

Antibiotica en Esperanto

Is een effectievere behandeling van Lymeziekte mogelijk?

door drs. Niek Haak (biochemicus)

illustraties: Marianne Geugjes, Marja Visser, Niek Haak



Borrelia burgdorferi (Bb), de spirocheet die de ziekte van Lyme veroorzaakt, is een bijzondere bacterie. In mijn artikel over lymetesten ¹ is een aantal zaken achterwege gelaten die voor de testproblematiek minder belangrijk zijn, maar die wel relevant zijn voor behandeling van (vooral de chronische vorm van) Lymeziekte. Dit artikel is vooral gebaseerd op microbiologisch en biochemisch onderzoek, aangezien medisch onderzoek ten aanzien van Lymeziekte tot nu toe weinig oplevert. Deze informatie bevat geen behandelingsadvies, maar is bedoeld om aan te geven op welke punten wetenschappelijk onderzoek wellicht nieuwe perspectieven kan bieden.

De standaardbehandeling voor Lymeziekte is, zoals bij veel infectieziekten, het gebruik van antibiotica om de ziekteverwekker *Borrelia* te elimineren. We bekijken de mogelijkheden en beperkingen van antibiotica en twee technieken die in de toekomst wellicht gebruikt kunnen worden: *quorum sensing* en *bacteriofagen*. Op dit moment wordt op beperkte schaal geëxperimenteerd met deze technieken voor bestrijding van infecties (echter niet specifiek voor gebruik bij Lymeziekte). Of en hoe snel dergelijk onderzoek nieuwe behandelmethodes gaat opleveren valt meestal moeilijk te voorspellen. Er bestaan nog allerlei andere behandelingen voor Lymeziekte, maar de meeste daarvan zijn 'alternatief', uit wetenschappelijk oogpunt valt er weinig zinnigs over te zeggen.

Werking van antibiotica

Antibiotica (AB) zijn stoffen afkomstig uit de natuur (ontstaan uit de chemische oorlog die overal in de natuur woedt en gemaakt door bijvoorbeeld schimmels), die de groei van micro-organismen kunnen remmen¹. Moderne antibiotica worden meestal chemisch geproduceerd en zijn hooguit kleine variaties op een bestaand natuurproduct. Antibiotica hebben een bactericide (bacteriedodend) of bacteriostatische werking (remt de groei, maar doodt de bacterie niet). Beide types antibiotica kunnen gebruikt worden om een infectie te bestrijden. Antibiotica blokkeren essentiële processen van de bacterie, bijvoorbeeld de bouw van de celwand (bèta-lactam antibiotica zoals

penicilline), de eiwitsynthese (nodig voor o.a. groei; geblokkeerd door macroliden zoals clarithromycine) of de DNA-replicatie (nodig bij vermenigvuldiging; geblokkeerd door fluoroquinolones zoals Cipro). Antibiotica werken alleen als hun doelwit aanwezig/actief is, dus als de bacterie een celwand heeft, of als er groei of vermenigvuldiging optreedt. Bactericide antibiotica hebben nog een tweede werkingsmechanisme, namelijk beschadiging van bacterieel DNA ². In theorie werken antibiotica alleen tegen bacteriën en niet tegen menselijke cellen, schimmels of virussen omdat die biochemisch anders in elkaar zitten. In de praktijk zijn medicijnen zelden 100% specifiek en dat geldt ook voor antibiotica.

Voor een voldoende sterk effect van de antibiotica kan een hoge dosis gewenst zijn, maar in de praktijk treden dan soms te sterke bijwerkingen op voor de patiënt. Meestal gaat het om algemene bijwerkingen: allergische reacties, verhoogde lichtgevoeligheid van de huid, belastend voor lever of nieren, aantasting van de aders, enzovoort. Een ander bekend effect is verstoring van in het lichaam aanwezige micro-organismen zoals de darmflora; ik kom daar later nog op terug. Het is dus de kunst om de juiste balans te vinden tussen de gewenste werking van de antibiotica (het doden van de ziekteverwekker) en de ongewenste bijwerkingen.

Borrelia en antibiotica

Borrelia kijkt aanzienlijk af van de bacteriën waarmee medici normaal te maken hebben. De meeste informatie over gevoeligheid van Bb voor antibiotica is afkomstig van *in vitro* experimenten en dat zegt weinig over eigenschappen in de mens, waar Bb zich vaak heel anders gedraagt dan in een reageerbuis ^{3,4}.



We weten nog weinig over de bestrijding van *Borrelia* met antibiotica, maar er zijn wel enkele redenen te noemen waarom antibiotica bij *Borrelia* minder goed werken dan bij 'gewone' bacteriën:

* *Borrelia* is een *trage groeier*, de generatietijd is 7-20 uur wat vele malen langer is dan bij normale bacteriënⁱⁱ. Dit kan betekenen dat antibiotica voor hetzelfde effect véél langer gebruikt moeten worden dan bij andere bacteriën, bijvoorbeeld 3-6 maanden of langer in plaats van de normale 1-2 weken. Ook de regelmatige wisseling van antigenen, waardoor *Borrelia* zich aan de afweer onttrekt, kan een argument zijn voor langdurige AB-behandeling⁴.

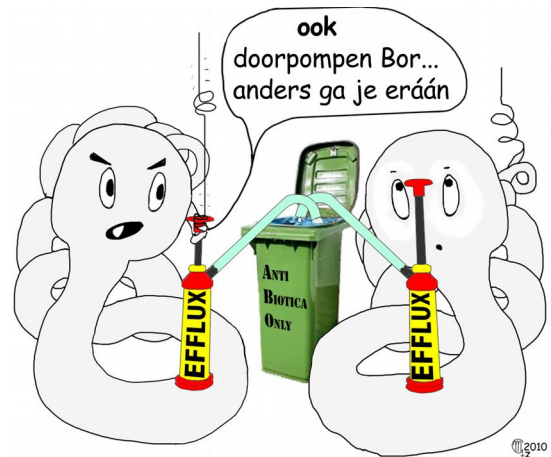
* *Borrelia* kan zich *verstoppen* in diverse soorten weefsels en binnenin vele soorten lichaamscellen waar ze niet of slechter bereikbaar zijn voor antibiotica en voor het afweersysteem. Zo is al lang bekend dat Bb een voorkeur heeft voor bindweefsel, waar de spirocheet zich vrijwel onzichtbaar en onkwetsbaar tussen de collageenvezels nestelt^{5,6}.

* *Borrelia* kan overgaan in diverse *afwijkende levensvormen*⁷⁻¹⁰ die niet of minder gevoelig zijn voor bepaalde antibiotica, zoals de cysten (relatief inactief), CWD/L-vorm (zonder celwand) en granules. Ontstaan van deze afwijkende vormen wordt gestimuleerd door het gebruik van antibiotica en is een variatie op een algemeen mechanisme bij bacteriën van bescherming tegen ongunstige omstandigheden^{8,9,11,12}. Bij gebruik van een remmer van de celwand kan *Borrelia* bijvoorbeeld overgaan in een celwandloze L-vorm, en bij gebruik van een remmer van de eiwitsynthese in een relatief inactieve cyste-vorm. Het risico bestaat daarbij dat de overlevingsvorm nog schadelijker of hardnekkiger is dan de normale spirocheetvorm. Met name L-vormen worden gezien als een mogelijke factor bij chronische ziekteprocessen^{9,13}. Sommige van de afwijkende Bb-vormen zijn aan te pakken met andere middelen dan de standaard antibiotica, bijvoorbeeld 'cystbusters' zoals metronidazol / tinidazol en plaquenil (hydroxychloroquin). Over de effectiviteit en het werkingsmechanisme van cystbusters is nog minder bekend dan over die van traditionele antibiotica tegen de spirocheetvorm van *Borrelia*. Gebruik is vooral gebaseerd op een beperkt aantal *in vitro* studies¹⁴⁻¹⁶ en deze middelen moeten dus als 'experimenteel' beschouwd worden.

Biofilms en effluxpompen

Behalve de bovenstaande factoren, die tot op zekere hoogte uniek zijn voor *Borrelia*, moeten we rekening houden met andere mechanismen die bacteriën gebruiken om zich tegen antibiotica te beschermen, zoals biofilms, effluxpompen en mutaties die de bacterie resistent maken tegen antibiotica.

Biofilms zijn kolonies van bacteriën met een bescherm laag en specialisatie voor bepaalde functies, zoals het onschadelijk maken van antibiotica. Ze lijken een belangrijke factor bij het falen van antibioticabehandelingen^{12,17-19}. Een biofilm bevat vaak meerdere (soms honderden) soorten bacteriën en lijkt meer op een primitief weefsel dan op een verzameling eencelligen. Naar *Borrelia* biofilms is nog weinig onderzoek gedaan, maar wie de foto's van Alan MacDonald bekijkt²⁰ kan niet twijfelen dat ze bestaan. Verderop in het artikel zullen we een nieuwe mogelijkheid bespreken om biofilms aan te pakken.



Veel bacteriën, waaronder *Borrelia*, hebben van nature een zekere bescherming tegen antibiotica via *effluxpompen*,²¹⁻²³ die schadelijke stoffen vrolijk weer naar buiten pompen wanneer ze gesignaleerd worden. Bij ziekteverwekkende bacteriën dienen deze pompen waarschijnlijk als bescherming tegen schadelijke stoffen die afkomstig zijn van de gastheer²⁴. In biofilms worden sommige bacteriën extra effectief in het 'wegpompen' van antibiotica. Daardoor kan, vergeleken met vrij levende bacteriën, een veel hogere concentratie antibiotica (soms wel 1000x hoger) nodig zijn om alle bacteriën in de biofilm te doden.

In recent onderzoek wordt daarom geprobeerd om traditionele antibiotica te combineren met een zgn. effluxpomp-remmer, waardoor de effectiviteit van de antibiotica veel beter zou moeten worden. Het eerste resultaat was *tigecycline*, een variant op de bekende tetracyclines. Hiermee wordt een aantal van de door bacteriën ontwikkelde AB-resistentie mechanismen, waaronder de effluxpomp, geblokkeerd, zodat ze ook effectief zijn tegen 'multidrug-resistente' bacteriën. Helaas bleek bij de eerste studies naar gebruik van *tigecycline* tegen *Borrelia* (bij muizen) dat ook bij dit middel een deel van de *Borrelia*'s de behandeling overleeft^{10,25}. Dit ondanks het feit dat *tigecycline* behalve tegen *Borrelia*-spirocheten ook tegen de cyste-vormen lijkt te werken. Het is de vraag of het enthousiasme in de medische pers over effluxpomp-remmers terecht is.

Bedenk dat de talloze publicaties op dit gebied sterk door commerciële belangen beïnvloed worden. Aan gewone antibiotica wordt weinig verdiend (de patenten zijn vaak al verlopen en antibiotica zijn simpel te produceren). Effluxpomp-remmers zijn nieuw en wél te patenteren en kunnen daarom veel geld opleveren, ook als ze in de praktijk nauwelijks beter werken dan de traditionele antibiotica.

Antibiotica resistentie

Bij de discussie en regelgeving rondom antibioticagebruik bij Lymeziekte speelt het risico van ontwikkeling van resistentie een rol. Door overmatig gebruik van antibiotica, aanvankelijk voor medische toepassingen en nu vooral in de intensieve veehouderij, zijn overal in het milieu bacteriën te vinden die resistent geworden zijn tegen traditionele antibiotica. Dit is een ernstig medisch probleem, want we zijn steeds meer afhankelijk geworden van antibiotica en ontwikkeling van nieuwe antibiotica blijkt zeer moeilijk. De meest resistente bacteriën zijn te vinden op plaatsen waar grote hoeveelheden van diverse soorten antibiotica gebruikt worden, zoals ziekenhuizen en varkensstallen.

Deze vorm van antibioticaresistentie ontstaat door een evolutionair proces en heeft een genetische basis. Een bacterie kan globaal op drie manieren resistent worden: de antibiotica wordt afgebroken, de antibiotica wordt weer naar buiten gepompt of het doelwit van de antibiotica wordt gewijzigd, verwijderd of onbereikbaar gemaakt²⁶. Wanneer bijvoorbeeld antibiotica gebruikt wordt die de eiwitfabriek van de bacterie stillegt, dan kunnen 'toevallig' gemuteerde bacteriën ontstaan met een afwijkende eiwitfabriek, die geen last hebben van dit type antibiotica. De nieuwe variant zal dan een groot selectievoordeel hebben ten opzichte van de oorspronkelijke versie van de bacterie en zich snel vermenigvuldigen: de bacterie is resistent geworden doordat het doelwit van de antibiotica gewijzigd is. Veel van deze resistente mutaties zijn, net als de antibiotica zelf, van natuurlijke oorsprong^{27, 28}. Introductie van grote hoeveelheden antibiotica in het milieu in de afgelopen decennia heeft ontstaan en verspreiding van (meervoudig) AB-resistente bacteriestammen gestimuleerd. Bacteriën kunnen

zich snel vermenigvuldigen en onderling genetische informatie, bijvoorbeeld voor de bouw van een effluxpomp, uitwisselen. Plasmidenⁱⁱⁱ spelen daarbij een belangrijke rol; deze uitwisseling van informatie is ook mogelijk met heel andere bacteriesoorten^{29, 30}. Bij bactericide antibiotica kan de in de bacterie veroorzaakte DNA-schade een extra factor zijn bij het ontstaan en verspreiden van AB-resistentie^{2, 31, 32}.

Borrelia heeft van nature al enige resistentie tegen diverse soorten antibiotica^{3, 4} en kan via de vele plasmiden in principe makkelijk AB-resistentie verwerven van andere bacteriën³³⁻³⁵. Vanwege de trage groei lijkt ontwikkeling van nieuwe resistente Borrelia-stammen niet de grootste zorg. Bij *in vitro* experimenten is dergelijke resistentie ontwikkeling wel gevonden, maar in de praktijk bieden de Bb-overlevingsvormen ook al de nodige bescherming tegen antibiotica. En hoewel Borrelia zich in de gastheer snel aanpast is nooit vastgesteld dat de bacterie in de patiënt, onder invloed van antibioticagebruik, AB-resistent werd. Als Borrelia erfelijk resistent blijkt tegen de gebruikte AB, dan was die resistentie al aanwezig voordat de patiënt besmet raakte³⁶. Zelfs als een Borrelia door de behandeling wél erfelijk resistent zou worden is het de vraag of deze mutatie ooit in het milieu terecht komt, aangezien de bacterie niet buiten een gastheer kan overleven. Ontwikkeling van andere AB-resistente bacteriestammen in de patiënt, als gevolg van langdurig AB-gebruik, is wél een potentieel medisch risico dat moet worden afgewogen tegen de voordelen van de behandeling.

Beperking van antibioticagebruik is dringend gewenst, maar het ligt dan voor de hand te beginnen bij de sector waar het meeste gebruikt wordt en die de meeste schade veroorzaakt: de intensieve veehouderij. Terwijl antibioticagebruik daar nog steeds de spuigaten uitloopt (voor versnelde groei, zonder goede medische redenen) is het merkwaardig dat men gebruik voor ernstig zieke mensen zoals Lyme-patiënten probeert te beperken. Bovendien is langdurig antibioticagebruik bij diverse andere ziektes wél geaccepteerd: zelfs voor relatief onschuldige problemen zoals acne wordt soms maandenlang antibiotica verstrekt.



Microbiome

Antibiotica doden ook andere, goedaardige bacteriën. Eén van de belangrijke uitkomsten van het onderzoek naar de menselijke genetica van de afgelopen jaren is de realisatie dat de mens een *superorganisme* is, een samenwerkingsverband tussen de mens en duizenden verschillende soorten micro-organismen waarbij de laatste in aantal de menselijke cellen verregaand overtreffen. We vinden deze micro-organismen niet alleen in onze ingewanden, op de huid en in lichaamsholtes, maar ook op allerlei plaatsen diep in het menselijk lichaam. Bacteriën kunnen ziekte veroorzaken, maar ze hebben ook nuttige of zelfs essentiële functies onder andere voor ons afweersysteem en de spijsvertering^{37,38}. Langdurige AB-kuren kunnen grote invloed hebben op het *microbiome*, het ecologisch verband van micro-organismen en menselijke cellen in bijvoorbeeld de darm. Dit kan stofwisseling en immuunsysteem verstoren, of aanleiding geven tot hardnekkige darminfecties van micro-organismen die normaal geen problemen veroorzaken, zoals Clostridium of Candida.

Dit bijeffect van antibiotica is enigszins tegen te gaan door gebruik van *probiotica*, pillen of drankjes met bacteriën die veel voorkomen in onze darm. De normale microflora in de darm bestaat uit meer dan duizend verschillende soorten micro-organismen. Aanvullen van enkele van de bekendste bacteriën via probiotica zal dus nooit volledig de oorspronkelijke balans kunnen herstellen. Bovendien kan de microflora per persoon sterk verschillen, de effecten van het gebruik van een AB-kuur of probiotica zijn daarom niet geheel voorspelbaar. Naarmate we meer leren over het microbiome zal probiotica vast een rol gaan spelen bij bestrijding van ziektes^{38,39}.

Hoe effectief is antibiotica bij Lymeziekte?

We noemden al diverse vooral theoretische beperkingen bij gebruik van antibiotica tegen Borrelia. Hoe effectief zijn antibiotica eigenlijk in de praktijk voor behandeling van Lymeziekte? De meningen hierover zijn sterk verdeeld en harde gegevens zijn schaars.

Antibiotica lijkt bij Lymeziekte vooral effectief kort na de besmetting, maar naarmate de besmetting langer geleden is neemt de onzekerheid toe. Deze onzekerheid is mede gevolg van gebrekigheid van de bestaande lymetesten^{1,40,41}. De ervaring leert dat bij chronische Lymeziekte klachten vaak blijven of terugkomen na afloop van een AB-kuur, ook bij de intensieve AB kuren van ILADS artsen^{4,42}. Duidelijk is dat er nog geen AB-behandeling is die herstel van Lymeziekte garandeert. Dat patiënten

zich na een AB-kuur soms (tijdelijk?) beter voelen zegt weinig over de effectiviteit van de behandeling, want we weten niet wat het resultaat zonder de AB-kuur geweest zou zijn. Een extra complicatie bij het beoordelen van de effectiviteit is dat antibiotica soms *gunstige* neveneffecten hebben die los staan van de eigenlijke 'anti-biotische' werking en die dus kunnen zorgen dat de patiënt zich tijdelijk beter voelt, ook als de bacterie zelf onvoldoende wordt aangepakt. Veel antibiotica, waaronder het bij Lymeziekte vaak gebruikte doxycycline, hebben een ontstekingsremmende werking⁴³. Ceftriaxon (Rocephin) heeft bovendien invloed op het glutamaat metabolisme^{iv} in de hersenen⁴⁴. Sommige Macrolide antibiotica (onder andere Azithromycine, Clarithromycine) hebben een remmende invloed op *quorum sensing* (zie de paragraaf over bacterie-Esperanto verderop in dit artikel).

Het enige brede onderzoek naar 'langdurige' AB-behandeling van chronische Lymeziekte⁴⁵ was zo slecht van opzet en analyse dat het direct de prullenbak in kan. Helaas zijn de behandelrichtlijnen in zowel de VS als in Nederland in sterke mate door dit onderzoek beïnvloed. Uit experimenten met proefdieren blijkt dat, zelfs bij langdurig gebruik van hoge concentraties antibiotica, Bb-spirocheten en andere levensvormen zoals cysten in het weefsel aanwezig blijven^{46,47}. Na stopzetten van de antibioticakuur neemt het aantal spirocheten na verloop van tijd weer toe, waarbij de ziekte opnieuw kan toeslaan. Talloze publicaties en ervaringen (meestal van individuele gevallen) wijzen erop dat voor mensen hetzelfde geldt. De opvatting van veel artsen dat een standaard antibioticakuurtje van enkele weken voldoende is om van een Borreliabesmetting af te komen, is in het algemeen dus zeker onjuist.



DE AB-BOM



Persistentie (het overleven van een antibioticakuur waarvoor de bacterie van nature *niet* resistent is) lijkt bij *Borrelia* een algemeen verschijnsel. Waarschijnlijk is dit vooral een gevolg van de Bb stealth technologie¹ (afwijkende levensvormen, verstoppen in weefsels/cellen/biofilms, ontwijken en onderdrukken van het afweersysteem). Misschien is het succes van de AB-kuur vooral afhankelijk van toevalsfactoren zoals de Bb-stam waarmee de patiënt besmet is, aanwezigheid van tekenbeet co-infecties of eigenschappen van de patiënt zoals kwaliteit van het afweersysteem. Dit zou veel ouder onderzoek naar onder andere antibioticabehandeling van Lymeziekte en lymetesten op losse schroeven zetten. Een nauwkeurige bepaling van de Bb-stam waarmee de patiënt besmet is en controle op tekenbeet co-infecties (bijvoorbeeld via PCR-test en bloedmicroscopie) zou kunnen helpen om hierover meer duidelijkheid te krijgen.

De beschreven problemen betekenen *niet* dat antibiotica niet werkt tegen *Borrelia*. Het kan wél verklaren waarom korte AB-kuren en langere 'simpele' kuren, soms weinig blijvend effect hebben. Er is een uitgekende strategie nodig om te voorkomen dat *Borrelia* na stoppen van de AB-kuur weer actief wordt. Bij gebrek aan harde gegevens lijkt het beste advies voorlopig experimenteren om een optimaal resultaat te bereiken^{41, 42, 48}. Omdat gevoeligheid voor antibiotica bij *Borrelia* per soort/stam kan verschillen^{3, 42}, is het de moeite waard een ander middel te proberen als de behandeling niet effectief blijkt. Verder valt te denken aan het combineren, pulseren en roteren van diverse soorten antibiotica⁴², combineren met cystbusters, gebruik van effluxpomp remmers en van stoffen die inwerken op biofilms.

Shock-and-Awe

Bij langdurige AB-behandeling bestaat zoals we al zagen het risico dat de ziekteverwekker zich 'ingraaft' en dat schade ontstaat aan goedaardige micro-organismen. Ook kunnen Bb-varianten ontstaan die mogelijk schadelijker zijn voor de patiënt. In dit verband zou je langdurig gebruik van

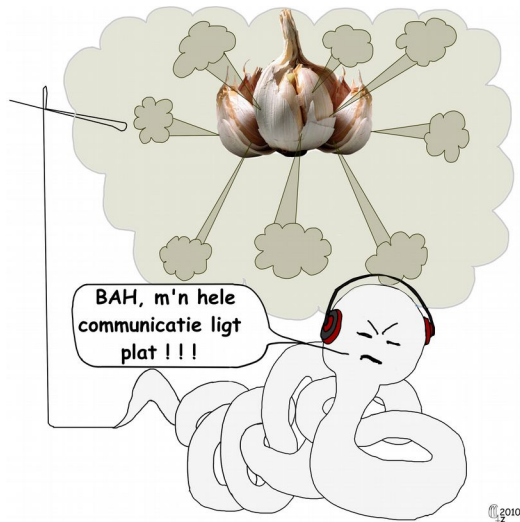
hoge doses antibiotica kunnen vergelijken met de Amerikaanse 'Shock-and-Awe' benadering in Irak. Het lijkt aantrekkelijk om met grof geweld het probleem in één keer op te lossen, maar de werkelijkheid is vaak weerbarstig. Het probleem kan zo ook erger worden, waarbij steeds meer geweld nodig is om 'de klus te klaren' en het risico dreigt van 'operatie geslaagd, patiënt overleden'.

Wellicht is een 'positieve' benadering (opbouw missie?) dan effectiever: de behandeling concentreren op beperken van al aangerichte schade en het stimuleren van de herstellende werking van het eigen lichaam. Dit is helaas iets waar de westerse geneeskunde niet in uitblinkt en waarvoor je eerder moet kijken naar niet-westerse, holistische benaderingen zoals *herbal medicine*. Helaas weten we nog niet goed waarom mensen soms zo ziek worden door *Borrelia* en/of hoe we dit kunnen beïnvloeden; hiervoor is meer onderzoek nodig.

Om de vergelijking met Shock-and-Awe nog wat verder door te trekken, kun je je ook nog afvragen of we in deze oorlog wel de juiste boosdoeners op de korrel nemen, maar dat is een onderwerp voor een andere keer. Nu Shock-and-Awe lijkt te falen wordt het tijd om de dialoog te zoeken en recente ontwikkelingen maken dat ook mogelijk.

Bacterie-Esperanto

Een mogelijk alternatief voor of aanvulling op antibiotica is het gebruik van nieuwe technieken gebaseerd op *quorum sensing* (QS), een relatief nieuw onderzoeksgebied dat een stormachtige ontwikkeling doormaakt^{49, 50}. QS is een communicatiesysteem dat vele bacteriesoorten gebruiken om hun activiteiten te coördineren. Deze communicatie is gebaseerd op biochemische stoffen die *autoinducers* genoemd worden en die enigszins vergelijkbaar zijn met hormonen en feromonen bij hogere organismen. Zodra het aantal bacteriën een bepaalde grens overschrijdt gaan ze zich dankzij QS gedragen als een collectief, een meercellig organisme, in plaats van als individuele bacteriën (vergelijk mier vs. mierenleger).



QS wordt onder andere gebruikt bij het vinden van voedingsstoffen, vorming van biofilms, celdeling, uitwisseling van plasmiden, overgang naar andere pleomorfe vormen, productie van toxines en reageren op het afweersysteem van de gastheer, allemaal zaken die bij Lymeziekte een rol spelen.

Bij andere ziekteverwekkende bacteriën speelt QS een belangrijke rol voor hun *virulentie* (schadelijkheid voor de patiënt). QS bestaat in een aantal versies ('talen'), waarvan sommige ook tussen heel verschillende bacteriesoorten werken, als een soort '*bacterieel Esperanto*'. Sommige vormen van QS werken zelfs tussen bacteriën en plantaardige of dierlijke cellen en kunnen gebruikt worden om bijvoorbeeld het immuunsysteem van de gastheer uit te schakelen, wat een persistente infectie door de bacterie bevordert. Anderzijds kunnen hogere organismen stoffen maken die QS beïnvloeden. Dit kan dienen voor het tegengaan van schadelijke micro-organismen, maar ook voor het aangaan van een symbiotische relatie zoals bij de stikstofbinding door wortelknolletjes in planten, of bij de microflora in onze darm. In de natuur is sprake van een ware slag op het gebied van informatie en communicatie, waarvan we de eerste beginselen net ontdekt hebben.

Beïnvloeding van QS biedt fascinerende perspectieven bij bestrijding van infectieziekten⁵⁰⁻⁵⁴. Eén van de vele mogelijkheden is het tegengaan van biofilms door verstoring van QS. Een effectief middel om quorum sensing te verstoren is al lang bekend, namelijk knoflook⁵⁵⁻⁵⁷ (u wist vermoedelijk al dat knoflook soms de communicatie hindert ...). Knoflook kan daarom helpen tegen infecties van antibiotica-resistente bacteriën en de werking van antibiotica tegen biofilms versterken (of dit ook voor *Borrelia* infecties geldt is niet bekend).

Er zijn ongetwijfeld andere plantaardige en relatief onschadelijke stoffen te vinden met vergelijkbare effecten. Recent werd bijvoorbeeld ontdekt dat diverse kruiden uit de Ayurvedische geneeskunde, onder andere de bij het Buhner protocol^v gebruikte

andrographis en ginseng, een sterk remmende werking hebben op QS en op deze manier kunnen helpen bij de bestrijding van infectieziekten. Interessant is dat ook sommige macrolide antibiotica QS kunnen remmen; dit zou een factor kunnen zijn bij de effectiviteit van macrolide combinatietherapie voor Lymeziekte, zoals onder andere door lymespecialist Donta geadviseerd wordt.

Een andere optie is om bacteriën zo te beïnvloeden dat ze minder schade veroorzaken. QS zorgt dat er behalve een genetische evolutie ook een 'sociale' evolutie plaatsvindt. Sommige onderzoekers zien daarin mogelijkheden om infectieziekten te bestrijden via bijvoorbeeld het terugdraaien van AB-resistentie of het introduceren van 'therapeutische' (goedaardige) versies van de bacterie⁵⁴. Vergeleken met antibiotica kan QS selectiever gebruikt worden. Een belangrijk voordeel van QS is ook dat de bacteriën niet gedood worden, waardoor er minder kans is op de ontwikkeling van erfelijke resistentie. Natuurlijk is ook onderzoek nodig naar eventuele schadelijke bijeffecten, dus het zal nog wel even duren voordat QS op grote schaal in de reguliere medische praktijk gebruikt wordt. En laten we hopen dat niet opnieuw de landbouwsector door grootschalig misbruik de situatie bederft.

In de reageerbuis gedraagt *Bb* zich heel anders dan in een gastheer, wat onderzoek naar QS bemoeilijkt. We weten inmiddels dat *Borrelia* over een QS-systeem^{vi} beschikt^{58,59}. Of dit systeem ook echt voor communicatie gebruikt wordt is nog niet zeker, de betreffende chemische stoffen kunnen ook een ander doel hebben. Als *Borrelia* inderdaad QS gebruikt dan biedt dit mogelijkheden om de bacterie (en wellicht ook sommige tekenbeet co-infecties) gericht aan te pakken, in plaats van de botte bijl methode van een zware antibioticakuur. Onderzoek naar QS is de laatste jaren in een stroomversnelling geraakt; we gaan hier ongetwijfeld meer van horen.



Profaag

Een ander middel om bacteriën te bestrijden is de bacteriofaag, een virus dat bacteriecellen gebruikt om zich te vermenigvuldigen en daarbij meestal de dood van de bacterie veroorzaakt. Bacteriofagen bestaan in talloze variaties, vaak zijn ze specifiek voor één bepaald soort bacterie. In het Oostblok werd in het verleden gebruik gemaakt van bacteriofagen voor bestrijding van bacteriële infecties.

Over de mogelijkheden is nog relatief weinig bekend, vooral omdat tot voor kort antibiotica een veel makkelijkere en goedkopere oplossing leek. Sinds de beperkingen van antibiotica duidelijk zijn geworden, is er ook vanuit de medische hoek weer interesse in bacteriofagen ⁶⁰⁻⁶².

Borrelia heeft behalve een lineair chromosoom dat de meeste erfelijke eigenschappen bevat, een groot aantal plasmiden ^{1,34}. Een aantal van deze plasmiden, type cp32, komt voor bij alle Borrelia-soorten die Lymeziekte of relapsing fever veroorzaken. Meestal zijn zelfs meerdere varianten aanwezig, wat er op wijst dat dit plasmide belangrijk is. Cp32 bevat genen die een belangrijke rol spelen bij het ontwijken/onderdrukken van het complement systeem, een deel van de afweer ⁶³.

Het cp32 plasmide is een *profaag*: het bevat een DNA-recept voor het maken van een bacterievirus ^{59,64-67}. Dit virus, phiBB-1, kan onder de juiste omstandigheden geactiveerd worden. Normaal wordt bij sommige Bb-stammen het virus in kleine hoeveelheden geproduceerd. Het is niet bekend of de profaag een rol speelt bij de ziekteverwekkende eigenschappen van Borrelia. Er zijn wel aanwijzingen dat de profaag ook in de gastheer actief kan worden, dus het zou goed zijn om hiermee rekening te houden. Bij activering van de profaag wordt behalve het virus zelf, een eiwit gemaakt dat gaten maakt in de celmembranen van Borrelia en zo de dood van de bacterie veroorzaakt. De profaag wordt geactiveerd bij beschadiging van het DNA van Borrelia, als gevolg van bijvoorbeeld veroudering of door stoffen ⁶⁷⁻⁷⁰ zoals metronidazol (Flagyl, bij Lymeziekte gebruikt als 'cystbuster') en sommige antibiotica.

Profagen komen vaker voor, met name bij ziekteverwekkende bacteriën (ook bij andere spirochetes zoals Treponema en Leptospira), meestal overigens in een versie die niet meer geactiveerd kan worden. Profagen spelen een belangrijke rol bij het uitwisselen van erfelijke eigenschappen tussen bacteriën (en soms zelfs tussen bacteriën en plantaardige of dierlijke cellen) en bij de vorming van biofilms, factoren die antibiotica resistentie bevorderen ^{69, 71, 72}.



© 2010

Virussen zijn relatief eenvoudig te wijzigen, er wordt vaak dankbaar gebruik van gemaakt bij genetisch onderzoek. Wellicht kan dit in de toekomst gebruikt worden om Borrelia effectief én selectief aan te pakken; het basisrecept is immers al aanwezig in de vorm van de profaag. Vergelijkbare technieken zijn al experimenteel getest met andere bacteriën ⁷³.

I, virus

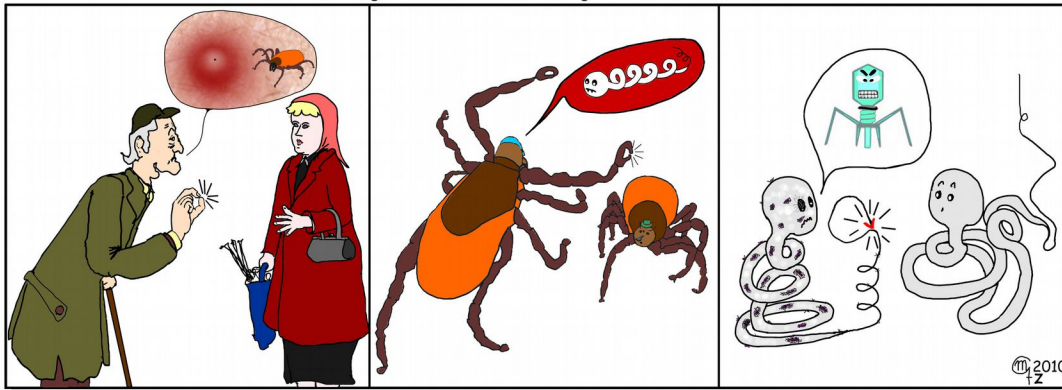
Mogelijk heeft de Borrelia-profaag ook te maken met een andere opmerkelijke ontdekking. Alan MacDonald onderzoekt al jaren de rol van Borrelia bij het ontstaan van Alzheimer. Hij vond bij autopsies van Alzheimerpatiënten dat stukjes Borrelia DNA waren ingebouwd in het DNA van menselijke zenuwcellen ⁷⁴: *transfection* (een wijziging van de eigenschappen van een cel door inbouw van vreemd DNA). Transfection kan onder andere veroorzaakt worden door een profaag en zou (mede) een verklaring kunnen zijn voor chronische klachten en 'auto-immuniteit' bij Lymeziekte: een bizarre vorm van auto-immuniteit, met Borrelia DNA ingebouwd in je eigen DNA. Het zou interessant zijn het onderzoek van MacDonald te herhalen met weefsel van bijvoorbeeld Lymeziekte en MS-patiënten. Deze ontdekking vormt tegelijk een waarschuwing bij het experimenteren met de Bb-profaag en wellicht ook bij gebruik van middelen zoals Flagyl.



TRANSFECTION

© 2010

klein, kleiner, kleinst



Het onderzoek van MacDonald is speculatief, maar het geeft aan hoe complex het probleem Lymeziekte wellicht is. Vergelijkbare mechanismes zijn verondersteld als oorzaak van bepaalde vormen van schizofrenie en MS ⁷⁵. Naar schatting is minstens 8 procent van het menselijk DNA afkomstig van virussen, een aanwijzing dat dit soort genetische 'schade' op een evolutionaire tijdschaal vaker voorkomt en een belangrijk mechanisme in de evolutie is. Een recent artikel over dit onderwerp luidt toepasselijk: *I, virus: Why you're only half human* ⁷⁶. Eventuele 'sabotage' door een van Borrelia afkomstig virus is dus niet zo bijzonder. Sommige wetenschappers zoals Lynn Margulis denken zelfs dat belangrijke structuren in onze cellen evolutionair afkomstig zijn van voorouders van de spirocheten ⁹, ⁷⁷. Zo'n erfelijke verwantschap zou een factor kunnen zijn bij onze gevoeligheid voor transfection met spirocheet DNA en het optreden van kruisreacties ^{vii} bij activiteit van onze afweer tegen Borrelia infecties. Misschien hebben we dan behalve veel overlast ook nog iets goeds aan de verre voorgangers van Borrelia te danken.

Conclusie

Uit het voorgaande zal duidelijk zijn dat gebruik van antibiotica bij Lymeziekte belangrijke beperkingen heeft en dat een betere aanpak nodig is. Met name bij het gevorderde stadium van Lymeziekte moet rekening gehouden worden met allerlei vormen van Borrelia 'stealth technologie', die zorgen dat antibiotica minder effectief is dan we gewend zijn van andere infectieziekten. We noemen een aantal mogelijkheden voor verbetering van de huidige situatie, toegespitst op de chronische vorm van Lymeziekte:

1. Voorkomen is beter dan genezen: als iemand besmet raakt met Borrelia is het belangrijk snel te behandelen, omdat de kans op herstel dan het grootste is. Aangepaste richtlijnen voor diagnose, meer kennis bij artsen en betere testen (die in een vroeg stadium een betrouwbare uitkomst geven) kunnen hierbij helpen.
2. De huidige behandeling bij chronische Lymeziekte is onvoldoende effectief. Bestaande AB-kuren kunnen wellicht verbeterd worden door het

combineren en roteren van diverse klassen AB, pulseren van AB en combineren van AB met cystbusters, effluxpomp remmers en andere middelen die overlevingsvormen en biofilms kunnen tegengaan. Dit vereist meer onderzoek, waarbij rekening gehouden wordt met eventuele verschillen in gevoeligheid van de diverse Bb-stammen (zie 3). Ook is meer aandacht gewenst voor het stimuleren van de herstellende werking van het eigen lichaam en het afweersysteem, onder andere via probiotica.

3. Het is wenselijk om nauwkeuriger na te gaan met welke Bb-stammen en tekenbeet co-infecties patiënten besmet zijn en welke invloed dit heeft op aard en ernst van de symptomen en persistentie van de infectie. Dit kan van belang zijn voor de behandeling (bijvoorbeeld keuze van antibiotica) en prognose van de ziekte. Hierbij zou met name PCR-technologie nuttig kunnen zijn, aangevuld met bloedmicroscopie voor controle op nog onbekende tekenbeet co-infecties.

4. Meer onderzoek naar de diverse Bb-overlevingsvormen, het gedrag van de bacterie in het menselijk lichaam en de symptoomcyclus bij patiënten kan wellicht helpen de effectiviteit van behandelingen en de betrouwbaarheid van lymetesten te verbeteren. Daarbij kunnen technieken zoals bloedmicroscopie behulpzaam zijn, bijvoorbeeld om na te gaan waar en wanneer bepaalde Bb levensvormen in het bloed te vinden zijn. Het is wenselijk diverse markers te volgen (bijvoorbeeld LTT test, Vitamine D, diverse cytokines en hormonen, ANA en ENA) in plaats van conclusies te trekken alleen op basis van indirecte, relatief onbetrouwbare, serologische testen.

5. Quorum sensing en faagtherapie zijn veelbelovende alternatieven voor of aanvullingen op antibioticabehandeling. Op dit moment is nog niet bewezen dat deze technieken tegen Bb bruikbaar zijn, maar de vereiste basis lijkt aanwezig. Op korte termijn valt weinig medisch nut te verwachten; er is eerst meer fundamenteel onderzoek nodig. Dergelijk onderzoek zou ook nuttig kunnen zijn voor bestrijding van andere infectieziekten.

Dit artikel verscheen eerder in LJNL 2/3-2010

Update 2017

Dit artikel werd begin 2010 geschreven; anno 2017 kan vooral vastgesteld worden dat de vooruitgang bij behandeling van Lyme minimaal is, en dat er ook erg weinig moeite gedaan wordt om betere behandelingen voor Lyme te vinden. Een korte update van de actuele stand van zaken.

Borrelia en persistentie: uit onderzoek van de laatste jaren komt steeds duidelijker naar voren dat *Borrelia* niet 'antibiotica-resistent' is zoals vaak beweerd wordt, maar 'antibiotica-tolerant'. Bij een AB behandeling zal het overgrote deel van de *Borrelia*'s gedood worden, het probleem is echter een klein percentage met afwijkende eigenschappen, de 'persisters'. Na de AB behandeling kunnen deze persisters weer uitgroeien tot min-of-meer normale *Borrelia*'s waardoor de ziekte kan terugkeren. In hoeverre dit een rol speelt bij aanhoudende klachten na antibiotica behandeling blijft onduidelijk. Zeker is dat een deel van de klachten bij chronische Lyme NIET door actieve infectie komt, maar door allerlei andere factoren. Of het doden van alle *Borrelia*'s (inclusief de persisters) – als dat al mogelijk is - alle symptomen van chronische Lyme zou genezen is daarom de vraag. De middelen die voorgesteld worden om de zgn. persisters aan te pakken zijn vaak gevaarlijke stoffen, bijvoorbeeld een chemotherapie middel dat vanwege de zware bijwerkingen nauwelijks meer gebruikt wordt. Bij dit soort onderzoek speelt m.i. achter de schermen ook een commercieel motief van de farmaceutische industrie mee, zoals het verkrijgen van nieuwe patenten voor middelen waarvan het oude patent verloopt of waarvoor wegens bijwerkingen het gebruik sterk terugloopt. De studies naar *Borrelia* persisters zijn grotendeels gebaseerd op *in vitro* onderzoek; het is niet zeker dat de conclusies ook voor echte lymepatiënten gelden. Voor meer informatie zie <http://www.tekenbeetziekten.nl/persistente-infectie-en-persistente-klachten-2/>

Aangepaste vormen van AB behandeling: ook het laatste onderzoek naar gebruik van langere AB kuren bij Lyme, de Nijmeegse PLEASE studie, leverde weinig op. Voor- en tegenstanders van langere AB kuren leggen dit onderzoek ieder in hun eigen voordeel uit en de controverse blijft. Doordat er nog steeds nauwelijks directe testen gebruikt worden bij studies blijft de effectiviteit van antibiotica bij Lyme raden, maar het lijkt me duidelijk dat de huidige AB behandelingen onvoldoende effectief zijn. De huidige kennis t.a.v. *Borrelia* persistentie maakt aannemelijk dat langere AB kuren niet dé oplossing zullen zijn voor (chronische) Lyme en dat een andere aanpak noodzakelijk is. Recent is meer onderzoek gedaan naar combinatie-therapie, roteren en pulsing van antibiotica: dit lijkt soms te helpen, maar in het algemeen is het geen oplossing en soms hebben deze afwijkende methodes extra risico's. Net als bij de eerder genoemde persisters studies gaat het hierbij voornamelijk om *in vitro* onderzoek, wat niet zonder meer van toepassing is op echte patiënten. Het probleem bij dit soort aangepaste AB behandelingen is dat men vooraf niet weet welke speciale behandeling bij welke patiënt gaat werken. Zolang de diagnostiek niet sterk verbetert, met name door gebruik van directe testen, lijken dit soort aangepaste AB behandelingen mij tamelijk nutteloos.

Antibiotica-resistentie is inmiddels een erkend maatschappelijk probleem en sinds een aantal jaren is er strengere wetgeving t.a.v. antibiotica gebruik in de intensieve veehouderij. De officiële cijfers suggereren een aanzienlijke afname van het AB gebruik in deze sector, maar het is twijfelachtig of dit de werkelijkheid weergeeft; illegaal AB gebruik in de veehouderij is makkelijk en rendabel en wordt zelden serieus bestraft. En ondanks zware druk om AB gebruik bij Lyme te beperken wordt er in Nederland nog steeds op grote schaal (minstens 30% van het verbruik) antibiotica voorgeschreven voor klachten waarbij deze middelen geen nut hebben zoals een griepje, vaak simpelweg omdat de patiënt er om vraagt. Zolang het niet om Lyme gaat is dat blijkbaar geen probleem. Bij de Q-koorts werd ook duidelijk dat in Nederland de belangen van de landbouw sector zwaarder wegen dan de volksgezondheid...

Microbiome en probiotica zijn onderwerp van talloze wetenschappelijke onderzoeken, maar vooralsnog met weinig concrete resultaten. De meeste 'probiotica' blijken ondanks oorverdovende marketing niet of nauwelijks (blijvend) effect te hebben op de gezondheid. Er komen wel meer aanwijzingen dat veel ernstige ziektes die nu als 'auto-immuun' worden aangeduid en ongeneeslijk geacht worden door de traditionele geneeskunde, baat kunnen hebben bij of zelfs volledig genezen kunnen worden door een 'reset' van het microbiome. Zo'n reset kan gebeuren door middel van 'alternatieve' ingrepen zoals bijvoorbeeld intensief vasten, of in de toekomst wellicht een pil of drankje met precies de juiste probiotica of prebiotica. Misschien kan dit in de toekomst ook een oplossing zijn bij chronische Lyme klachten? Voor meer informatie zie o.a. <http://www.tekenbeetziekten.nl/lyme-en-het-afweersysteem/>

Quorum sensing is een onderwerp waarvoor de wetenschappelijke belangstelling nog steeds sterk groeit, en het aantal publicaties is inmiddels veel groter dan over Lyme. Duidelijk is dat quorum sensing (en QS blocking) in de natuur overal gebruikt wordt. Zo bevatten talloze tropische vruchten en de meeste kruiden QS blockers, die dus een 'natuurlijke' anti-biotische werking hebben; dit kan ook verklaren waarom bepaalde kruiden effectief kunnen zijn bij behandeling van Lyme, zowel afzonderlijk als om de effectiviteit van antibiotica te vergroten. Steeds meer traditionele antibiotica blijken in werkelijkheid zelf quorum sensing blockers te zijn, en niet een simpel 'vergift' dat één bepaalde functie van een bacterie blokkeert zoals vroeger werd aangenomen. Recent is zelfs gebleken dat niet alleen bacteriën en hogere organismen, maar ook sommige virussen quorum sensing gebruiken.

Zowel op het gebied van diagnostiek als behandeling (bij mensen maar bijvoorbeeld ook in de diergeneeskunde) levert dit interessante mogelijkheden op, maar natuurlijk weer niet bij Lyme ... Hoewel vrijwel alle *Borrelia* soorten waarvan de volledige DNA sequentie bekend is minimaal één QS systeem blijken te hebben is nog steeds niet hard bewezen dat *Borrelia* hiervan gebruik maakt, maar het lijkt mij zeer voor de hand liggend. Ook hier spelen helaas weer commerciële en wellicht militaire belangen een rol bij het gebrek aan vooruitgang. Vooral in de VS wordt liefst onderzoek gedaan aan kunstmatige QS blockers (die je met veel moeite kunt maken of opsporen, en vervolgens patenteren en duur verkopen) in plaats van natuurlijke QS blockers (die makkelijk en goedkoop verkrijgbaar zijn en vaak bewezen veilig zijn, maar die je niet kunt patenteren).

Faagtherapie begint in de belangstelling te komen, net als QS vooral bij infecties die met antibiotica niet of moeilijk te bestrijden zijn. Recent werd in Nederland het eerste succes met faagtherapie gemeld en er lopen diverse onderzoeken rond experimentele faagtherapie. Ook hierbij zijn het weer vooral commerciële belangen en medische regelgeving (een faag is geen 100% stabiel, dood produkt zoals antibiotica of andere medicijnen) die de vooruitgang tegenhouden. Over de *Borrelia* Cp32 profaag is helaas nog veel onduidelijk: alle Lyme *Borrelia*'s lijken deze faag te hebben en men vermoedt dat de profaag een rol speelt in de antigene variatie van de bacterie (ontwijken van de afweer) en het koloniseren van weefsels van de gastheer. Maar we weten nog te weinig over de profaag om deze gericht te kunnen gebruiken bij behandeling van Lymeziekte.

Aan de **conclusie** van het artikel is in de afgelopen zeven jaar helaas weinig veranderd. Dat komt vooral doordat een kleine en invloedrijke groep 'Lyme experts' de mening verkondigt dat Lyme geen serieus probleem is en dat diagnostiek en behandeling van deze ziekte prima voor elkaar zijn. Wetenschappelijk onderzoek en publicaties van 'gezaghebbende' Lyme onderzoekers zijn daarom al vele jaren weinig meer dan het herkauwen van de bestaande standpunten, die vaak nauwelijks op harde feiten gebaseerd zijn. Tegelijk wringt men zich in de vreemdste bochten om echt vernieuwend onderzoek tegen te houden of de resultaten te censureren, omdat dit de geldstromen en autoriteit van de Lyme experts en de belangen van andere machtige spelers bedreigt. De ronduit revolutionaire ontwikkelingen in biochemie, DNA technologie en talloze andere biomedische vakgebieden in de afgelopen 20 jaar hebben daardoor voor de diagnose en behandeling van Lymeziekte nauwelijks iets opgeleverd. Zolang de huidige 'experts' het beleid bepalen zal er weinig veranderen, maar gelukkig laat vooruitgang zich – ook in de wetenschap – niet eeuwig tegenhouden.

You cannot fight against the future. Time is on our side.

Aanbevolen links voor nadere informatie

deze populair-wetenschappelijke lezingen en artikelen over nieuwe ontwikkelingen rond biofilms, quorum sensing en evolutie zijn Engelstalig; enige basiskennis van biologie/biochemie is noodzakelijk:

Yuri Gorby over bacteriële netwerken (2009):

<http://www.wired.com/wiredscience/2009/06/fff-gorby/> en <http://www.scivee.tv/node/10036>

Bonny Bassler over quorum sensing (2009):

http://www.ted.com/talks/bonnie_bassler_on_how_bacteria_communicate.html

referentielijst

PMID = PubMed identificatie nummer; u kunt hiermee het artikel of een samenvatting daarvan terugvinden in de PubMed database op www.pubmed.org.

1: Haak N. Waarom is er geen betrouwbare test voor de ziekte van Lyme? *LJNL* 4/2009

2: Kohanski MA, Dwyer DJ, Hayete B, Lawrence CA, Collins JJ. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*. 2007 Sep 7;130(5):797-810. PMID: 17803904.

3: Hunfeld KP, Brade V. Antimicrobial susceptibility of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: what we know, what we don't know, and what we need to know. *Wien Klin Wochenschr*. 2006 Nov;118(21-22):659-68. PMID: 17160604.

4: Berghoff W. Ursachen der Erreger-Resistenz bei antibiotischer Behandlung der Lyme-Borreliose. okt. 2007. http://www.praxis-berghoff.de/dokumente/Ursachen_der_Erreger-Resistenz.pdf

5: Zambrano MC, Beklemisheva AA, Bryksin AV, Newman SA, Cabello FC. *Borrelia burgdorferi* binds to, invades, and colonizes native type I collagen lattices. *Infect Immun*. 2004 Jun;72(6):3138-46. PMID: 15155615.

6: Cabello FC, Godfrey HP, Newman SA. Hidden in plain sight: *Borrelia burgdorferi* and the extracellular matrix. *Trends Microbiol*. 2007 Aug;15(8):350-4. PMID: 17600717.

7: Mursic VP, Wanner G, Reinhardt S, Wilske B, Busch U, Marget W. Formation and cultivation of *Borrelia burgdorferi* spheroplast-L-form variants. *Infection*. 1996 May-Jun;24(3):218-26. PMID: 8811359.

8: Miklosy J, Kasas S, Zurn AD, McCall S, Yu S, McGeer PL. Persisting atypical and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* and local inflammation in Lyme neuroborreliosis. *J Neuroinflammation*. 2008 Sep 25;5:40. PMID: 18817547.

9: Margulis L et al. Spirochete round bodies. Syphilis, Lyme disease & AIDS: Resurgence of "the great imitator"? *SYMBIOSIS* (2009) 47, 51-58

10: Brorson Ø, Brorson SH, Scythes J, MacAllister J, Wier A, Margulis L. Destruction of spirochete *Borrelia burgdorferi* round-body propagules (RBs) by the antibiotic tigecycline. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Nov 3;106(44):18656-61. PMID: 19843691.

11: Balaban NQ, Merrin J, Chait R, Kowalik L, Leibler S. Bacterial persistence as a phenotypic switch. *Science*. 2004 Sep 10;305(5690):1622-5. PMID: 15308767.

12: Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol*. 2007 Jan;5(1):48-56. PMID: 17143318.

13: Glover WA, Yang Y, Zhang Y. Insights into the molecular basis of L-form formation and survival in *Escherichia coli*. *PLoS One*. 2009 Oct 6;4(10):e7316. PMID: 19806199;

14: Brorson O, Brorson SH. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to metronidazole. *APMIS*. 1999 Jun;107(6):566-76. PMID: 10379684.

15: Brorson O, Brorson SH. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to hydroxychloroquine. *Int Microbiol*. 2002 Mar;5(1):25-31. PMID: 12102233.

16: Brorson O, Brorson SH. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to tinidazole. *Int Microbiol*. 2004 Jun;7(2):139-42. PMID: 15248163.

17: Stewart PS. Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *Int J Med Microbiol*. 2002 Jul;292(2):107-13. PMID: 12195733.

18: Lewis K. Multidrug tolerance of biofilms and persister cells. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2008;322:107-31. PMID: 18453274.

19: Bryers JD. Medical biofilms. *Biotechnol Bioeng*. 2008 May 1;100(1):1-18. PMID: 18366134.

20: MacDonald L. Biofilms of *Borrelia burgdorferi* and Clinical Implications for Chronic Borreliosis http://www.molecularalzheimer.org/files/Biofilm_New_Haven_ppt_Read-Only_.pdf

21: Marquez B. Bacterial efflux systems and efflux pumps inhibitors. *Biochimie*. 2005 Dec;87(12):1137-47. PMID: 15951096.

- 22: Kvist M, Hancock V, Klemm P. Inactivation of efflux pumps abolishes bacterial biofilm formation. *Appl Environ Microbiol.* 2008 Dec;74(23):7376-82. PMID: 18836028.
- 23: Li XZ, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update. *Drugs.* 2009 Aug 20;69(12):1555-623. PMID: 19678712.
- 24: Piddock LJ. Multidrug-resistance efflux pumps - not just for resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2006 Aug;4(8):629-36. PMID: 16845433.
- 25: Barthold SW, Hodzic E, Imai DM, Feng S, Yang X, Luft BJ. Ineffectiveness of tigecycline against persistent *Borrelia burgdorferi*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Feb;54(2):643-51. PMID: 19995919.
- 26: Wright GD. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005 Jul 29;57(10):1451-70. PMID: 15950313.
- 27: Aminov RI, Mackie RI. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiol Lett.* 2007 Jun;271(2):147-61. Epub 2007 May 8. PMID: 17490428.
- 28: Martínez JL. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science.* 2008 Jul 18;321(5887):365-7. PMID: 18635792.
- 29: Bennett PM. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *Br J Pharmacol.* 2008 Mar;153 Suppl 1:S347-57. PMID: 18193080.
- 30: Barlow M. What antimicrobial resistance has taught us about horizontal gene transfer. *Methods Mol Biol.* 2009;532:397-411. PMID: 19271198.
- 31: Beaver JW, Hochhut B, Waldor MK. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes. *Nature.* 2004 Jan 1;427(6969):72-4. PMID: 14688795.
- 32: Kohanski MA, DePristo MA, James J, Collins JJ. Sublethal Antibiotic Treatment Leads to Multidrug Resistance via Radical-Induced Mutagenesis. *Molecular Cell, Volume 37, Issue 3, 311-320, 12 Feb 2010.*
- 33: Casjens S et al. A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol.* 2000 Feb;35(3):490-516. PMID: 10672174.
- 34: Stevenson B, Miller JC. Intra- and interbacterial genetic exchange of Lyme disease spirochete *erp* genes generates sequence identity amidst diversity. *J Mol Evol.* 2003 Sep;57(3):309-24. PMID: 14629041.
- 35: Qiu WG et al. Genetic exchange and plasmid transfers in *Borrelia burgdorferi sensu stricto* revealed by three-way genome comparisons and multilocus sequence typing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Sep 28;101(39):14150-5. PMID: 15375210.
- 36: Hunfeld KP, Ruzić-Sabljić E, Norris DE, Kraiczy P, Strle F. Risk of culture-confirmed borrelial persistence in patients treated for erythema migrans and possible mechanisms of resistance. *Int J Med Microbiol.* 2006 May;296 Suppl 40:233-41. PMID: 16530006.
- 37: Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science.* 2001 May 11;292(5519):1115-8. PMID: 11352068.
- 38: Possemiers S, Grootaert C, Vermeiren J, Gross G, Marzorati M, Verstraete W, Van de Wiele T. The intestinal environment in health and disease - recent insights on the potential of intestinal bacteria to influence human health. *Curr Pharm Des.* 2009;15(18):2051-65. PMID: 19519443.
- 39: Dominguez-Bello MG, Blaser MJ. Do you have a probiotic in your future? *Microbes Infect.* 2008 Jul;10(9):1072-6. Epub 2008 Aug 13. PMID: 18762263.
- 40: Stricker RB, Lautin A, Burrascano JJ. Lyme disease: point/counterpoint. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2005 Apr;3(2):155-65. PMID: 15918774.
- 41: Stricker RB. Counterpoint: long-term antibiotic therapy improves persistent symptoms associated with lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2007 Jul 15;45(2):149-57. Epub 2007 Jun 5. PMID: 17578772
- 42: Berghoff W. Diagnostik und Therapie der Lyme-Borreliose. dec. 2009. http://www.praxisberghoff.de/dokumente/diagnostik_und_therapie_der_lb.pdf
- 43: Bernardino AL, Kaushal D, Philipp MT. The antibiotics doxycycline and minocycline inhibit the inflammatory responses to the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *J Infect Dis.* 2009 May 1;199(9):1379-88. PMID: 19301981.
- 44: Rothstein JD et al. Beta-lactam antibiotics offer neuroprotection by increasing glutamate transporter expression. *Nature.* 2005 Jan 6;433(7021):73-7. PMID: 15635412.
- 45: Klempner MS, Hu LT, Evans J, et al. Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. *N Engl J Med* 2001; 345:85–92.
- 46: Straubinger RK, Summers BA, Chang YF, Appel MJ. Persistence of *Borrelia burgdorferi* in experimentally infected dogs after antibiotic treatment. *J Clin Microbiol.* 1997 Jan;35(1):111-6. PMID: 8968890.
- 47: Hodzic E, Feng S, Holden K, Freet KJ, Barthold SW. Persistence of *Borrelia burgdorferi* following antibiotic treatment in mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 May;52(5):1728-36. PMID: 18316520.
- 48: Maloney EL. The Need for Clinical Judgment in the Diagnosis and Treatment of Lyme Disease. *Journal of American Physicians and Surgeons Volume 14 Number 3 Fall 2009*
- 49: Waters CM, Bassler BL. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2005;21:319-46. PMID: 16212498.
- 50: von Bodman SB, Willey JM, Diggle SP. Cell-cell communication in bacteria: united we stand. *J Bacteriol.* 2008 Jul;190(13):4377-91. Epub 2008 May 2. PMID: 18456806.
- 51: González JE, Keshavan ND. Messing with bacterial quorum sensing. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2006 Dec;70(4):859-75. PMID: 17158701.

- 52: Venturi V, Subramoni S. Future research trends in the major chemical language of bacteria. *HFSP J*. 2009;3(2):105-16. PMID: 19794815.
- 53: Bjarnsholt T, Givskov M. Quorum-sensing blockade as a strategy for enhancing host defences against bacterial pathogens. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2007 Jul 29;362(1483):1213-22. PMID: 17360273.
- 54: Brown SP, West SA, Diggle SP, Griffin AS. Social evolution in micro-organisms and a Trojan horse approach to medical intervention strategies. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2009 Nov 12;364(1533):3157-68. PMID: 19805424.
- 55: Bjarnsholt T et al. Garlic blocks quorum sensing and promotes rapid clearing of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Microbiology*. 2005 Dec;151(12):3873-80. PMID: 16339933.
- 56: Bodini SF, Manfredini S, Epp M, Valentini S, Santori F. Quorum sensing inhibition activity of garlic extract and p-coumaric acid. *Lett Appl Microbiol*. 2009 Nov;49(5):551-5. PMID: 19709367.
- 57: Smyth AR, Cifelli PM, Ortori CA, Righetti K, Lewis S, Erskine P, Holland ED, Givskov M, Williams P, Cámara M, Barrett DA, Knox A. Garlic as an inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing in cystic fibrosis—a pilot randomized controlled trial. *Pediatr Pulmonol*. 2010 Apr;45(4):356-62. PMID: 20306535.
- 58: Stevenson B, von Lackum K, Wattier RL, McAlister JD, Miller JC, Babb K. Quorum sensing by the Lyme disease spirochete. *Microbes Infect*. 2003 Sep;5(11):991-7. PMID: 12941391.
- 59: Skotarczak B. Adaptation factors of *Borrelia* for host and vector. *Ann Agric Environ Med*. 2009 Jun;16(1):1-8. PMID: 19572471.
- 60: Duckworth DH, Gulig PA. Bacteriophages: potential treatment for bacterial infections. *BioDrugs*. 2002;16(1):57-62. PMID: 11909002.
- 61: Hanlon GW. Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2007 Aug;30(2):118-28. Jun 12. PMID: 17566713.
- 62: Parisien A, Allain B, Zhang J, Mandeville R, Lan CQ. Novel alternatives to antibiotics: bacteriophages, bacterial cell wall hydrolases, and antimicrobial peptides. *J Appl Microbiol*. 2008 Jan;104(1):1-13. PMID: 18171378.
- 63: Miller JC, Stevenson B. *Borrelia burgdorferi* erp genes are expressed at different levels within tissues of chronically infected mammalian hosts. *Int J Med Microbiol*. 2006 May;296 Suppl 40:185-94. PMID: 16530008.
- 64: Casjens S. Prophages and bacterial genomics: what have we learned so far? *Mol Microbiol*. 2003 Jul;49(2):277-300. PMID: 12886937.
- 65: Brüssow H, Canchaya C, Hardt WD. Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2004 Sep;68(3):560-602. PMID: 15353570.
- 66: Eggers CH, Samuels DS. Molecular evidence for a new bacteriophage of *Borrelia burgdorferi*. *J Bacteriol*. 1999 Dec;181(23):7308-13. PMID: 10572135.
- 67: Zhang H, Marconi RT. Demonstration of cotranscription and 1-methyl-3-nitroso-nitroguanidine induction of a 30-gene operon of *Borrelia burgdorferi*: evidence that the 32-kilobase circular plasmids are prophages. *J Bacteriol*. 2005 Dec;187(23):7985-95. PMID: 16291672.
- 68: Edwards DI. Mechanisms of selective toxicity of metronidazole and other nitroimidazole drugs. *Br J Vener Dis*. 1980 Oct;56(5):285-90. PMID: 7000306
- 69: Stanton TB, Humphrey SB, Sharma VK, Zuerner RL. Collateral effects of antibiotics: carbadox and metronidazole induce VSH-1 and facilitate gene transfer among *Brachyspira hyodysenteriae* strains. *Appl Environ Microbiol*. 2008 May;74(10):2950-6. PMID: 18359835.
- 70: Eggers CH, Kimmel BJ, Bono JL, Elias AF, Rosa P, Samuels DS. Transduction by phiBB-1, a bacteriophage of *Borrelia burgdorferi*. *J Bacteriol*. 2001 Aug;183(16):4771-8. PMID: 11466280.
- 71: Wang X, Kim Y, Wood TK. Control and benefits of CP4-57 prophage excision in *Escherichia coli* biofilms. *ISME J*. 2009 Oct;3(10):1164-79. PMID: 19458652.
- 72: García-Contreras R, Zhang XS, Kim Y, Wood TK. Protein translation and cell death: the role of rare tRNAs in biofilm formation and in activating dormant phage killer genes. *PLoS One*. 2008 Jun 11;3(6):e2394. PMID: 18545668.
- 73: Lu TK, Collins JJ. Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Mar 24;106(12):4629-34. PMID: 19255432.
- 74: MacDonald AB. Transfection "Junk" DNA - a link to the pathogenesis of Alzheimer's disease? *Med Hypotheses*. 2006;66(6):1140-1. PMID: 16481123.
- 75: Fritzsche M. Geographical and seasonal correlation of multiple sclerosis to sporadic schizophrenia. *Int J Health Geogr*. 2002 Dec 20;1(1):5. PMID: 12537588.
- 76: Ryan F. I, virus: Why you're only half human. *NewScientist*, 27 January 2010.
- 77: Margulis L, Chapman M, Guerrero R, Hall J. The last eukaryotic common ancestor (LECA): acquisition of cytoskeletal motility from aerotolerant spirochetes in the Proterozoic Eon. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Aug 29;103(35):13080-5. PMID: 16938841.

- i Door alternatieve genezers wordt vaak gesproken over *natuurlijke antibiotica*, als alternatief voor antibiotica. Meestal gaat het daarbij om middelen die afkomstig zijn van planten, bijvoorbeeld Cat's Claw/Samento dat ook bij de behandeling van Lymeziekte gebruikt wordt. Cat's Claw heeft een heel ander werkingsmechanisme dan normale antibiotica. Het bevat een groot aantal verschillende biochemische componenten zoals alkaloiden, die o.a. delen van ons afweersysteem stimuleren en moduleren. Sommige plantaardige stoffen hebben wel een directe antimicrobiële werking, maar zo effectief als antibiotica zijn ze zelden. Een voordeel van dit soort middelen is wel dat de kans op resistentie-ontwikkeling klein is, omdat ze vaak uit verschillende biochemische componenten bestaan of omdat de werking indirect is (bijvoorbeeld via ons afweersysteem). Bovendien hebben ze doorgaans mildere bijeffecten, waardoor ze met name bij langdurig gebruik minder risico opleveren. De meeste van deze 'natuurlijke antibiotica' zijn eerder een goede aanvulling op dan een direct alternatief voor traditionele antibiotica.
- ii *Symptoomcyclus*: het om de 4-5 weken toenemen van symptomen bij de patiënt (met name tijdens langdurige AB-behandeling) heeft niet direct te maken met de generatietijd van *Borrelia*, maar vermoedelijk met de interactie tussen *Borrelia* en ons afweersysteem.
- iii *Plasmiden*: kleine stukjes erfelijk materiaal die zich buiten het chromosoom bevinden. Ze kunnen onafhankelijk van het chromosoom vermenigvuldigd en uitgewisseld worden en komen vooral voor bij bacteriën.
- iv *Glutamaat* is de belangrijkste exciterende transmitter in het centrale zenuwstelsel en speelt dus een belangrijke rol bij de signaaloverdracht in de hersenen.
- v Het *Buhner protocol* is een alternatieve behandelmethod voor Lymeziekte op basis van herbal medicine, ontwikkeld door de Amerikaanse herbalist Stephen Buhner. Het protocol gebruikt diverse kruiden die in het verleden bewezen hebben effectief te zijn bij bestrijding van andere spirocheetziekten, voor verbetering van de afweer en het herstel van bijvoorbeeld beschadigde zenuwen. Het protocol kan gebruikt worden in combinatie met, of als alternatief voor antibiotica. De effectiviteit van het Buhner protocol voor bestrijding van Lymeziekte is tot nu toe niet medisch onderzocht en dus onbewezen.
- vi *Borrelia* beschikt over het AI-2/LuxS systeem, een 'Esperanto' versie van QS.
- vii *Kruisreacties*: wanneer het afweersysteem antilichamen aanmaakt tegen *Borrelia*, blijkt dat deze antilichamen soms ook reageren met lichaamseigen weefsel, onder andere in zenuwcellen en gewrichten. Zulke kruisreacties worden verondersteld het gevolg te zijn van een nauwe (biochemische) verwantschap tussen bepaalde *Borrelia* antigenen en lichaamseigen antigenen. Wanneer deze reacties ook doorgaan wanneer de antigenen die de immuunreactie opwekken (dat wil zeggen *Borrelia*) verdwenen zijn, wordt gesproken van auto-immuniteit. De term 'auto-immuniteit' wordt vaak ten onrechte gebruikt, want met de huidige lymetests is nooit met zekerheid vast te stellen of *Borrelia* echt uit het lichaam verdwenen is.