torres JP, Oldakowski M, Markland S, et al. The long-term persistence of *Borrelia burgdorferi* antigens and DNA in the tissues of a patient with Lyme disease. Antibiotics. 2019, 8: 183.
69. Sharma B, Brown Av, Matluck NE, Hu LT and Lewis K. *Borrelia burgdorferi*, the causative agent of Lyme disease, forms drug-tolerant persister cells. Antimicrob. Agents Chemotherapy. 2015, 59: 4616-4624.
70. Hunfeld KP, Ruzic-Sabljić E, Norris DE, Kraiczy P, Strle 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.
71. Oksi J, Marjamäki M, Nikoskelainen J, Viljanen MK. *Borrelia burgdorferi* detected by culture and PCR in clinical relapse of disseminated Lyme borreliosis. Ann Med. 1999, 31: 225-32.
72. Priem S, Burmester GR, Kamradt T, Wolbart K, Rittig MG, Krause A. Detection of *Borrelia burgdorferi* by polymerase chain reaction in synovial membrane, but not in synovial fluid from patients with persisting Lyme arthritis after antibiotic therapy. Ann Rheum Dis. 1998, 57: 118-21.
73. Phillips SE, Mattman LH, Hulínská 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.
74. Schmidli J, Hunziker T, Moesli P, Schaad UB. Cultivation of *Borrelia burgdorferi* from joint fluid three months after treatment of facial palsy due to Lyme borreliosis. J Infect Dis. 1988, 158: 905-6.
75. Battafarano DF, Combs JA, Enzenauer RJ, Fitzpatrick JE.

- Chronic septic arthritis caused by *Borrelia burgdorferi*. Clin Orthop. 1993, 297: 238-241.
76. Bayer ME, Zhang L, Bayer MH. *Borrelia burgdorferi* DNA in the urine of treated patients with chronic Lyme disease symptoms. A PCR study of 97 cases. Infection. 1996, 24: 347-353.
77. Feng J, Li T, Yee R, Yuan Y, Bai C, Cai M, Shi W, Embers M, Brayton C, Saeki H, Gabrielson K, Zhang Y. Stationary phase persister/biofilm microcolony of *Borrelia burgdorferi* causes more severe disease in a mouse model of Lyme arthritis: implications for understanding persistence, Post-treatment Lyme Disease Syndrome (PTLDS), and treatment failure. Discov Med. 2019, 27: 125-138.
78. Feng J, Auwaerter PG, and Zhang Y. Drug combinations against *Borrelia burgdorferi* persists in vitro: Eradication achieved by using daptomycin, cefoperazone and doxycycline. PLoS ONE. 2015, 10: e0117207.
79. Weber K, Bratzke H-J, Neubert U, Wilske B, and Duray PH. *Borrelia burgdorferi* in a newborn despite oral penicillin for Lyme borreliosis during pregnancy. Pediatr Infect Dis J. 1988, 7: 286-289.
80. Bradley JF, Johnson RC, Goodman JL. The persistence of spirochetal nucleic acids in active Lyme arthritis. Ann Intern Med. 1994, 120: 487-489.
81. Masters Ed, Lynxwiler Pamela, Rawling Julie. Spirochetemia after continuous high-dose oral amoxicillin therapy. Infect Dis Clin Practice. 1994, 3: 207-208.
82. Murgia R, Cinco M. Induction of cystic forms by different stress conditions in *Borrelia burgdorferi*. APMIS. 2004, 112: 57-62.
83. Straubinger RK, Summers BA, Chang YF, Appel MJ. Persistence of *Borrelia burgdorferi* in experimentally infected dogs after antibiotic treatment. J Clin Microbiol. 1997, 35: 111-6.
84. Straubinger. PCR-based quantification of *Borrelia burgdorferi* organisms in canine tissues over a 500-day postinfection period. J Clin Microbiol. 2000, 38: 2191-9.
85. Embers ME, Ramamoorthy R, Philipp MT. Survival strategies of *Borrelia burgdorferi*, the etiologic agent of Lyme disease. Microbes Infect. 2004, 6: 312-8.
86. Hodzic E, Feng S, Holden K, Freet KJ, Barthold SW. Persistence of *Borrelia burgdorferi* following antibiotic treatment in mice. Antimicrob Agents Chemother. 2008, 52: 1728-36.
87. Barthold SW, Hodzic E, Imai DM, Feng S, Yang X, Luft BJ. Ineffectiveness of tigecycline against persistent *Borrelia burgdorferi*. Antimicrob Agents Chemother. 2010, 54: 643-51.
88. Embers ME, Barthold SW, Borda JT, Bowers L, Doyle L, Hodzic E, Jacobs MB, Hasenkampf NR, Martin DS, Narasimhan S, Phillippi-Falkenstein KM, Purcell JE, Ratterree MS, Philipp MT. Persistence of *Borrelia burgdorferi* in rhesus macaques following antibiotic treatment of disseminated infection. PLoS One. 2012, 7: e29914.
89. Embers ME, Hasenkampf NR, Jacobs MB, Tardo AC, Doyle-Meyers LA, Philipp MT, Hodzic E. Variable manifestations, diverse seroreactivity and post-treatment persistence in non-human primates exposed to *Borrelia burgdorferi* by tick feeding. PLoS One. 2017, 12: e0189071.
90. Weber K, Wilske B, Preac-Mursic V, Thurmayer R. Azithromycin versus penicillin V for the treatment of early Lyme borreliosis. Infection. 1993, 21: 367-72.
91. Häupl T, Hahn G, Rittig M, Krause A, Schoerner C, Schönherr U, Kalden JR, Burmester GR. Persistence of *Borrelia burgdorferi* in ligamentous tissue from a patient with chronic Lyme borreliosis. Arthritis Rheum. 1993, 36: 1621-6.
92. Lawrence C, Lipton RB, Lowy FD, Coyle PK. Seronegative chronic relapsing neuroborreliosis. Eur Neurol. 1995, 35: 113-7.
93. 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.
94. Preac-Mursic et al. Formation and cultivation of *Borrelia burgdorferi* spheroplast-L-form variants. Infection. 1996, 24: 218-26.
95. Preac-Mursic V, Pfister HW, Spiegel H, Burk R, Wilske B, Reinhardt S, Böhmer R. First isolation of *Borrelia burgdorferi* from an iris biopsy. J Clin Neuroophthalmol. 1993, 13: 155-61; discussion 162.
96. Preac-Mursic V, Weber K, Pfister HW, Wilske B, Gross B, Baumann A, Prokop J. Survival of *Borrelia burgdorferi* in antibiotic treated patients with Lyme borreliosis. Infection. 1989, 17: 355-9.
97. Schmidli J, Hunziker T, Moesli P, Schaad UB. Cultivation of *Borrelia burgdorferi* from joint fluid three months after treatment of facial palsy due to Lyme borreliosis. J Infect Dis. 1988, 158: 905-6.
98. Girschick HJ, Huppertz HI, Rüssmann H, Krenn V, and Karch H. Intracellular persistence of *Borrelia burgdorferi*

- in human synovial cells. *Rheumatol Int.* 1996, 16: 125-132.
99. Häupl T, Hahn G, Rittig M, Krause A, Schoerner C, Schönherr U, et al. Persistence of *Borrelia burgdorferi* in ligamentous tissue from a patient with chronic Lyme borreliosis. *Arthritis Rheum.* 1993, 36: 1621-6.
 100. Sapi E, Bastian SL, Mpoy CM, Scott S, Rattelle A, Pabbati N, Poruri A, Burugu D, Theophilus PA, Pham TV, Datar A, Dhaliwal NK, MacDonald A, Rossi MJ, Sinha SK, Luecke DF. Characterization of biofilm formation by *Borrelia burgdorferi* in vitro. *PLoS One.* 2012, 7: e48277.
 101. Sapi E, Gupta K, Wawrzeniak K, Gaur G, Torres J, Filush K, et al. *Borrelia* and *Chlamydia* can form mixed biofilms in infected human skin tissues. *Eur J Microbiol Immunol.* 2019, 9: 46-55.
 102. Sapi E, Balasubramanian K, Poruri A, Maghsoudlou JS, Socarras KM, Timmaraju AV, Filush KR, Gupta K, Shaikh S, Theophilus PA, Luecke DF, MacDonald A, Zelger B. Evidence of in vivo existence of *Borrelia* biofilm in borrelial lymphocytomas. *Eur J Microbiol Immunol.* 2016, 6: 9-24.
 103. Di Domenico EG, Cavallo I, Bordignon V, D'Agosto G, Pontone M, Trento E, Gallo MT, Prignano G, Pimpinelli F, Toma L, Ensoli F. The emerging role of microbial biofilm in Lyme neuroborreliosis. *Front Neurol.* 2018, 9: 1048.
 104. Senejani AG, Maghsoudlou J, El-Zohiry D, Gaur G, Wawrzeniak K, Caravaglia C, Khatri VA, MacDonald A, Sapi E. *Borrelia burgdorferi* co-localizing with amyloid markers in Alzheimer's disease brain tissues. *J Alzheimers Dis.* 2022, 85: 889-903.
 105. MacDonald AB, Miranda JM. Concurrent neocortical borreliosis and Alzheimer's disease. *Human Pathol.* 1987, 18: 759-761.
 106. MacDonald AB. Concurrent neocortical borreliosis and Alzheimer's disease: demonstration of a spirochetal cyst form. *Ann NY Acad Sci.* 1988, 539: 468-470.
 107. Miklossy J. Alzheimer's disease — a spirochetosis? *NeuroReport.* 1993, 4: 841-848.
 108. Miklossy J, Kasas S, Janzer RC, Ardizzoni F, and Loos H. Further morphological evidence of a spirochetal etiology of Alzheimer's disease. *NeuroReport.* 1994, 5: 1201-1204.
 109. Miklossy J. Chronic inflammation and amyloidogenesis in Alzheimer's disease — role of spirochetes. *J Alzheimers Dis.* 2008, 13: 381-391.
 110. Chakravarthi ST, Joshi SG. An association of pathogens and biofilms with Alzheimer's disease. *Microorganisms.* 2021, 10: 56.
 111. Meriläinen L, Herranen A, Schwarzbach A, Gilbert L. Morphological and biochemical features of *Borrelia burgdorferi* pleomorphic forms. *Microbiology (Reading).* 2015, 161: 516-27.
 112. Mursic VP, Wanner G, Reinhardt S, Wilske B, Busch U, Marget W. Formation and cultivation of *Borrelia burgdorferi* spheroplast-L-form variants. *Infection.* 1996, 24: 218-26.
 113. Corak, et al. Pleomorphic variants of *Borrelia* (syn. *Borrelia*) *burgdorferi* express evolutionary distinct transcriptomes. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24: 5594.
 114. Rudenko N, Golovchenko M, Kybicova K, Vancova M. Metamorphoses of Lyme disease spirochetes: phenomenon of *Borrelia* persists. *Parasit Vectors.* 2019, 16: 237.
 115. Brorson O, Brorson SH. Transformation of cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to normal, mobile spirochetes. *Infection.* 1997, 25: 240-6.
 116. Brorson O, Brorson S. In vitro conversion of *Borrelia burgdorferi* to cystic forms in spinal fluid, and transformation to mobile spirochetes by incubation in BSK-H medium. *Infection.* 1998, 26: 144-150.
 117. 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, 5: 40.
 118. Dunham-Ems SM, Caimano MJ, Eggers CH, Radolf JD. *Borrelia burgdorferi* requires the alternative sigma factor RpoS for dissemination within the vector during tick-to-mammal transmission. *PLoS Pathog.* 2012, 8: e1002532.
 119. Tournier JP, Marcy PY, Perronne C, Lacout A. The importance of combined *Candida* & *Borrelia* biofilms in Lyme's disease and the value of ultrasound treatment: A medical hypothesis. *Medical Hypotheses.* 2025, 194, 111522.
 120. Brewer JH, Hooper D, Muralidhar S. Intranasal antifungal therapy in patients with chronic illness associated with mold and mycotoxins. *Glob J Medical Res: K Interdisciplinary.* 2015, 15.
 121. Brewer JH, Thrasher JD, Straus DC, Madison RA, Hooper D. Detection of mycotoxins in patients with chronic fatigue syndrome. *Toxins.* 2013, 5: 605-17.
 122. Schardt FW. Clinical effects of fluconazole in patients

- with neuroborreliosis. Eur J Med Res. 2004, 9: 334-6. PMID: 15337633.
123. Dolan SK, Duong AT, Whiteley M. Convergent evolution in toxin detection and resistance provides evidence for conserved bacterial-fungal interactions. Proc Natl Acad Sci USA. 2024, 121: e2304382121.
 124. Lacout A, Perronne C. Effect of flubendazole, with Jarish-Herxheimer reactions followed by cure, in a patient with a polymorphic persistent syndrome suggestive of chronic Lyme disease: a sign of parasitic disease. Archives Microbiol Immunology. 2024, 8: 96-100.
 125. Chronic Symptoms and Lyme Disease. <https://www.cdc.gov/lyme/signs-symptoms/chronic-symptoms-and-lyme-disease.html>
 126. Lacout A, El Hajjam M, Marcy PY, Perronne C. The Persistent Lyme Disease: "True Chronic Lyme Disease" rather than "Post-treatment Lyme Disease Syndrome". J Glob Infect Dis. 2018, 10: 170-171.
 127. Lacout A, Marcy PY, Perronne C. Patient with chronic Lyme disease and recurrent relapses, maintained in complete remission by low doses of metronidazole. Archives Microbiol Immunol. 2024, 8: 261-264.
 128. Kennedy AG. Differential diagnosis and the suspension of judgment. J Med Philos. 2013, 38: 487-500.
 129. Moutailler S, Valiente Moro C, Vaumourin E, Michelet L, Tran FH, Devillers E, Cosson JF, Gasqui P, Van VT, Mavingui P, Vourc'h G, Vayssier-Taussat M. Co-infection of ticks: the rule rather than the exception. PLoS Negl Trop Dis. 2016, 10: e0004539.
 130. Vayssier-Taussat M, Moutailler S, Féménia F, Raymond P, Croce O, La Scola B, Fournier PE, Raoult D. Identification of novel zoonotic activity of Bartonella spp., France. Emerg Infect Dis. 2016, 22: 457-62.
 131. Shaikh S, Timmaraju VA, Torres JP, Socarras KM, Theophilus PAS, Sapi E. Influence of tick and mammalian physiological temperatures on *Borrelia burgdorferi* biofilms. Microbiology (Reading). 2016, 162: 1984-1995.
 132. Svensson J, Hunfeld KP, Persson KEM. High seroprevalence of Babesia antibodies among *Borrelia burgdorferi*-infected humans in Sweden. Ticks Tick Borne Dis. 2019, 10: 186-190.
 133. Lacout A, Zedan A, Perronne C. After years of medical wandering, a diagnosis of chronic babesiosis saves a patient. Archives Microbiol Immunol. 2023, 7: 246-249.
 134. Cunha BA, Nausheen S, Szalda D. Pulmonary complications of babesiosis: case report and literature review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2007, 26: 505-8.
 135. Berghoff W. Chronic Lyme disease and co-infections: differential diagnosis. Open Neurol J. 2012, 6: 158-78.
 136. Krause PJ, Spielman A, Telford SR 3rd, Sikand VK, McKay K, Christianson D, Pollack RJ, Brassard P, Magera J, Ryan R, Persing DH. Persistent parasitemia after acute babesiosis. N Engl J Med. 1998, 339: 160-5.
 137. Krause PJ, Gewurz BE, Hill D, Marty FM, Vannier E, Foppa IM, Furman RR, Neuhaus E, Skowron G, Gupta S, McCalla C, Pesanti EL, Young M, Heiman D, Hsue G, Gelfand JA, Wormser GP, Dickason J, Bia FJ, Hartman B, Telford SR 3rd, Christianson D, Dardick K, Coleman M, Giroto JE, Spielman A. Persistent and relapsing babesiosis in immunocompromised patients. Clin Infect Dis. 2008, 46: 370-6.
 138. Vannier E, Gewurz BE, Krause PJ. Human babesiosis. Infect Dis Clin North Am. 2008, 22: 469-88, viii-ix.
 139. Martinot M, Paleau A, Greigert V, et al. Babésiose en France et en Europe: une pathologie à redéfinir. Med Mal Infect. 2018, 48: S112. French.
 140. Breitschwerdt EB, Maggi RG, Nicholson WL, Cherry NA, Woods CW. Bartonella sp. bacteremia in patients with neurological and neurocognitive dysfunction. J Clin Microbiol. 2008, 46: 2856-61.
 141. Maggi RG, Mozayeni BR, Pultorak EL, Hegarty BC, Bradley JM, Correa M, Breitschwerdt EB. Bartonella spp. bacteremia and rheumatic symptoms in patients from Lyme disease-endemic region. Emerg Infect Dis. 2012, 18: 783-91.
 142. Perronne C. Crypto-Infections: Denial, Censorship and Suppression of the Truth About What Lies Behind. London, Dublin, Hammersmith Health Books, 2021.
 143. Maltsev D, Solonko I, Sydorenko O. The assessment of microbial infection in children with autism spectrum disorders and genetic folate cycle deficiency. BMC Pediatr. 2024, 24: 200.
 144. Planche P, Botbol M. Lyme disease, autism spectrum disorder and antibiotic therapy: a case report. Annales Médico-psychologiques, revue psychiatrique, 171 2013 : 715.
 145. Offutt A, Breitschwerdt EB. Case report: substantial improvement of autism spectrum disorder in a child with learning disabilities in conjunction with treatment for poly-microbial vector borne infections. Front Psychiatry. 2023, 14: 1205545.
 146. Bransfield RC, Mao C, Greenberg R. Microbes and

- mental illness: past, present, and future. *Healthcare* (Basel). 2023, 12: 83.
147. Mangiola F, Ianiro G, Franceschi F, Fagioli S, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J Gastroenterol*. 2016, 22: 361-8.
 148. Bransfield RC, Wulfman JS, Harvey WT, Usman AI. The association between tick-borne infections, Lyme borreliosis and autism spectrum disorders. *Med Hypotheses*. 2008, 70: 967-74.
 149. Kuhn M, Grave S, Bransfield R, Harris S. Long term antibiotic therapy may be an effective treatment for children co-morbid with Lyme disease and autism spectrum disorder. *Med Hypotheses*. 2012, 78: 606-15.
 150. Arndt J, Charles YP, Koebel C, Bogorin I, Steib JP. Bacteriology of degenerated lumbar intervertebral disks. *J Spinal Disord Tech*. 2012, 25: E211-6.
 151. Granville Smith I, Danckert NP, Freidin MB, Wells P, Marchesi JR, Williams FMK. Evidence for infection in intervertebral disc degeneration: a systematic review. *Eur Spine J*. 2022, 31: 414-430.
 152. Gui GP, Thomas PR, Tizard ML, Lake J, Sanderson JD, Hermon-Taylor J. Two-year-outcomes analysis of Crohn's disease treated with rifabutin and macrolide antibiotics. *J Antimicrob Chemother*. 1997, 39: 393-400.
 153. Lacout A, Perronne C, Franck M. Prolonged treatment with ceftriaxone cures a patient with chronic Lyme disease. *Archives Microbiol Immunol*. 2024, 8: 10-14.
 154. Clarissou J, Song A, Bernede C, Guillemot D, Dinh A, Ader 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.
 155. Alvarez-Manzo HS, Zhang Y, Shi W, Zhang Y. Evaluation of disulfiram drug combinations and identification of other more effective combinations against stationary phase *Borrelia burgdorferi*. *Antibiotics*. 2020, 9: 542.
 156. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Anthelmintic Agents. 2021 Sep 24.
 157. Bharti C, Sharma S, Goswami N, Sharma H, Rabbani SA, Kumar S. Role of nitazoxanide as a repurposed drug in the treatment and management of various diseases. *Drugs Today (Barc)*. 2021, 57: 455-473.
 158. Horowitz RI, Fallon J, Freeman PR. Comparison of the efficacy of longer versus shorter pulsed high dose dapsone combination therapy in the treatment of chronic Lyme disease/post treatment Lyme disease syndrome with bartonellosis and associated coinfections. *Microorganisms*. 2023, 11: 2301.
 159. Shamir ER, Warthan M, Brown SP, Nataro JP, Guerrant RL, Hoffman PS. Nitazoxanide inhibits biofilm production and hemagglutination by enteroaggregative *Escherichia coli* strains by blocking assembly of AafA fimbriae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010, 54:1526-33.
 160. Berende A, ter Hofstede HJ, Vos FJ, van Middendorp H, Vogelaar ML, Tromp M, van den Hoogen FH, Donders AR, Evers AW, Kullberg BJ. Randomized trial of longer-term therapy for symptoms attributed to Lyme disease. *N Engl J Med*. 2016, 374: 1209-20.
 161. Pound MW, May DB. Proposed mechanisms and preventative options of Jarisch-Herxheimer reactions. *J Clin Pharm Ther*. 2005, 30: 291-5.
 162. Pound MW, May DB. Proposed mechanisms and preventative options of Jarisch-Herxheimer reactions. *J Clin Pharm Ther*. 2005, 30: 291-5.
 163. Klempner MS, Hu LT, Evans J, Schmid CH, Johnson GM, Trevino RP, Norton D, Levy L, Wall D, McCall J, Kosinski M, Weinstein A. Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. *N Engl J Med*. 2001, 345: 85-92.
 164. Bransfield R, Brand S, Sherr V. Treatment of patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. *N Engl J Med*. 2001, 345: 1424-5
 165. Donta ST. Treatment of patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. *N Engl J Med*. 2001, 345: 1424; author reply 1425.
 166. Brorson O, Brorson SH. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to tinidazole. *Int Microbiol*. 2004, 7: 139-42.
 167. 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.
 168. Karlsson M, Hammers S, Nilsson-Ehle I, Malmberg AS, Wretling B. Concentrations of doxycycline and penicillin G in sera and cerebrospinal fluid of patients treated for neuroborreliosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996, 40: 1104-7.
 169. Dotevall L, Hagberg L. Penetration of doxycycline into cerebrospinal fluid in patients treated for suspected

- Lyme neuroborreliosis. Antimicrob Agents Chemother. 1989, 33: 1078-80.
170. Ginanjar E, Sumariyono, Setiati S, Setiyohadi B. Vitamin D and autoimmune disease. Acta Med Indones. 2007, 39: 133-41.
171. Newby, K. Bitten: the secret history of Lyme disease and biological weapons. New York, NY, Harper Wave, 2019.
172. J. Luché-Thayer, C. Perronne, C. Meseko. Obstruction to treatments meeting international standards for Lyme and relapsing fever borreliosis patients. World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Law and Political Sciences 2018; Vol:12, No:6
173. Davidsson M. The financial implications of a well-hidden and ignored chronic Lyme disease pandemic. Healthcare (Basel). 2018, 6: 16.
174. Willems R, Verhaeghe N, Perronne C, Borgermans E, Annemans L. Cost of illness in patients with post-treatment Lyme disease syndrome in Belgium. Eur J Pub Health. 2023, 33: 668-74.