

Année 2014

**ENQUÊTE NATIONALE SUR LA MALADIE DE LYME
CHEZ LE CHIEN**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le.....

par

Lindsay, Maud, Christelle TROUDE

Née le 31 décembre 1987 à Drancy (Seine-Saint-Denis)

JURY

Président : Pr.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Pr. Henri-Jean BOULOUIS

Professeur à l'Unité de Pathologie Générale Microbiologie, Immunologie à l'ENVA

Assesseur : Pr. Jacques GUILLOT

Professeur à l'Unité de Parasitologie et Maladies Parasitaires à l'ENVA

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur GOGNY Marc

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : COTARD Jean-Pierre, MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard
Professeurs honoraires : Mme et MM. : BENET Jean-Jacques, BRUGERE Henri, BRUGERE-PICOUX Jeanne, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CLERC Bernard, CRESPEAU François, DEPUTTE Bertrand, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, POUCHELON Jean-Louis, ROZIER Jacques

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC) Chef du département : M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

UNITE DE CARDIOLOGIE - Mme CHETBOUL Valérie, Professeur * - Mme GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier UNITE DE CLINIQUE EQUINE - M. AUDIGIE Fabrice, Professeur - M. DENOIX Jean-Marie, Professeur - Mme DUMAS Isabelle, Maître de conférences contractuel - Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier * - M. LECHARTIER Antoine, Maître de conférences contractuel - Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Praticien hospitalier - Mme TRACHSEL Dagmar, Maître de conférences contractuel UNITE D'IMAGERIE MEDICALE - Mme BEDU-LEPERLIER Anne-Sophie, Maître de conférences contractuel - Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier UNITE DE MEDECINE - Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences contractuel - M. BLOT Stéphane, Professeur* - Mme MAUREY-GUENEC Christelle, Maître de conférences UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT - Mme CLERO Delphine, Maître de conférences contractuel - M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * - Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel	DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION - M. PARAGON Bernard, Professeur DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE - Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES - M. BENSIGNOR Emmanuel, Professeur contractuel - M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - M. CHERMETTE René, Professeur * - M. GUILLOT Jacques, Professeur - Mme MARIGNAC Geneviève, Maître de conférences - M. POLACK Bruno, Maître de conférences UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE - M. FAYOLLE Pascal, Professeur - M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences - M. MOISSONNIER Pierre, Professeur* - M. NIEBAUER Gert, Professeur contractuel - Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) - Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Professeur - M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS - Vacant
---	---

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP) Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Professeur - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE - M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences - M. BOLNOT François, Maître de conférences * - M. CARLIER Vincent, Professeur - Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES - Mme DUFOUR Barbara, Professeur* - Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur - Mme PRAUD Anne, Maître de conférences - Mme RIVIERE Julie, Maître de conférences contractuel UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR - M. ADJOU Karim, Maître de conférences * - M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - M. HESKIA Bernard, Professeur contractuel - M. MILLEMANN Yves, Professeur	UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE - Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences - M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Mme MASSE-MOREL Gaëlle, Maître de conférences contractuel - M. MAUFFRE Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - M. REMY Dominique, Maître de conférences* UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE - M. ARNE Pascal, Maître de conférences* - M. BOSSE Philippe, Professeur - M. COURREAU Jean-François, Professeur - Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur - Mme LEROY-BARASSIN Isabelle, Maître de conférences - M. PONTER Andrew, Professeur
---	---

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP) Chef du département : Mme COMBRISSE Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES - M. CHATEAU Henry, Maître de conférences* - Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur - M. DEGUEURCE Christophe, Professeur - Mme ROBERT Céline, Maître de conférences DISCIPLINE : ANGLAIS - Mme CONAN Muriel, Professeur certifié UNITE DE BIOCHIMIE - M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences* - M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences DISCIPLINE : BIostatISTIQUES - M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE - M. PHILIPS Pascal, Professeur certifié DISCIPLINE : ETHOLOGIE - Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE - Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences - M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur*	UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE - Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences* - M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur - Mme LALOY Eve, Maître de conférences contractuel - M. REYES GOMEZ Edouard, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE - M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur - Mme LE ROUX Delphine, Maître de conférences - Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE - Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur - M. PERROT Sébastien, Maître de conférences - M. TISSIER Renaud, Maître de conférences* UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE - Mme COMBRISSE Hélène, Professeur - Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences - M. TIRET Laurent, Maître de conférences* UNITE DE VIROLOGIE - M. ELOIT Marc, Professeur - Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences *
---	--

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

Au Professeur de la faculté de médecine de Créteil,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Hommage respectueux.

A M. Henri-Jean BOULOUIS

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour avoir accepté de diriger ce travail,
Pour son aide, sa disponibilité, son soutien et sa gentillesse
Mes sincères remerciements pour tout ce que vous avez fait.

A M. Jacques GUILLOT

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour m'avoir proposé ce travail et m'avoir épaulée tout au long de celui-ci,
Un grand merci pour vos conseils.

A M. Loïc DESQUILBET

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour sa contribution, sa disponibilité et ses précieux conseils,
Tous mes remerciements.

A Mme Radia GUECHI

Pour son aide précieuse tous ces après-midis,
Pour son sourire, sa bonne humeur, et ses encouragements,
Un immense merci.

Au personnel de la bibliothèque,

Pour leur aide, leur gentillesse et leur disponibilité

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES.....	1
INTRODUCTION.....	5
I- ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : LA MALADIE DE LYME	7
I-1) LA BACTERIE RESPONSABLE DE LA MALADIE DE LYME	7
I-1-a/ <i>Caractéristiques générales</i>	9
I-1-a-1) Morphologie et structure	9
α - Structure en couche	9
β - Structure antigénique.....	11
δ - Aspect génétique	13
I-1-a-2) Métabolisme.....	15
I-1-b/ <i>Habitat</i>	15
I-1-c/ <i>Pouvoir pathogène : la maladie de Lyme</i>	16
I-1-c-1) Infection de la tique.....	16
I-1-c-2) Transmission à l'hôte	16
I-1-c-3) Infection de l'hôte	17
I-2) ÉPIDEMIOLOGIE	17
I-2-a/ <i>Prévalence de la borréliose de Lyme</i>	18
I-2-b/ <i>Hôtes, vecteurs et cycle</i>	18
α - Agent.....	18
β - Espèces affectées.....	18
γ - Hôtes et réservoirs	19
δ - Vecteurs	20
I-2-c/ <i>Mode de transmission</i>	26
I-2-d/ <i>Facteurs environnementaux</i>	28
I-3) SIGNES CLINIQUES CHEZ LE CHIEN	29
I-3-a/ <i>Atteinte articulaire</i>	31
I-3-b/ <i>Syndrome fébrile</i>	31
I-3-c/ <i>Néphrite de Lyme</i>	32
α - Animaux atteints	32
β - Tableau clinique et lésionnel.....	32
γ - Pathogénie	32
δ - Diagnostic	33
I-3-d/ <i>Glomérulonéphropathie des Bouviers Bernois (16)</i>	33
I-4) DIAGNOSTIC	34
I-4-a/ <i>Diagnostic direct</i>	34
α - Observation microscopique.....	34
β - Culture (53).....	35
γ - PCR.....	36
I-4-b/ <i>Diagnostic indirect</i>	38
α – Réponse immunitaire post-infectieuse.....	38
α - ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)	39
β – Immunofluorescence indirecte.....	40
γ - Test d'immuno-empreinte	41
δ - Détection de l'anticorps anti-C6.....	43
ε – Test combiné ELISA et immuno-empreinte (51).....	43

I-4-c/ Diagnostic différentiel	45
I-5) TRAITEMENT.....	47
I-5-a/ Traitement antibiotique	47
I-5-b/ Suivi du traitement antibiotique chez les chiens cliniquement atteints	49
I-5-c/ Suivi du traitement antibiotique chez les chiens asymptomatiques	49
I-5-d/ Forme de résistance aux antibiotiques.....	51
I-6) PROPHYLAXIE	53
I-6-a/ Prévention de l'infestation par les tiques.....	53
α – Etiquage manuel	53
β – Traitement acaricide	54
I-6-b/ Prophylaxie vaccinale	56
α – Vaccins	56
β – Protocole vaccinal	57
γ – Efficacité des vaccins	57
δ – Effets secondaires	57
ε – Discussion.....	58
I-6-c/ Dépistage chez les chiens sains	60
II- ETUDE EXPERIMENTALE	65
II-1) OBJECTIF	65
II-2) MATERIEL ET METHODES	65
II-2-a/ Population étudiée	65
II-2-b/ Critères d'inclusion.....	65
II-2-c/ Informations cliniques.....	65
II-2-d/ Prélèvement.....	66
II-2-e/ Test d'immunomigration	66
II-2) RESULTATS.....	67
II-3) DISCUSSION	67
II-3) RESULTATS.....	70
II-3-a/ Prévalence.....	70
II-3-b/ Profil des chiens positifs pour le test 4Dx®.....	71
II-3-c/ Races représentées	73
II-3-d/ Association avec les facteurs de suspicion.....	73
α – Résultats selon les critères d'hématologie	73
β – Résultats selon les critères cliniques de suspicion	76
γ – Résultats selon la présence de tiques sur l'animal	79
III- DISCUSSION.....	81
III-1) QUALITE ET VALIDITE DES RESULTATS.....	81
III-1-a/ Qualité et validité du test SNAP 4Dx®.....	81
III-1-b/ Qualité et validité de l'enquête épidémiologique	82
III-2) MOYENS DE L'ETUDE	83
III-3) COMPARAISON AVEC LES DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....	83
III-4) LA MALADIE DE LYME CHEZ LE CHIEN : UNE MALADIE AVEREE OU RECHERCHEE ?.....	86
CONCLUSION.....	87
BIBLIOGRAPHIE	89

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1 : Classification de <i>Borrelia burgdorferi</i>	8
Figure 2 : Structure externe de <i>Borrelia burgdorferi</i> (30).....	10
Figure 3 : Structure en couches de <i>Borrelia burgdorferi</i> (52)	11
Figure 4 : Classification d' <i>Ixodes ricinus</i>	21
Figure 5 : Morphologie d' <i>Ixodes ricinus</i> (UP Parasitologie ENVA).....	23
Figure 6 : Hypostome d' <i>Ixodes ricinus</i> (UP Parasitologie ENVA)	24
Figure 7 : Répartition géographique d' <i>Ixodes ricinus</i> en France (A. Estrada et P. Bourdeau)	25
Figure 8 : Cycle de développement d' <i>Ixodes ricinus</i> (13).....	26
Figure 9 : Transmission par co-feeding chez <i>Ixodes ricinus</i> (UP Parasitologie ENVA)	27
Figure 10 : Fréquence des signes cliniques observés lors de borréliose de Lyme chez le chien	30
Figure 11 : Différentes étapes de la technique PCR (UP Biologie Moléculaire et Génétique Préclinique)	37
Figure 12 : Cinétique des anticorps produits suite à une sensibilisation expérimentale à <i>Borrelia burgdorferi</i> (35)	39
Figure 13 : Différentes étapes du test ELISA (UP Biologie Moléculaire et Génétique Préclinique)	40
Figure 14 : Immunofluorescence indirecte (UP Biologie Moléculaire et Génétique Préclinique).....	41
Figure 15 : Diagnostic différentiel de la faiblesse, de la fièvre et de l'anorexie chez le chien (37)	46
Figure 16 : Conduite à tenir face à la maladie de Lyme chez le chien (37).....	48
Figure 17 : Etiquetage manuel (UP Parasitologie ENVA)	53
Figure 18 : Réalisation pratique du test 4Dx®	67
Figure 19 : Lecture du test 4Dx®	68
Figure 20 : Lecture de la fenêtre du test 4Dx®	68
Figure 21 : Résultat positif pour <i>Borrelia burgdorferi</i>	69
Figure 22 : Proportion de chiens pour lesquels la présence d'anticorps vis-à-vis de <i>Borrelia burgdorferi</i> a été détectée par le test 4Dx®	71

TABLEAUX

Tableau 1 : Présentation génétique des différentes souches de <i>Borrelia burgdorferi</i> (2)	14
Tableau 2 : Principaux réservoirs des différents géotypes de <i>Borrelia burgdorferi</i> (38)	19
Tableau 3 : Qualités des tests diagnostiques reposant sur la détection de différents antigènes de <i>Borrelia burgdorferi</i> (51)	44
Tableau 4 : Concentrations minimales bactéricides de différents antibiotiques face à la borréliose de Lyme (7, 30)	52
Tableau 5 : Molécules ou association de molécules actives contre les tiques (12).....	55
Tableau 6 : Arguments en faveur et en dévafeur de la vaccination préventive contre la maladie de Lyme chez le chien (37)	59
Tableau 7 : Arguments en faveur et en défaveur du dépistage systématique de la maladie de Lyme chez les chiens (37).....	61
Tableau 8 : Qualités diagnostiques du test 4Dx® (annoncées par le fournisseur)	69

<i>Tableau 9 : Nombre et pourcentage d'échantillons positifs en fonction des Écoles.....</i>	<i>70</i>
<i>Tableau 10 : Profils des chiens positifs pour le test 4Dx®</i>	<i>72</i>
<i>Tableau 11 : Recherche d'association entre l'anémie et le résultat du test 4Dx®</i>	<i>74</i>
<i>Tableau 12 : Recherche d'association entre la thrombopénie et le résultat du test 4Dx®</i>	<i>74</i>
<i>Tableau 13 : Recherche d'association entre la neutropénie et le résultat du test 4Dx®</i>	<i>75</i>
<i>Tableau 14 : Recherche d'association entre la leucopénie et le résultat du test 4Dx®</i>	<i>75</i>
<i>Tableau 15 : Recherche d'association entre un critère hématologique de suspicion et le résultat du test 4Dx®.....</i>	<i>76</i>
<i>Tableau 16 : Recherche d'association entre l'hyperthermie et le résultat du test 4Dx®.....</i>	<i>77</i>
<i>Tableau 17 : Recherche d'association entre l'abattement et le résultat du test 4Dx®</i>	<i>77</i>
<i>Tableau 18 : Recherche d'association entre la boiterie et le résultat du test 4Dx®</i>	<i>78</i>
<i>Tableau 19 : Recherche d'association entre le phénomène algique et le résultat du test 4Dx®</i>	<i>78</i>
<i>Tableau 20 : Recherche d'association entre un critère clinique de suspicion et le résultat du test 4Dx®</i>	<i>79</i>
<i>Tableau 21 : Recherche d'association entre la présence de tiques sur l'animal et le résultat du test 4Dx®.....</i>	<i>80</i>
<i>Tableau 22 : Tableau clinique des chiens séropositifs</i>	<i>85</i>

INTRODUCTION

La borréliose de Lyme, également appelée maladie de Lyme, a tout d'abord été suspectée chez l'homme dès 1975 dans la ville de Lyme située dans le Connecticut (États-Unis). De nombreux enfants avaient présenté, consécutivement à une morsure de tiques, un érythème migrant puis une arthrite rhumatoïde juvénile. À la suite de nombreuses recherches, Willy Burgdorfer, médecin et entomologiste américain, découvre la présence de bactéries dans le tube digestif de tiques (*Ixodes scapularis*) en Amérique du Nord dans les années 1980. Ces bactéries ont ensuite été mises en culture puis inoculées à des lapins. L'apparition d'un érythème migrant similaire à celui observé chez les enfants a alors été observée.

En 1984, ce spirochète a été surnommé *Borrelia burgdorferi* en hommage à Willy Burgdorfer.

Il s'agit d'une maladie dont l'agent se transmet naturellement de l'animal à l'homme par le biais d'un vecteur : on parle de maladie vectorielle à pouvoir zoonotique. Elle constitue la première maladie vectorielle de l'hémisphère Nord et touche les États-Unis, le Sud du Canada, l'Europe occidentale et centrale, la Chine, la Corée et le Japon. (11).

La maladie de Lyme est bien connue chez les humains notamment par sa forme clinique caractéristique, l'érythème migrant. Elle touche également d'autres espèces, notamment les chiens chez qui elle se manifeste de manière plus fruste.

Par le biais d'une étude bibliographique, nous allons dans un premier temps présenter cette maladie chez le chien. Dans un second temps, nous nous intéresserons à sa prévalence en France au travers d'une enquête épidémiologique effectuée sur 322 chiens ayant été présentés en consultation dans trois des quatre Écoles nationales vétérinaires françaises.

I- Etude bibliographique : la maladie de Lyme

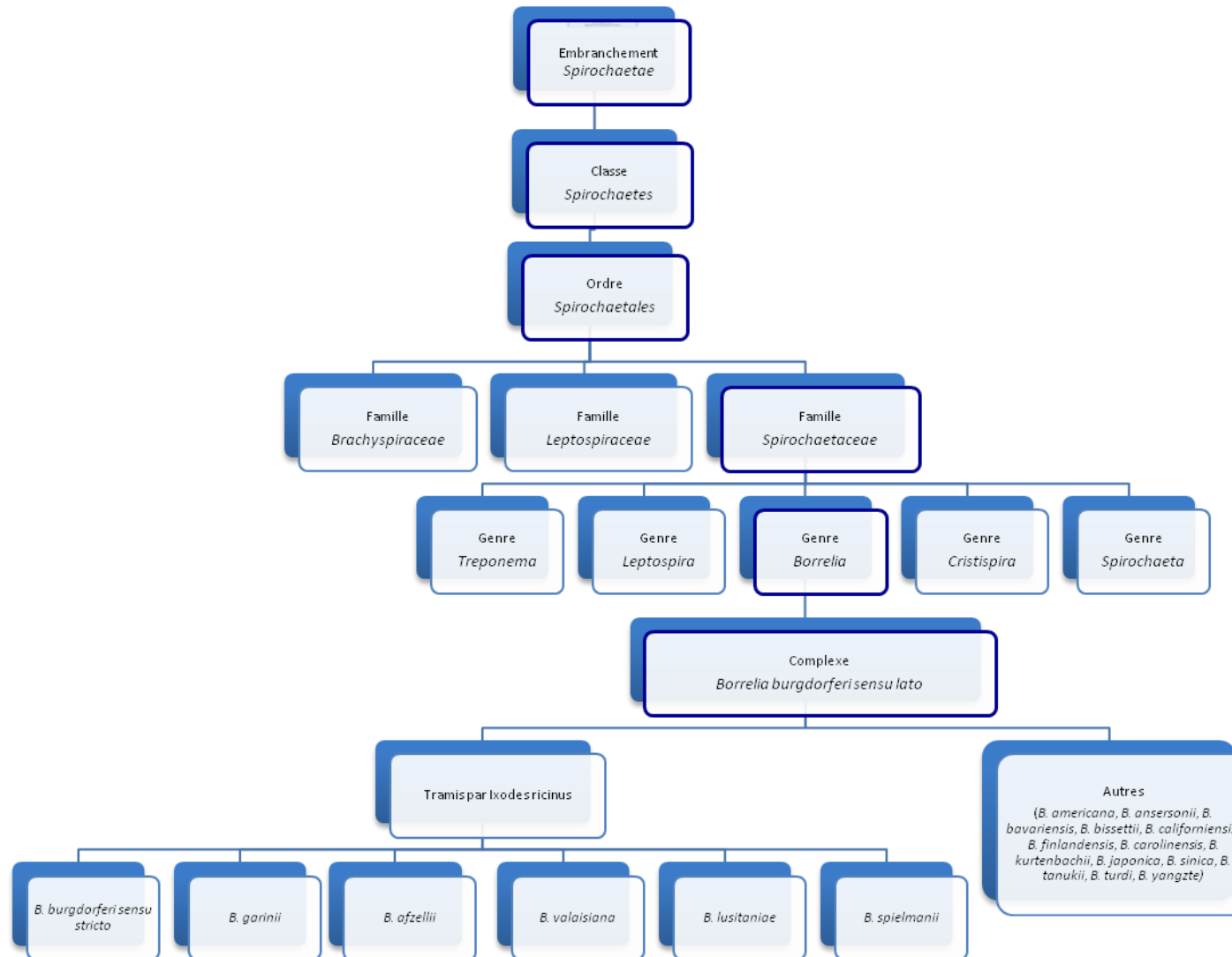
La maladie de Lyme est une maladie infectieuse transmise par la tique lors de son repas sanguin. L'agent infectieux incriminé est une bactérie dont toutes les caractéristiques vont être détaillées dans un premier temps. Ensuite, l'épidémiologie de la maladie telle qu'elle est connue à l'heure actuelle sera présentée. Enfin, nous nous intéresserons aux moyens thérapeutiques et prophylactiques visant à limiter cette maladie.

I-1) La bactérie responsable de la maladie de Lyme

L'agent de la maladie de Lyme découvert dans les années 80 par Willy Burgdorfer (2) a été identifié comme étant une nouvelle espèce du genre *Borrelia* appelée *Borrelia burgdorferi*.

D'un point de vue taxonomique (figure 1), l'agent de la borréliose de Lyme appartient à la famille des *Spirochetaceae*, au genre *Borrelia* et au complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Ce complexe compte douze espèces dont six pouvant être transmises par la même espèce de tique (*Ixodes ricinus* ou espèces voisines) : *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (Amérique du Nord, Europe de l'Ouest surtout), *Borrelia garinii* (de l'Europe à l'Asie), *Borrelia afzelii* (Europe de l'Est, Scandinavie), *Borrelia valaisiana* (Eurasie), *Borrelia lusitaniae* (Europe du Sud) et *Borrelia spielmanii*. Les trois premières sont avérées être pathogènes une fois inoculées. Quant aux autres, leur faible prévalence ne permet pas de conclure quant à leur caractère pathogène.

Figure 1 : Classification de *Borrelia burgdorferi*



I-1-a/ Caractéristiques générales

I-1-a-1) Morphologie et structure

Les spirochètes du genre *Borrelia* sont des bactéries Gram négatif spiralées, mobiles et flexibles. Leurs spires, au nombre de cinq à dix, sont régulières et larges. Concernant la taille de ces bactéries, leur diamètre varie entre 0.2 μm et 0.5 μm et leur longueur oscille entre 8 et 30 μm selon l'espèce, l'âge et les conditions de culture.

α - Structure en couche

D'un point de vue structural, les spirochètes sont constitués de quatre couches distinctes qui, classées dans l'ordre centripète, sont : la couche amorphe, l'enveloppe externe, l'espace périplasmique et le cylindre protoplasmique (30) (figures 2 et 3).

La couche la plus externe ou couche amorphe porte ce nom car elle ne semble pas avoir de rôle particulier. Elle disparaît lors d'un simple lavage au tampon phosphate salin. La seconde couche est l'enveloppe externe composée de plusieurs couches identiques à toutes les bactéries Gram négatives. Elle est caractérisée par des protéines spécifiques dites Osp (Outer Surface Protein) : OspA, OspB, OspC, OspD, OspE et OspF dont certaines auront un rôle majeur dans la pathogénie et donc dans le diagnostic et la mise en place de vaccins.

Sous cette enveloppe externe, se retrouve l'espace périplasmique hébergeant l'appareil locomoteur de la bactérie constitué de sept à onze flagelles fixés à chaque pôle au niveau d'un corpuscule basal et se rejoignant au centre de la bactérie. Ces flagelles confèrent des mouvements de rotation, translation et de flexion au spirochète. Ils sont constitués de flagelline, polypeptide de 41kDa, commun à toutes les espèces de *Borrelia burgdorferi* *sl*, dont l'activité immunogénique est importante. L'appareil locomoteur présente la particularité de ne pas être libre mais compris entre la membrane externe et le cylindre protoplasmique. La mobilité (35) des spirochètes est unique dans le sens où elle leur permet de se déplacer dans des fluides visqueux dans lesquels d'autres bactéries ne pourraient pas se mouvoir. Plus précisément, leur vitesse de déplacement est augmentée dans des milieux très visqueux comme ceux composés de méthylcellulose présente dans les articulations. En 1991, Sadziene *et al.* (46) ont montré qu'un mutant de *B. burgdorferi* non mobile perdait sa capacité de pénétrer dans les cellules endothéliales de la veine ombilicale. Quelques années après, Kennedy *et al.* (45) ont observé que d'autres mutants avec une mobilité altérée avaient une capacité amoindrie de coloniser et infecter des intestins de souris et avaient perdu leur virulence sur les cochons. Ces deux expériences semblent concorder dans l'idée que la mobilité de la bactérie constitue donc un facteur de virulence à part entière et qu'il existe un lien entre mobilité et maladie.

Afin de mieux comprendre le mode de déplacement de *Borrelia burgdorferi*, Goldstein (20) a décidé d'utiliser la microscopie électronique à haute tension. Il a alors remarqué que cette bactérie diffère des autres spirochètes par sa morphologie en « vague plate » et non en hélice. En 2000, Bono *et al.* (4) ont créé un mutant dépourvu

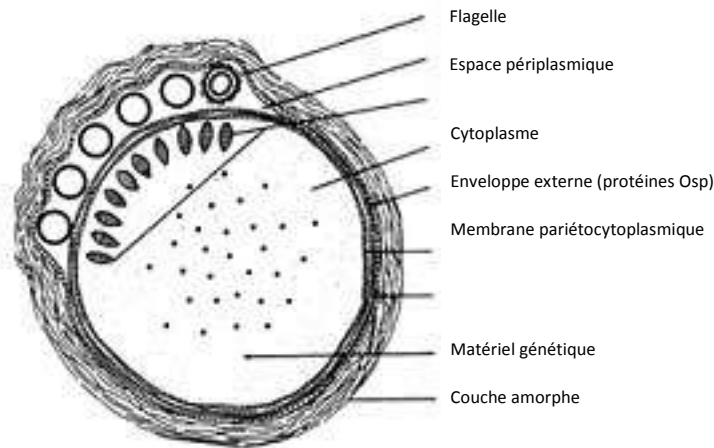
du gène *flaB* codant pour la protéine filamentaire majeure : il était alors dépourvu de flagelle périplasmique et avait une forme de tige. Cette expérience semble indiquer que les flagelles périplasmiques sont responsables de la forme du spirochète. La forme et l'enroulement des flagelles expliquent leur rôle dans la morphologie de la bactérie. En effet, les flagelles périplasmiques forment un faisceau et s'enroulent autour du corps hélicoïdal de la bactérie dans le sens dextrogyre alors qu'elle se situe à gauche dans l'espace. Le mouvement de rotation généré forme ainsi des vagues allant de l'avant à l'arrière de la cellule et se produit concomitamment à une rotation de *Borrelia* autour de son axe. D'un point de vue structural, la composition des flagelles des spirochètes est la plus complexe. En effet, ils sont composés de plusieurs protéines réparties en protéines de classe A (*flaA*) et de classe B (*flaB*). *Borrelia burgdorferi* a la particularité de ne présenter qu'un seul type de protéine de chaque classe. La protéine FlaB (41kDa) constitue le cœur du filament du flagelle et est stabilisée par une gaine formée par la protéine FlaA (39kDa). L'inactivation du gène *flaB* génère une bactérie immobile, dépourvue de flagelle et en forme de tige. Ainsi, la protéine de classe B joue un rôle essentiel non seulement dans la forme mais aussi dans la mobilité de *Borrelia*. Contrairement à la plupart des autres bactéries, *Borrelia burgdorferi* diffère par le promoteur responsable de la régulation de la synthèse des protéines FlaA et FlaB. En effet, il est de type sigma 70 et non sigma 28. Ceci peut éventuellement expliquer que la synthèse des protéines flagellaires est continue chez *Borrelia* même au sein de la tique et de l'hôte. La mobilité de *Borrelia* dans tous les environnements qu'elle côtoie est tellement importante pour sa survie qu'il est probable qu'elle ait développé un mécanisme lui permettant de synthétiser en permanence des protéines flagellaires.

L'appareil locomoteur, précédemment détaillé, est délimité dans sa partie la plus interne par une membrane pariétocytoplasmique composée de la membrane cytoplasmique recouverte par un peptidoglycane. Celui-ci, dont l'acide aminé majeur est l'ornithine, confère une certaine rigidité à la bactérie. La membrane pariétocytoplasmique entoure le cylindre protoplasmique au sein duquel se retrouve le matériel génétique du spirochète baignant dans le cytoplasme dépourvu de microtubules.

Figure 2 : Structure externe de *Borrelia burgdorferi* (30)



Figure 3 : Structure en couches de *Borrelia burgdorferi* (52)



β- Structure antigénique

La composition antigénique de *Borrelia burgdorferi* change considérablement au cours de son cycle et plus particulièrement pendant le gorgement de la tique. Cette modification permet une adaptation du spirochète aux hôtes et un échappement à la réponse immunitaire du vecteur. Plus particulièrement, nous allons nous intéresser aux protéines majoritairement impliquées dans la pathogénie de la maladie de Lyme.

Les protéines de surface

Les protéines les plus importantes dans la pathogénie de la borréliose sont les protéines de surface Osp (38). La première stratégie de *B. burgdorferi* sl permettant d'éviter une destruction par le système immunitaire de l'hôte est de modifier la synthèse de ces protéines de surface.

Parmi celles-ci, on retrouve OspA qui est une protéine présente chez toutes les espèces de *Borrelia burgdorferi* avec un poids moléculaire compris entre 31 et 33 kDa (2). Elle est produite par *Borrelia* lorsqu'elle réside dans l'intestin de la tique mais est sous-exprimée au cours de l'engorgement. Une souche de *Borrelia* déficiente en OspA et OspB est capable d'infecter une souris et de générer une arthrite mais ne peut coloniser l'intestin de la tique. Ceci prouve que OspA et/ou OspB a/ont un rôle important dans le maintien du spirochète au sein du vecteur.

Plus précisément, OspA joue un rôle dans l'adhérence du spirochète à l'intestin de la tique en se liant à des protéines TROSPA. De plus, elle a déjà été retrouvée liée à elle-même ce qui facilite ainsi l'adhérence spirochète-spirochète et ainsi toute interaction.

OspB, protéine de poids moléculaire compris entre 34 et 35kDa, partage un promoteur commun avec OspA. Elle semble également nécessaire pour l'adhérence de *Borrelia* à

l'intestin du vecteur bien que les récepteurs n'aient pas encore été identifiés.

OspA et OspB contribuent donc probablement au maintien du spirochète lié à l'intestin de la tique surtout au moment des repas sanguins et des mues, stades où il pourrait être détruit ou déplacé. Elles n'induisent la production d'anticorps que tardivement après l'infection.

La protéine de surface OspC est essentielle pour la migration de la bactérie dans les glandes salivaires de la tique. En effet, elle se lie à une protéine de 15 kDa encodée par le gène *salp15* dont l'expression est stimulée par le spirochète au moment du repas sanguin. Ainsi, la transmission de la bactérie sous la forme liée lui confère une protection contre les anticorps cytotoxiques de l'hôte et facilite ainsi l'infection par la suite. (51) Une étude aux USA a montré que l'inoculation de *B. burgdorferi* et d'une protéine recombinante Salp15 à une souris naïve a révélé un taux de spirochète nettement supérieur à une inoculation seule de la bactérie. *In vivo*, l'augmentation de Salp15 peut être bénéfique pour la tique : ses capacités immunosuppressives s'oppose au rejet de la tique par l'hôte. De ce fait la tique s'engorge plus facilement. Des homologues de cette protéine ont été identifiés dans *I. ricinus*. La salive de tique semble donc protéger le spirochète contre la réponse immunitaire innée de la peau de l'hôte en supprimant la production de peptides antimicrobiens générés par *Borrelia*.

La production d'OspC est stimulée durant l'infection initiale du mammifère et les anticorps dirigés contre cette protéine de surface sont donc détectés rapidement après l'infection. (51)

Les protéines de surface OspD, OspE et OspF sont également présentes. Cette dernière est exprimée après l'infection de l'hôte et induit une réponse humorale retardée.

Les protéines de membrane

Le spirochète contient également de nombreuses protéines de membrane dont une lipoprotéine VlsE (VMP-like sequence expressed) contenant deux séquences variables antigéniques dans des régions invariantes. La détection des anticorps dirigés contre la sixième région invariante de cette protéine, peptide de 25 acides aminés appelé C6, constitue une méthode de choix pour diagnostiquer la maladie de Lyme chez les humains et les chiens.

Les protéines régulatrices du complément

Le premier obstacle à franchir est la réponse immunitaire et plus particulièrement la cascade d'activation du complément. De nombreuses bactéries tout comme *Borrelia* ont développé des mécanismes leur permettant d'inhiber cette destruction médiée par le complément en se liant au facteur plasmatique H ou H-like de l'hôte qui est une protéine aboutissant à la dégradation du C3b. *Borrelia burgdorferi* utilise des protéines de surface régulatrices du complément (CRASP : complement regulator-

acquiring surface proteins) et des protéines Osp E/F relatives (Erp) pour se lier au facteur H ou FHL et inhiber l'activation du complément.

Actuellement, cinq protéines CRASP ont été identifiées :

- CRASP-1 et CRASP-2 : liaison à FH et FHL-1,
- CRASP-3, CRASP-4, CRASP-5 et Erp : liaison au facteur H seul.

Une étude récente (26) a montré que l'inactivation du gène codant pour CRASP-1 suivie de l'addition d'une souche avec CRASP-1 restaurait la lyse du complément. Ainsi CRASP-1 faciliterait l'échappement du spirochète à la réponse immunitaire et sa survie.

δ- Aspect génétique

D'un point de vue génétique, une étude (2) a conduit à l'identification de différents groupes génomiques, à leur description sur la base de profils de restriction de ARNr et de profils protéiques par électrophorèse ainsi qu'à leur identification grâce à des anticorps monoclonaux. Les niveaux d'appariement d'ADN de 32 souches américaines et européennes de *Borrelia* ont été calculés et la différence de température pour laquelle 50% de l'ADN réapparié était hydrolysable par la nucléase S1 a permis d'identifier trois groupes génomiques : *B burgdorferi* ss, *B garinii* et le groupe VS 461. La composition de base de l'ADN ne présente pas de différence significative entre les souches testées. Ces trois groupes génomiques ont été retrouvés avec l'utilisation d'enzymes de restriction. En effet, trois profils ont été trouvés pour chaque enzyme de restriction avec une similitude au sein de chaque génome variable selon l'enzyme. Ainsi, il est recommandé d'utiliser les enzymes EcoRV et Hind III pour identifier les isolats de *Borrelia* car les résultats sont les plus fiables avec comme pourcentages d'homogénéité respectifs 100% et 82% pour *B. burgdorferi* ss, 100% et 100% pour VS461 ; 63% et 55% pour *B. garinii*. L'électrophorèse des protéines a montré une grande hétérogénéité dans les profils protéiques mais trois groupes basés sur des protéines majoritaires ont été identifiés. Ces trois groupes coïncident avec ceux précédemment identifiés. Ainsi, il a été mis en évidence que *B. burgdorferi* ss présentait deux bandes protéiques majeures : une pour OspA de 31kDa et une pour OspB de 34kDa. Les souches de *B. garinii* produisent une bande protéique pour OspA de 33kDa et les souches du groupe VS461 une bande pour OspA de 32kDa et une bande pour OspB de 35kDa. Afin de pouvoir les identifier, la réactivité avec certains anticorps monoclonaux a été testée :

- Mab H9724 dirigé contre la flagelline : anticorps témoin réagissant avec toutes les souches,
- Mab H5332 et Mab H3TS dirigés contre OspA,
- Mab H6831 dirigé contre OspB,
- Mab D6 dirigé contre une protéine de 12kDa.

Ces tests ont permis de montrer que Mab H3TS permet d'identifier *B. burgdorferi* ss, Mab D6 permet d'identifier *B. garinii* et que l'absence de réactivité avec tous les

anticorps monoclonaux excepté Mab H9724 permet d'identifier les souches du groupe VS461. Tous ces résultats sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Présentation génétique des différentes souches de *Borrelia burgdorferi* (2)

	Composition ADN	Pourcentage d'homogénéité avec les enzymes de restriction		Modèles protéiques	Réactivité avec des anticorps monoclonaux			
	G+C %	EcoRV	HindIII		Mab H5332 (OspA)	Mab H3TS (OspA)	Mab H6831 (OspB)	Mab D6 (12kDa)
<i>B burgdorferi</i> ss (Amérique + Europe) Souche B31	27-30	100% 2 fragments	82% 4 fragments	OspA (31kDa) OspB (34kDa)	+	+	+/-	-
<i>B garinii</i> (Europe) Souche 20047	27-28	63% 3 fragments	55% 3 fragments	OspA (33kDa)	+/-	-	-	+
Groupe VS461 (Europe)		100%	100%	OspA (32kDa) OspB (35kDa)	-	-	-	-

Si nous nous intéressons plus particulièrement au génome de *Borrelia burgdorferi* ss, son séquençage (15) a révélé la présence d'un chromosome linéaire et d'au moins 17 plasmides circulaires et linéaires d'une taille totale de 533 kb environ.

Le chromosome linéaire, plutôt retrouvé chez les eucaryotes, comporte 910 725 pb avec une proportion de G+C de 28,6%. Il possède 853 gènes codant pour des protéines impliquées dans la réplication, la transcription, la traduction, le transport et le métabolisme. Plus précisément, on retrouve au niveau de sa séquence 61 triplets de codons utilisés dont les principaux sont AAA, AAU, AUU, UUU, GAA, GAU, UUA. Ces codons codent pour des acides aminés dont les majoritaires sont l'Isoleucine, la Leucine, la Lysine, la Sérine et l'Asparagine.

Parmi les dix sept plasmides présents, dix sont linéaires avec pour taille respective 56kpb, 54kpb, 38kpb, 36kpb, 25 kpb, 17 kpb et quatre de 28kpb. Les sept autres plasmides sont circulaires dont un de 9 kpb, un de 26 kpb et six homologues de 32 kpb. Seulement onze ont été séquencés : ils présentent 430 séquences codantes de 507 pb en moyenne dont 70 ont été identifiées et codent pour les protéines de surface OspA à OspD, la lipoprotéine VlsE, les enzymes de biosynthèse de la purine GuaA et GuaB et des protéines de liaison. Le pourcentage de G+C est compris entre 23,1% et 32,3%.

Concernant les voies de synthèse, le petit génome de *Borrelia burgdorferi* ne possède pas de gène codant pour la synthèse d'acides aminés, d'acides gras, de cofacteurs enzymatiques et de nucléotides. Ceci explique que la culture de ce spirochète soit si difficile et nécessite un milieu enrichi en sérum de Mammifère pour sa croissance (sérum de lapin le plus souvent).

L'analyse du génome *Borrelia burgdorferi* a permis de confirmer son métabolisme énergétique. En effet, des gènes codant pour toutes les enzymes de la glycolyse sont

présents. Le glucose serait la source primaire d'énergie. Il serait converti ensuite en pyruvate selon la chaîne de la glycolyse puis fermenté en lactate. Une autre source d'énergie serait le N-acétylglucosamine converti en fructose-6-phosphate impliqué dans le cycle de la glycolyse. Cependant, aucune chaîne respiratoire de transfert d'électron n'est retrouvée chez ce spirochète supposant ainsi que l'ATP est produite uniquement à partir de la phosphorylation du substrat.

La mobilité et le chimiotactisme sont permis par des protéines encodées par environ 54 gènes.

L'analyse du génome de *Borrelia burgdorferi* a aussi révélé la quasi-inexistence voire l'absence de gène impliqué dans la virulence ou l'interaction hôte-parasite. La présence de multiples copies de gènes plasmidiques pourrait peut-être expliquer le pouvoir pathogène et la virulence de la bactérie.

I-1-a-2) Métabolisme

Borrelia burgdorferi est une bactérie dont la température optimale de croissance est située entre 34 et 37°C (24) et dont le temps de génération avoisine les 11 à 12 heures à 35°C.

Elle est microaérophile c'est-à-dire que sa croissance est optimale dans un milieu où la pression en dioxygène est réduite. Son métabolisme est alors de type anaérobie : le D-glucose, source d'énergie et de carbone, est fermenté en acide lactique. En effet, l'absence de catalase et de peroxydase rend la voie oxydative directe bactéricide. Du fait de ce métabolisme particulier, la culture *in vitro* de cette bactérie s'avère complexe. Il est nécessaire que le milieu soit enrichi en certains constituants notamment de l'acide pyruvique activateur de la glycolyse, de l'ornithine composant du peptidoglycane et de lipides. Le milieu le plus adapté pour cette culture est le milieu Barbour Stoenner Kelly modifié (BSKII). L'observation des colonies se fait ensuite au microscope à fond noir ou à contraste de phase ou alors avec une coloration Giemsa ou de Warthin-Starry. Cependant, la culture étant très difficile et nécessitant plusieurs mois, elle est peu effectuée en pratique.

I-1-b/ Habitat

Borrelia burgdorferi ne survit pas dans le milieu extérieur. Elle survit *in vivo* et plus particulièrement dans le tube digestif des tiques. Cependant, elle peut persister deux voire trois mois dans du sang défibriné.

I-1-c/ Pouvoir pathogène : la maladie de Lyme

I-1-c-1) Infection de la tique

L'infection de la tique a lieu soit lors d'un repas sanguin sur un vertébré contaminé soit par transmission transovarienne mais uniquement en cas d'infection généralisée aux ovaires.

Le repas sanguin de la tique *Ixodes ricinus* dure environ 96 heures. Au cours des 24 premières heures, la bactérie pénètre au sein de l'organisme de la tique et se multiplie dans l'hémolymphe. La bactériémie reste tout de même faible et peu de germes sont retrouvés dans les tissus après cette phase. Elle migre de façon continue au sein de l'intestin de la tique et reste au niveau des caecums latéraux jusqu'au prochain repas sanguin. Plus précisément, les spirochètes forment des petits amas dans les espaces intercellulaires du mésentéron et dans les microvillosités de sa bordure en brosse.

Afin de survivre au sein de la tique, le spirochète doit être capable de s'adapter au métabolisme de la tique et de persister au moment des repas sanguins et des mues.

Pour ce faire, il existe des mécanismes d'adaptation permis notamment par certaines protéines appelées protéines de surface. Par exemple, les protéines OspA et OspB permettent d'assurer l'adhérence du spirochète à l'intestin de la tique et donc d'éviter toute destruction ou migration au cours des mues et des repas sanguins. (38)

I-1-c-2) Transmission à l'hôte

Afin d'effectuer son repas sanguin, la tique enfonce son hypostome au sein de l'épiderme de l'hôte et libère simultanément par sa salive des substances vasoactives, anticoagulantes et cytolytiques. L'ancrage de son rostre dans la peau est assuré par un ciment composé de glycoprotéines polymérisant au contact de l'air. Au cours des 24 à 72 premières heures appelées phase lente du repas sanguin, une multiplication des bactéries se produit au sein de l'intestin de la tique. Suite à cette prolifération bactérienne, une dissémination des spirochètes depuis l'intestin jusqu'aux glandes salivaires de la tique est observée. La transmission à l'hôte est alors possible par le biais de la salive enrichie en bactéries.

Concernant le mécanisme mis en jeu, les protéines de surface sont les principales impliquées dans la transmission. En effet, au cours de l'engorgement de la tique, il a été montré une sous-expression du gène *ospa* et une sur-expression du gène *opsc*. Cette régulation des gènes, probablement liée à des variations thermiques, permet au spirochète d'atteindre les glandes salivaires et ainsi de pouvoir être transmis à l'hôte. En effet, la protéine OspC se lie à une protéine salivaire de la tique et assure ainsi une transmission mécanique. A ces protéines s'ajoute la protéine salivaire Salp15 impliquée également dans la transmission du spirochète. Elle supprimerait la production de peptides antimicrobiens générés par *Borrelia burgdorferi* et ainsi la protégerait contre la réponse immunitaire innée cutanée de l'hôte (38).

Borrelia burgdorferi doit également résister à la réponse immunitaire de l'hôte. Pour cela, elle utilise des protéines de surface régulatrices du complément appelées CRASP et des protéines Osp E/F relatives (Erp) pour se lier au facteur H ou FHL et inhiber l'activation du complément. (38)

I-1-c-3) Infection de l'hôte

Après inoculation de la bactérie via une morsure de tique, s'en suit une dissémination de celle-ci à différents organes notamment aux articulations. La bactériémie n'est que transitoire et très rarement observée en pratique.

Chez l'homme, il a été montré que *Borrelia burgdorferi* reste plusieurs jours au sein de la matrice extracellulaire cutanée. Elle s'y déplace et génère ainsi l'érythème migrant observé peu de temps après la morsure. Pour se mouvoir dans une telle matrice, le spirochète doit faire face à la fibrine, réel obstacle à la migration. Pour cela, il se lie au plasminogène qui, après activation en plasmine, présente la capacité de lyse protéolytique et notamment de lyse de la fibrine. Cette liaison pourrait être permise, selon certaines études, par les protéines de surface OspA et OspB. *Borrelia burgdorferi* se lie également à d'autres composants de la matrice extracellulaire notamment à certains protéoglycanes, des glycosaminoglycanes, du collagène et de la fibronectine qui lui confèrent son tropisme futur. En effet, sa liaison à l'héparane sulfate lui confère un tropisme pour les cellules endothéliales et gliales, celle au dermatane sulfate aux cellules gliales, celle aux intégrines aux plaquettes et celle au dextrane aux globules rouges (30).

Concernant le mécanisme pathogénique de l'infection, il est très peu connu chez le chien mais serait de nature immunopathologique.

I-2) Épidémiologie

La borréliose de Lyme est une zoonose c'est-à-dire qu'il s'agit d'une maladie transmissible de l'animal à l'homme et réciproquement. Elle est la première maladie zoonotique vectorielle aux Etats-Unis. Il s'agit d'une zoonose de classe III c'est-à-dire que la transmission se fait entre une tique et de multiples réservoirs vertébrés (hôtes). (38)

La répartition géographique correspond à celle des tiques du genre *Ixodes* à savoir les régions humides et boisées de l'hémisphère Nord.

I-2-a/ Prévalence de la borréliose de Lyme

Une étude a cherché à calculer les séroprévalences de certaines maladies vectorielles en France ainsi que leur répartition géographique. Pour ce faire, 919 sérums de chiens provenant des diverses prises de sang effectuées chez des vétérinaires de toute la France ont été envoyés dans un laboratoire allemand qui a effectué des tests immunoenzymologiques de type SNAP 4Dx. Ces tests mettent en évidence les anticorps dirigés contre *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* et un antigène de *Dirofilaria immitis*. 10 sérums sur 919 soit 1.09% [0.52 ; 1.99%]_{95%} des chiens sont revenus positifs à *Borrelia burgdorferi* dans sept départements. Cette prévalence est nettement supérieure à celle mentionnée par Bourdeau en 2008 qui l'estimait alors à 0.03-0.06 cas pour mille. Les explications possibles à cette différence sont tout d'abord la méconnaissance de cette maladie par certains vétérinaires qui la sous-estiment alors. A ceci s'ajoute également le fait que le test utilisé met en évidence l'infection bactérienne active alors que seuls 5% des chiens infectés développent la maladie (42, 33).

Par analogie, une étude nationale similaire a été réalisée en 2008 aux Etats-Unis. Elle a révélé que les anticorps de *Borrelia burgdorferi* sont plus fréquemment retrouvés chez les chiens du Midwest et du Nord (4-6,7% et 5,5-11,6% respectivement). De plus, il semblerait que chaque organisme serait aussi bien être présent dans des zones endémiques que dans des grandes aires où la prévalence est faible. Ainsi, les chiens peuvent servir de sentinelle pour identifier les agents de maladie vectorielle pour la santé vétérinaire mais aussi la santé publique. (5)

I-2-b/ Hôtes, vecteurs et cycle

α- Agent

Borrelia burgdorferi sensu lato compte au moins 19 génotypes avec une distribution mondiale. En Amérique du Nord, seulement un génotype a été confirmé comme pathogène pour l'homme : *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. En Europe, plusieurs espèces sont impliquées.(38)

β- Espèces affectées

La maladie de Lyme touche l'homme, les mammifères domestiques et sauvages à savoir les bovins (boiterie), les chevaux, mais aussi les carnivores (renard et chiens).

D'autres espèces peuvent être porteuses sans développer de signes cliniques. Nous les détaillerons ci-après.

γ- Hôtes et réservoirs

Un **réservoir** est, par définition, un système écologique (biotope et biocénose) dans lequel un agent (zoonotique) survit indéfiniment. Il comprend donc l'ensemble des populations hôtes ainsi que les hôtes intermédiaires ou vecteurs (le plus souvent invertébrés) et leur biotope. (47)

Les espèces réservoirs doivent être capables (38) d'acquérir le spirochète à partir d'une tique infectée, de permettre à l'agent de se multiplier et/ou de se développer et de persister dans son corps et de transmettre l'agent à une autre tique lors de son repas sanguin. Parmi les nombreux réservoirs animaux, les rongeurs jouent le rôle de véritables réservoirs car leur infection reste inapparente. Les cervidés, quant à eux, ont davantage un rôle d'entretien et de dissémination des tiques mais cela reste controversé. En effet, les cervidés seraient des réservoirs incompetents mais des marqueurs biologiques de la présence de tiques. Ils servent d'hôtes pour un grand nombre de tiques et contribuent significativement à la population vectorielle. (38)

Les lièvres (*Lepus spp*) et hérissons (*Erinaceus europaeus*) sont des réservoirs compétents pour de nombreux génotypes (38). Les blairaux (*Meles meles*) et le renard roux (*Vulpes vulpes*) peuvent en théorie constituer également des réservoirs mais bien que des spirochètes aient été retrouvés dans la peau et dans le sang des renards (capacité de transmettre l'infection aux tiques), il n'a pas été prouvé qu'ils étaient des réservoirs compétents. (17) Les réservoirs principaux des différents génotypes de *Borrelia* sont récapitulés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Principaux réservoirs des différents génotypes de *Borrelia burgdorferi* (38)

Génotype	Réservoir
<i>B. garinii</i>	Oiseaux (troubles nerveux)
<i>B bavariensis (B. garinii sérotype 4)</i>	Souris
<i>B burgdorferi ss</i>	Mammifères de petite et moyenne taille (troubles articulaires et cutanés)
<i>B afzelii</i>	
<i>B. spielmanii</i>	Loir (lésions cutanées)
<i>B. valaisiana</i>	Oiseaux
<i>B. lusitaniae</i>	Lézards, oiseaux, souris

Un **hôte** se définit par un être vivant qui héberge et entretient dans des conditions naturelles un agent pathogène. Différentes catégories d'hôtes existent : (47)

- Les hôtes réservoirs ou hôtes primaires qui permettent la survie de l'agent zoonotique,
- Les hôtes incidents ou hôtes secondaires ou encore hôtes accidentels qui sont infestés à partir du réservoir mais ne sont pas nécessaires au maintien de la population d'agents zoonotiques,
- Les hôtes messagers ou hôtes de liaison qui transmettent l'agent zoonotique d'un réservoir à un hôte incident.

Les hôtes de *Borrelia burgdorferi* doivent être capables d'acquérir le spirochète depuis une tique infectée, de la transmettre à une tique non infectée et de servir d'hôtes au cours des différents stades de vie du vecteur. L'hôte se doit d'être à proximité de la tique. Celle-ci pouvant être à l'affût entre 20 et 150 centimètres au dessus du sol selon le support choisi. Il semblerait que les formes immatures se retrouvent préférentiellement sur des petits mammifères et oiseaux et que les adultes choisiraient davantage les grands mammifères. (42)

δ- Vecteurs

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé, un vecteur est un arthropode hématophage qui assure la survie, la transformation, parfois la multiplication et la transmission d'un agent pathogène infectieux ou parasitaire.

La borréliose de Lyme est une zoonose transmise par un arthropode hématophage du genre *Ixodes* appartenant au complexe *Ixodes ricinus*. Selon les zones géographiques, il existe différentes espèces de tiques notamment *I. scapularis* au Nord-Est et Sud Est des Etats-Unis et au Canada, *I. pacificus* dans l'Ouest des Etats-Unis, *I. ricinus* en Europe tempérée, *I. persulcatus* en Europe de l'Est et en Asie et *I. ovatus* au Japon. Il existe également des vecteurs secondaires permettant l'entretien du cycle qui constituent alors un réservoir sauvage (*I. dentatus*, *I. neotomae*, *I. spinipalpis*, *Pholeoixodes hexagonus*, *Ixodes uriae*). (42)

Ixodes ricinus peut se nourrir sur tous les vertébrés présents dans son environnement. Plus particulièrement, on retrouve davantage de larves sur les petits mammifères, les nymphes sur des mammifères de taille moyenne et les adultes plutôt sur des grands animaux de type ongulés.

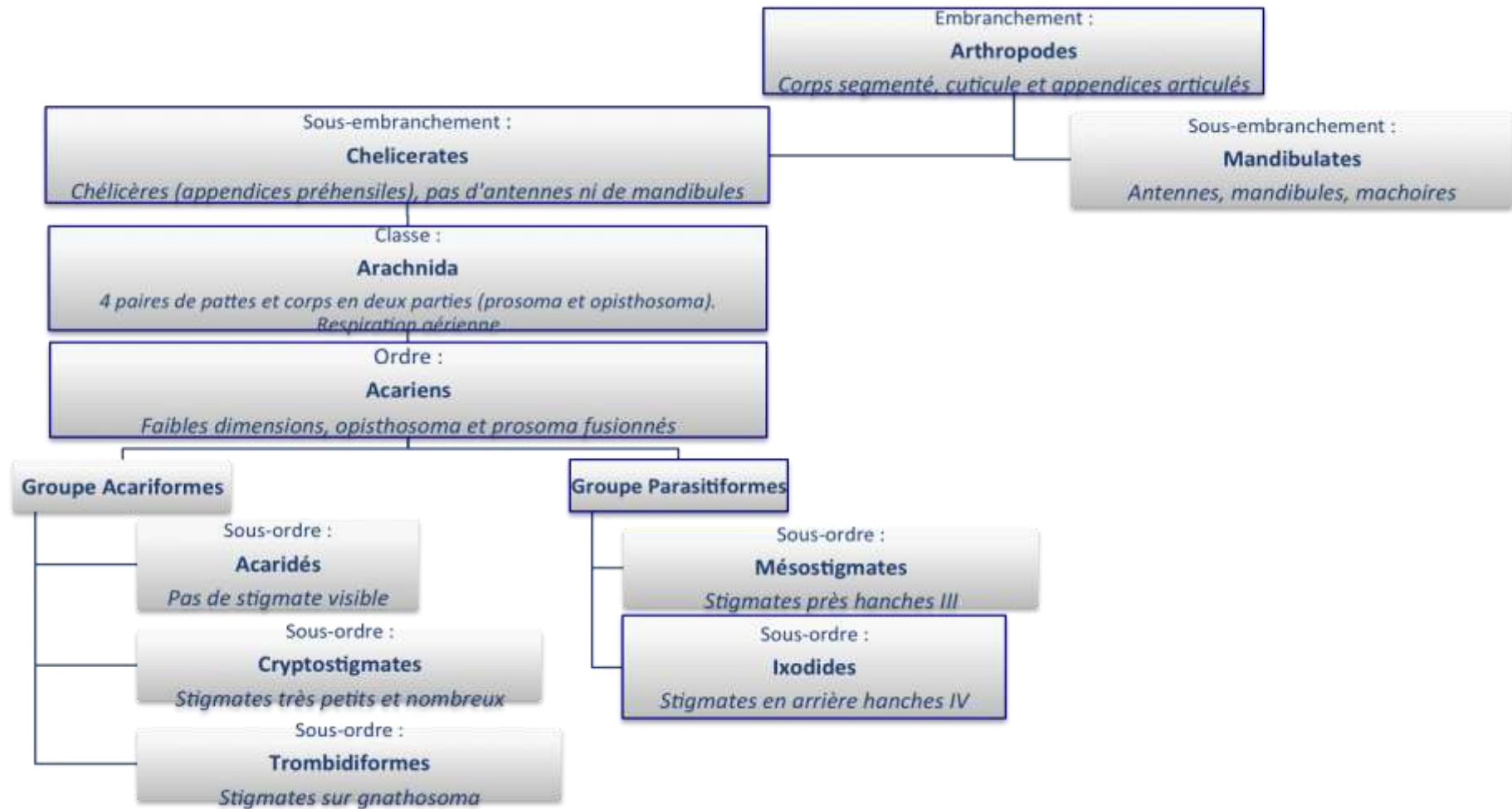
La répartition n'est ni homogène ni aléatoire. La majorité des tiques sont agrégées sur une petite portion de l'hôte. L'aggrégation simultanée de nymphe et de larve de tique sur un même hôte favorise la transmission systémique si un temps suffisant s'écoule pour permettre le développement de l'infection dans l'hôte et ainsi l'infection de la larve. (38)

Ixodes ricinus sera plus longuement détaillé ici car il constitue le vecteur principal de la maladie en Europe occidentale.

Taxonomie : (8)

Ixodes ricinus appartient au genre *Ixodes* et au sous-ordre des *Ixodidés* qui sont des acaréens de grande taille au corps aplati chez les individus à jeun et globuleux chez les individus gorgés. (figure 4)

Figure 4 : Classification d'*Ixodes ricinus*



Morphologie : (8)

Ixodes ricinus est une tique de la famille des Ixodidés (tique dure) de grande taille avoisinant 2 à 10 mm, voire parfois plus lors du repas sanguin. Elle présente un dimorphisme sexuel marqué qui sera détaillé par la suite. Son corps peut-être subdivisé en deux parties : le gnathosoma dans sa partie crâniale et l'idiosoma dans sa partie plus caudale. (figure 5)

Le gnathosoma comprend le capitulum ou base du rostre de forme rectangulaire ou hexagonal et le rostre composé d'un hypostome ventral, de chélicères dorsales et de pédipalpes. Chez la femelle, l'hypostome a ses denticules beaucoup plus développées et deux aires poreuses se situent sur la face dorsale du capitulum.

L'idiosoma présente sur sa face dorsale un écusson dorsal découpé en 11 festons sur le bord postérieur. La face ventrale est composée des quatre paires de pattes formées chacune de 6 articles, un pore (orifice anal) contourné à l'avant par un sillon anal et un gonopore (orifice génital) contourné par un sillon génital et d'une paire de stigmates entourée d'un péritrème (plaque perforée).

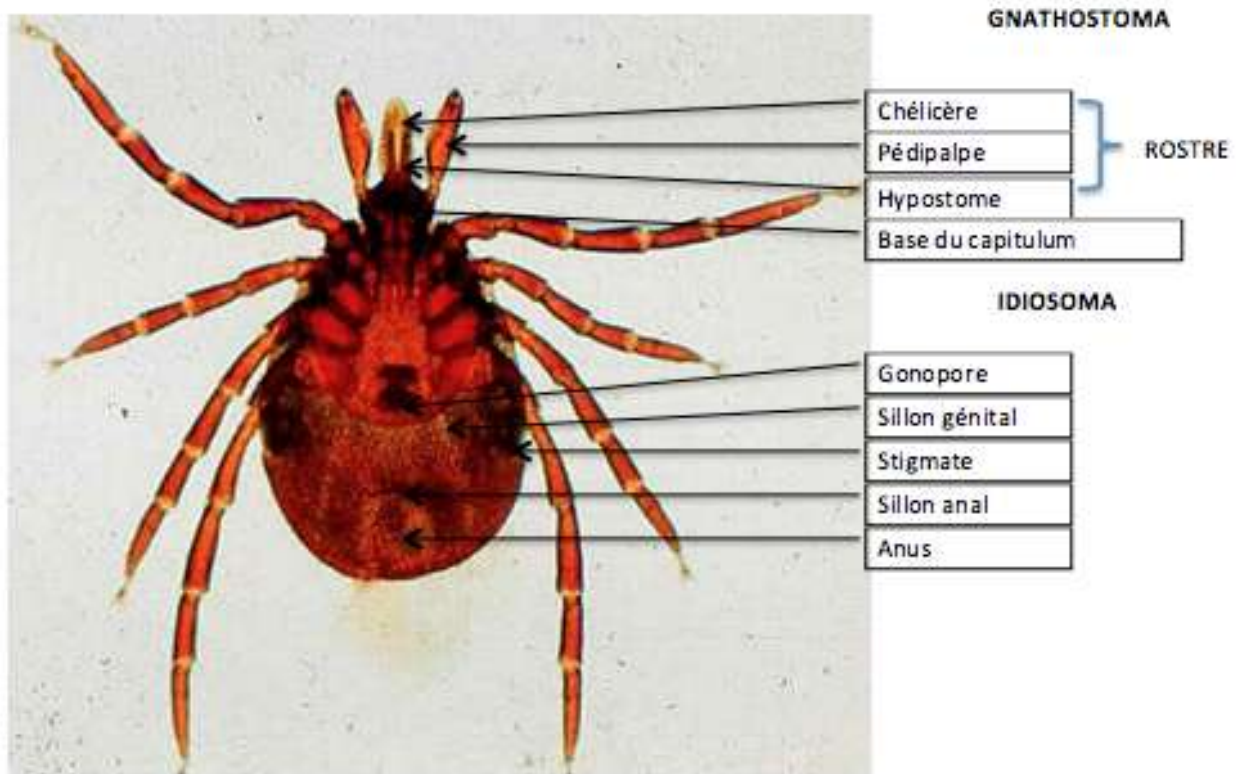
La femelle a la particularité d'être de dimension supérieure avec un écusson dorsal plus réduit.

La nymphe présente le même aspect que la femelle mais est plus petite (1-4 mm) et ne possède pas d'orifice génital ni d'aires poreuses.

La larve est très petite (0,6-1,4 mm), hexapode et est dépourvue de stigmates.

Concernant l'anatomie interne de la tique, son appareil digestif est composé d'une bouche, d'un pharynx musculeux, d'une paire de glandes salivaires formées de divers acini, d'un œsophage court et très fin, d'un estomac à partir duquel se forment les caecums digestifs, un rectum et d'un anus non fonctionnel. L'appareil génital du mâle est composé de deux testicules, deux canaux déférents qui fusionnent pour former une vésicule séminale, lieu de production des spermatophores. La femelle possède un ovaire tubuleux en fer à cheval, deux oviductes longs et sinueux, un utérus, un vagin, et une spermathèque.

Figure 5 : Morphologie d'*Ixodes ricinus* (UP Parasitologie ENVA)



Habitat et nutrition : (8)

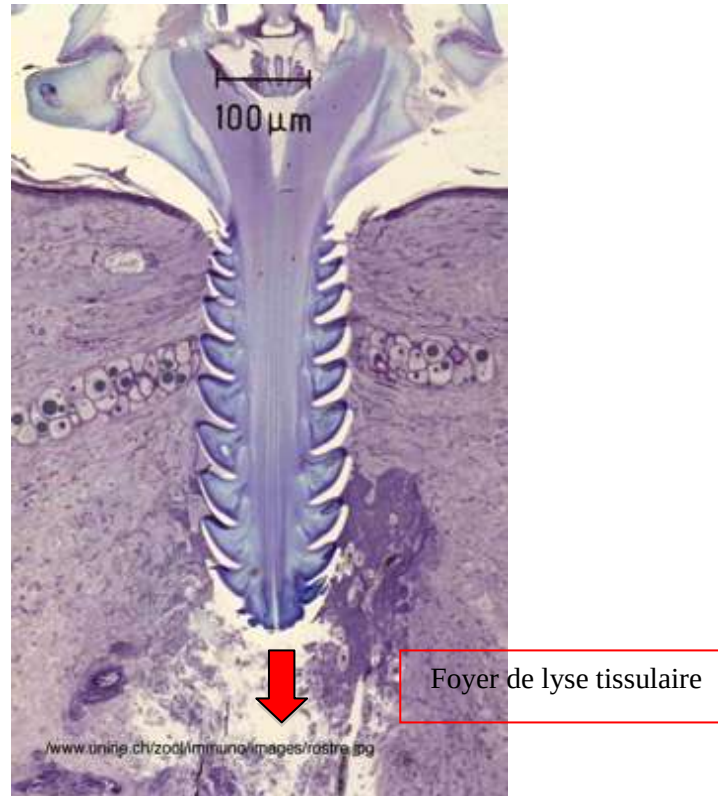
Les tiques du genre *Ixodes ricinus* sont hématophages à l'exception des mâles qui ne se nourrissent généralement pas.

La vie de la tique se fait sur deux habitats possibles : un hôte et le milieu extérieur. Concernant la vie parasitaire, elle commence tout d'abord par le choix de l'hôte. *I. ricinus* est télotrope c'est-à-dire que la larve et la nymphe se nourrissent sur tous les vertébrés terrestres et que les adultes ne se nourrissent que sur les grands mammifères.

Pour se fixer à son hôte, la tique choisit généralement une zone où la peau est fine puis enfonce ses chélicères. Elle sécrète alors une salive qui digère les tissus puis introduit son hypostome pendant que les pédipalpes s'écartent. Ensuite, une salive spécifique se solidifie pour former un ciment assurant une fixation extrêmement solide autour de l'hypostome (figure 6). Puis, le repas sanguin débute avec l'injection de salive aux propriétés anticoagulantes et vaso-dilatatrices. Larves, nymphes et femelles non fécondées ne se gorgent que partiellement contrairement aux femelles fécondées qui se gorgent en deux étapes : la phase lente puis une phase rapide où plusieurs millilitres de sang sont absorbés et concentrés (élimination eau et métabolites par les cellules à eau des glandes salivaires). À chaque stade, la tique ne prend qu'un seul repas sanguin de durée avoisinant les 3 à 15 jours. A la fin de ce

gorgement, une salive assure le ramollissement du ciment et permet ainsi le détachement de la tique.

Figure 6 : Hypostome d'*Ixodes ricinus* (UP Parasitologie ENVA)



Ixodes ricinus est une tique exophile au stade adulte c'est-à-dire quelle vit dans des habitats très divers à la recherche de l'hôte. Elle se place à l'affût sur les végétaux dans l'attente d'un hôte donc on la retrouve plutôt dans des zones boisées et humides. Larve et nymphe sont plutôt endophiles à la recherche de petits rongeurs souterrains.

Sa répartition géographique concerne tout le territoire métropolitain français excepté les zones littorales, les régions méditerranéennes et les zones d'altitude supérieure à 1500m du fait des vents importants (figure 7). Deux périodes semblent plus propices à l'activité d'*Ixodes ricinus* : le printemps en grande majorité et la fin de l'été. (42)

Figure 7 : Répartition géographique d'*Ixodes ricinus* en France (A. Estrada et P. Bourdeau)



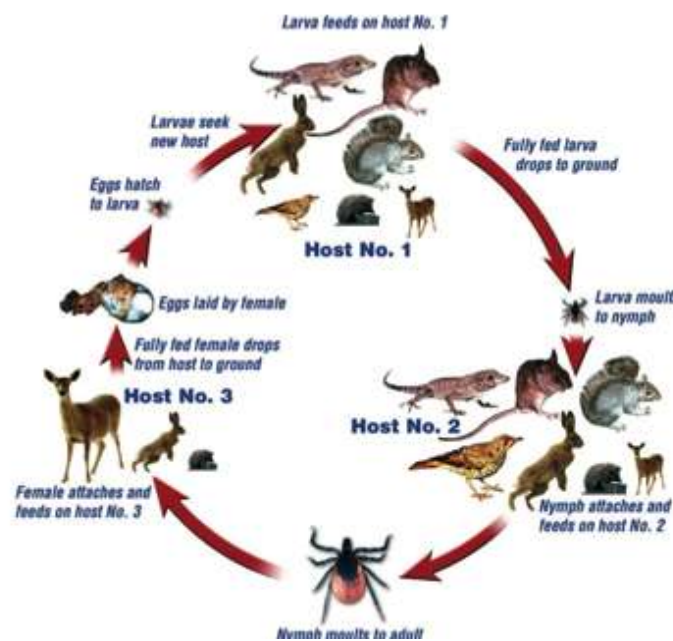
Cycle :

Son cycle comporte trois phases (larve, nymphe, adulte) toutes hématophages (trixène) avec une diversification importante des hôtes (télotrope) (figure 8). La durée de ce cycle avoisine en général un an et demi et peut aller jusqu'à quatre ans et demi en région tempérée. Cette variabilité est dépendante des facteurs climatiques (température, hygrométrie), de l'habitat (préférentiellement dans les domaines boisés) et des hôtes. (42)

La femelle adulte, après son repas sanguin pris sur l'hôte (ongulés), se détache de celui-ci pour se nicher dans un abri de type crevasse, pierre, litière où elle pondra après un temps plus ou moins long d'ovogénèse (8 à 30 jours au laboratoire). La quantité d'œufs émis est dépendante du poids de gorgement de la femelle et avoisine les 2000 à 3000 œufs dans les conditions optimales. Quelques jours voire quelques semaines après cette ponte, la femelle meurt. Dans des conditions favorables d'humidité et de température, les œufs éclosent trois à six semaines après la ponte pour former des larves hexapodes d'environ 1mm. Celle-ci se gorge à son tour pendant environ trois à cinq jours sur un hôte (petits animaux de type reptiles, oiseaux) puis se détache, s'abrite et mue pour former une nymphe hexapode de 2 mm.

A son tour, elle prend son repas sanguin pendant 3 à 5 jours sur un hôte (animaux de taille moyenne type oiseaux, reptiles) et le volume de gorgement conditionnera la taille de l'adulte et son sexe (le mâle sera issu d'une nymphe à poids de gorgement inférieur à la femelle). L'adulte, mesurant 4 à 5 mm, pratique alors l'affût (première pattes écartées avec à leur surface l'organe sensoriel de Haller) mais seule la femelle est douée de la capacité de gorgement avec un repas durant entre huit à neuf jours qui ne pourra être achevé que si elle est fécondée. L'accouplement peut se produire sur le sol ou sur l'hôte. (42, 38)

Figure 8 : Cycle de développement d'*Ixodes ricinus* (13)



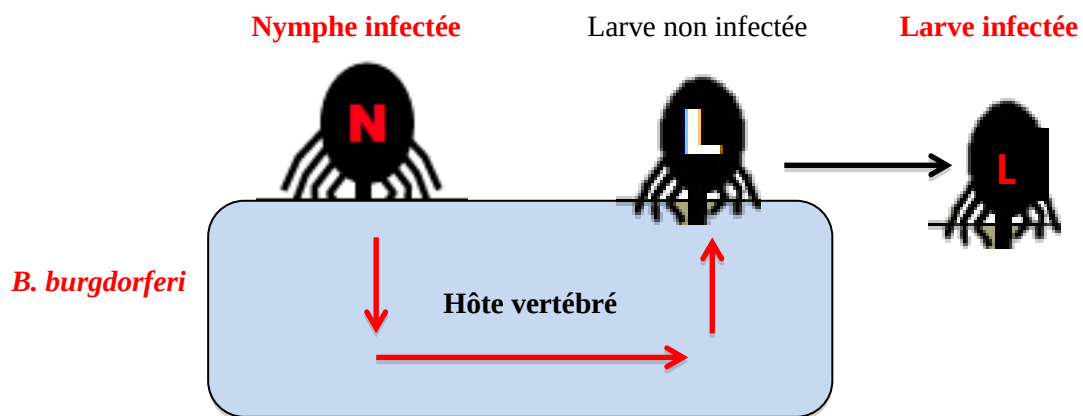
I-2-c/ Mode de transmission

La transmission de la bactérie ne devient possible qu'après trente six heures de contact entre la tique et l'hôte. Elle dépend du potentiel infectieux de l'hôte envers les tiques sensibles évaluable par le pourcentage de larves saines ayant acquis l'infection après repas sanguin sur l'hôte. Ceci dépend de l'hôte, des souches de spirochètes, du degré d'exposition de l'hôte, du degré et de la durée d'infestation par des tiques saines et de l'immunité de l'hôte. La densité de population de l'hôte ainsi que celle des tiques constituent également des facteurs influant sur la transmission.

La transmission sanguine est la meilleure transmission des spirochètes des réservoirs aux tiques (infection durable). De plus, la transmission est meilleure si l'infection des nymphes est active au printemps et que les larves sensibles sont actives l'été de la même année, c'est-à-dire que les réservoirs sont tout d'abord infectés par les nymphes puis transmettent l'infection aux larves. (38)

Borrelia peut être transmise lorsqu'une tique engorgée est à proximité de la peau de l'hôte sans infection systémique (co-feeding transmission). Ce mode de transmission présenté dans la figure 9 entre une nymphe infectée et une larve saine peut survenir lors d'une infestation simultanée d'un vertébré et est favorisée par un regroupement de tiques sur la peau de l'hôte. Ce mode de transmission, bien que probablement minoritaire face à la transmission systémique, mériterait de réévaluer l'implication de certains ongulés dans le cycle. Il a été récemment montré que pour *B. afzelii*, ce mode de transmission contribue au maintien de la diversité génotypique dans une population de tique locale et peut être plus significatif que ce que l'on pensait. (38)

Figure 9 : Transmission par co-feeding chez *Ixodes ricinus* (UP Parasitologie ENVA)



Bien que la transmission transovarienne des spirochètes soit rare, elle peut contribuer significativement à l'entretien de l'infection chez les petits rongeurs. En effet, les souris et les campagnols servent d'hôtes à des nombreuses larves (plus de 10 par rongeurs) et ce mode de transmission peut augmenter d'1% le niveau d'infection larvaire. Dans certaines régions, ce mode de transmission est même nécessaire pour le maintien de l'infection car la fréquence de morsure des nymphes sur les rongeurs est insuffisante. (38)

La dynamique de transmission du spirochète a été étudiée selon différents systèmes multi-hôtes (38). Le premier système multi-hôtes utilisé est constitué d'un réservoir compétent pour les spirochètes et hôte pour les formes immatures de tiques (souris) et d'un réservoir incompétent et hôte des différents stades de tiques dont les adultes (cerf) semblable à la situation des Etats-Unis. Il a alors été observé que dans les zones où les cerfs sont rares, la population de tique est diminuée et la transmission est donc moins intense. Dans les zones de forte densité en ongulés de type cerfs, le phénomène de dilution apparaît (réduction de la prévalence en nymphes infectées du fait d'un engorgement massif de larves qui muent alors en nymphes non infectées). L'allure de la courbe « à seuil » évaluant la relation entre la densité de population des hôtes et la transmission de spirochètes est caractéristique puisqu'elle présente une convexité à gauche. Cela signifie qu'il existe une densité optimale de cerfs qui permette la transmission. En dessous de ce seuil, les tiques seront en quantité insuffisante pour la

transmission et au-delà de ce seuil, l'effet de dilution réduira également la transmission d'autant plus lorsque la population en hôtes compétents sera faible. Dans des aires privées de cerfs, de grande superficie, la population de tique est diminuée du fait de l'absence de cerfs. Cependant lorsque ces aires sont de taille plus restreinte, il a été observé une augmentation de la population de tiques. Ceci peut s'expliquer par les déplacements des rongeurs infectés à travers les clôtures à l'abri des cerfs. Ainsi dans de telles circonstances, l'éventuel effet de dilution exercé par les ongulés sauvages sur la transmission de *Borrelia burgdorferi* et leur influence sur la population de tiques rend très difficile l'estimation de la prévalence de nymphes basée sur leur unique densité.

Le second système multi-hôtes étudié est constitué de réservoirs de compétence différente pour un même génotype de *Borrelia burgdorferi* s.l à savoir un réservoir primaire de fort potentiel infectieux pour les tiques (souris à pattes blanches) et des réservoirs secondaires de faible potentiel infectieux (écureuil roux). Ces conditions miment celles observées en Amérique du Nord et en Europe. Il a été observé que l'augmentation de la densité des hôtes conduit à une augmentation de population de tiques et donc de transmission. Néanmoins, lorsque ces hôtes présentent un faible potentiel infectieux, ils ont plutôt un effet de dilution sur la transmission. En effet, les tiques sont détournées des hôtes à fort potentiel infectieux et donc la transmission est réduite. De plus, les réservoirs secondaires seront également à l'origine d'une mortalité chez les tiques et auront un effet négatif sur la densité d'hôtes primaires.

Le troisième système multi-hôte étudié est composé d'espèces animales compétentes pour différents génotypes de *Borrelia burgdorferi* s.l. Il a été montré que la composition des populations d'hôtes n'influe pas vraiment sur l'intensité de la transmission mais détermine la fréquence relative en différents génotypes. Ainsi, les vertébrés peuvent servir de réservoir primaire pour des génotypes particuliers et dans un même temps affecter la transmission d'autres génotypes par le biais d'une dilution ou d'une augmentation de vecteurs.

Un modèle mathématique basé sur des observations en Toscane (43) a montré que *B. lusitaniae* était prédominante en présence de lézards servant d'hôtes pour un grand nombre de nymphes au printemps et de larves en été. Ce modèle a également montré que la persistance de *B. afzelii* n'était possible que si la population de souris et le niveau d'infestation de celles-ci par les nymphes étaient maximales. Ainsi une densité insuffisante d'hôte et/ou un niveau d'infestation trop faible peuvent être à l'origine d'une altération de la transmission de certains génotypes.

I-2-d/ Facteurs environnementaux

La température dans le Nord de l'Europe devrait augmenter de 1,5 à 2,5°C d'ici les prochaines décennies du fait du réchauffement climatique. *Ixodes ricinus* passe la plupart de son temps dans le milieu extérieur, donc sa survie, son développement et sa reproduction seraient probablement affectés par le changement climatique bien que résistant à de grandes variations thermiques (-15°C à 35°C) (38). Des individus « à jeun » peuvent survivre à -18,9°C pendant 24h. Néanmoins, aucun développement n'est possible entre 7 et 10°C.

Le facteur le plus important pour le bon développement de la tique est l'humidité relative (42). En effet, *Ixodes ricinus* a besoin, pour survivre et se développer, d'une humidité relative supérieure à 80% (pluviométrie modérée à élevée, végétation abondante, sol humide). Le changement climatique va générer une modification de la couverture végétale pouvant toucher les formes libres des tiques, le mouvement des hôtes vers une flore plus adaptée et donc affecter la transmission de la maladie. Les hôtes les plus importants en Europe pour le maintien de la population des tiques sont les cervidés (*C. capreolus*). Une élévation de la température dans les régions du Nord et les régions en altitude vont permettre une meilleure survie l'hiver et des naissances plus précoces à l'origine d'une augmentation de la densité en cerfs. Cependant, dans le Sud, l'effet sera contraire. Les étés chauds vont avoir un impact sur l'activité de recherche des tiques notamment par le fait qu'elles soient soumises à la diapause. Les tiques seraient plus abondantes en printemps et début d'hiver et donc une augmentation de leur activité serait observée au printemps (38).

Concernant la distribution et l'incidence de la borréliose de Lyme, les hivers doux peuvent étendre la saison d'activité de la tique, augmentant l'acquisition de l'hôte avant la fin de l'année et donc augmentant le nombre de tiques infectées l'année suivante. Les morsures de tiques sont plus fréquentes lorsqu'il fait chaud et humide car cela favorise l'activité des tiques et est souvent associé à la cueillette des champignons.

Il est donc évident que le réchauffement climatique va affecter le cycle des tiques et la transmission des maladies mais la complexité des facteurs impliqués dans l'activité de la tique et la transmission de la maladie rend impossible toute hypothèse concernant l'avenir. (38)

I-3) Signes cliniques chez le chien

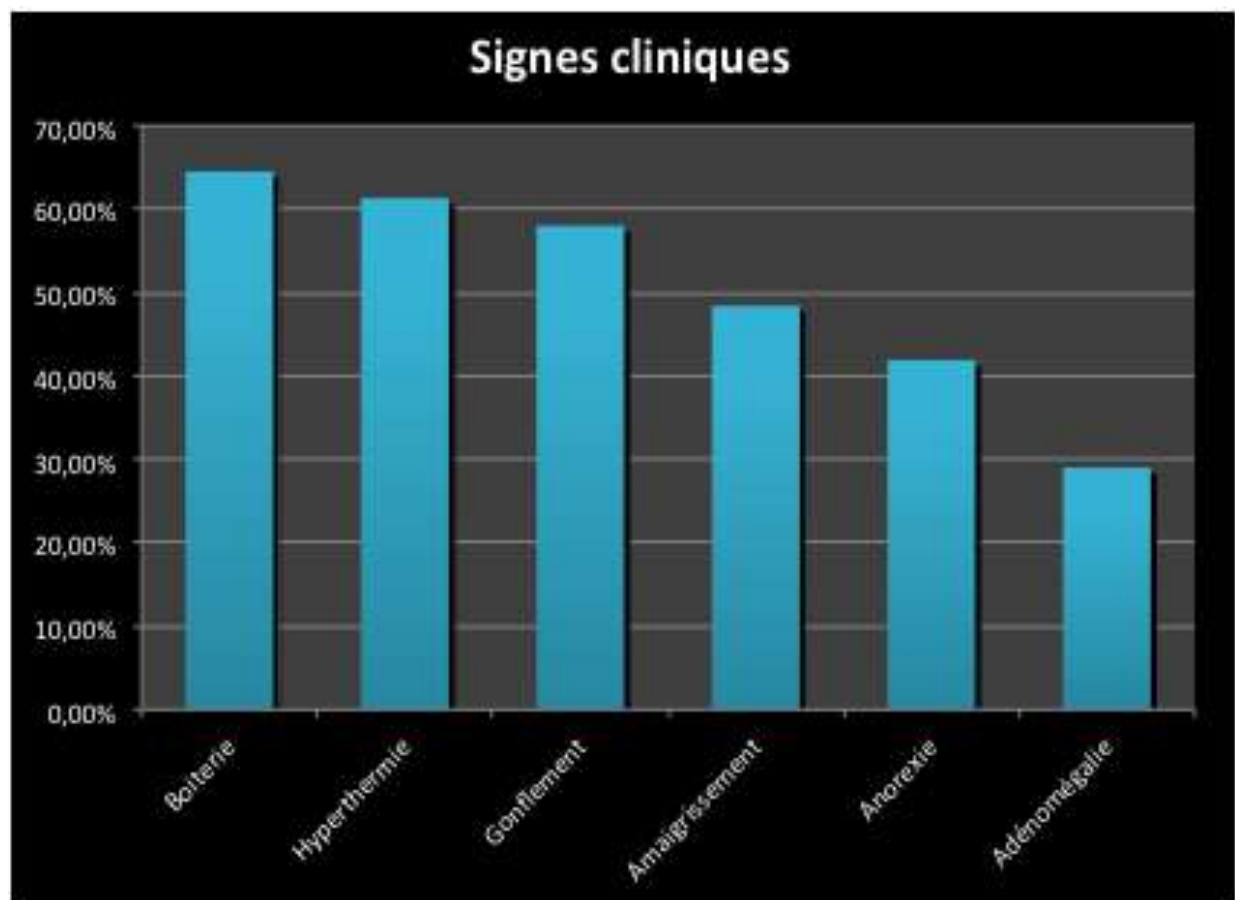
Lors de la publication des premiers cas de maladie de Lyme chez les chiens, elle était assimilée à celle observée chez les hommes (31). Chez ceux-ci, la maladie de Lyme se manifeste par une atteinte cutanée et plus précisément un érythème migrant, une atteinte articulaire (arthrite), cardiaque (troubles de la conduction), neurologique (radiculite hyperalgique, paralysie faciale, encéphalomyélite, encéphalopathie démyélinisante) et oculaire (conjonctivites, kératites, uvéite, décollement de la rétine). Cependant, des études récentes ont montré que certains symptômes n'étaient pas corrélés à la présence de la bactérie comme les troubles neurologiques ou encore cardiaques lors de la borréliose canine. Aujourd'hui, une infection expérimentale reposant sur une sensibilisation aux tiques a montré que seuls l'arthrite et le syndrome fébrile constituent des symptômes avérés de la maladie de Lyme chez le chien (48) (37). Il est important de préciser que seuls 5% des chiens infectés sont symptomatiques. En terme de fréquence, il a été observé que, chez les chiens symptomatiques présentant de l'ADN du spirochète, le symptôme le plus souvent observé est la boiterie (64.5%) suivie de la fièvre (61.3%), puis d'un gonflement des articulations carpiennes et tarsiennes (58%), d'une perte de poids (48.4%), d'une anorexie (41.9%) et enfin d'une adénomégalie (29%) (figure 10).

25.8% de ces chiens présentent trois des symptômes simultanément et 22.6% en présentent deux. (48)

L'expression clinique de l'infection semble également dépendre de la localisation des tiques et de l'âge de l'animal. En effet, lorsque celles-ci sont davantage ancrées au niveau de la tête, du cou et de l'abdomen ventral et donc à distance des articulations, les signes de boiteries sont moins souvent rencontrés. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'organisme dispose alors de plus de temps pour éliminer les agents pathogènes avant qu'ils n'atteignent les articulations. (31)

Concernant l'âge de l'animal, il semble influencer sur les signes cliniques observés. En effet, après mise en contact de tiques sur des Beagles à New-York, les adultes ont présenté une séroconversion mais sont restés asymptomatiques. Cependant, les chiots âgés entre 6 à 12 semaines ont développé une arthrite au niveau du membre le plus proche de la morsure associée ou non à une lymphadénopathie environ 2 à 5 mois après l'exposition. Une rémission spontanée a été observée dans les 4 jours suivants. Certains chiots ont développé des épisodes similaires au niveau du même membre ou d'un autre quelques semaines après et qui ont rétrogradé spontanément. Les chiots plus âgés ont été moins souvent touchés et seulement pendant 1 à 2 jours (37).

Figure 10 : Fréquence des signes cliniques observés lors de borréliose de Lyme chez le chien



I-3-a/ Atteinte articulaire

L'atteinte articulaire se manifeste cliniquement soit par l'apparition d'une boiterie soit par un gonflement articulaire carpien et tarsien.

La boiterie, symptôme le plus fréquemment observé lors de maladie de Lyme, peut toucher un ou plusieurs membres. Concernant son apparition, il a été montré (31) que le premier épisode survenait après une incubation de 50 à 123 jours suite à l'exposition à une tique. Cette période correspond au moment où le diagnostic de la borréliose est généralement entrepris par le vétérinaire. Ainsi, il est important de se renseigner sur une éventuelle exposition aux tiques lorsqu'un chien est présenté pour une boiterie et de l'inclure dans le diagnostic différentiel.

L'atteinte des articulations peut être plus ou moins grave. La sévérité de cette atteinte semble dépendre de l'espèce et de l'âge du chien : les chiots beagles sont plutôt sujets à une oligoarthropathie alors que les adultes sont plus sujets à des synovites asymptomatiques. (29)

D'un point de vue pathogénique, une analyse cytologique du liquide synovial a révélé la présence d'une inflammation neutrophilique. La présence d'immuns-complexes est également fortement suspectée.

I-3-b/ Syndrome fébrile

Le syndrome fébrile se manifeste par une hyperthermie, un amaigrissement et une anorexie. Ces trois symptômes peuvent apparaître simultanément ou non. En effet, l'hyperthermie est présente chez plus d'un chien sur deux alors que la perte de poids et l'anorexie sont observées dans environ 40% des cas.

Il s'agit d'un ensemble de symptômes peu spécifiques pouvant se rattacher à de nombreuses maladies. Ainsi, il est difficile de suspecter une borréliose de Lyme seulement avec ce tableau clinique très fruste.

Atteinte articulaire et syndrome fébrile constituent une présentation clinique peu spécifique de la maladie de Lyme. Il existe également une manifestation moins fréquente mais très sévère : la néphrite de Lyme. Cette atteinte est rare mais généralement fatale. (19)

I-3-c/ Néphrite de Lyme

α- Animaux atteints

Les chiens atteints sont relativement jeunes avec une moyenne d'âge avoisinant les 5,6 ans. Ils ont fréquemment connu un épisode récent d'arthropathie. Labrador et Golden Retriever sont surreprésentés (19, 52). De plus, les Labradors retrievers et les bergers shetland semblent plus sensibles aux néphropathies.

β- Tableau clinique et lésionnel

Rapidement les signes d'une défaillance rénale sont observés à savoir une anorexie, des vomissements, une déshydratation, une polyuro-polydypsie et un amaigrissement. À des stades plus avancés, le chien infecté peut présenter une vascularite, un œdème périphérique, une hypertension associée à une cécité et/ou à des troubles du rythme cardiaques, une thromboembolie et des signes neurologiques de type crise convulsive, nystagmus. (37)

Les lésions rénales se composent à la fois de lésions glomérulaires et tubulaires. Plus fréquemment, la présence d'une glomérulonéphrite membranoproliférative associée à une nécrose tubulaire diffuse et à une inflammation interstitielle lymphoplasmocytaire (23, 19) est observée.

γ- Pathogénie

Tous les chiens présentant cette néphrite de Lyme possèdent des anticorps dirigés contre *Borrelia burgdorferi*. Plusieurs mécanismes pathogéniques sont alors envisageables. Tout d'abord, il est possible que les lésions observées soit une conséquence directe d'une infection rénale par *Borrelia burgdorferi* ou une infection concomitante par un autre organisme. Cependant, des méthodes de diagnostic moléculaires de type PCR et FISH sur des échantillons rénaux n'ont pas montré la présence de *Borrelia burgdorferi* intacte ou d'autres bactéries dans le tissu rénal des chiens suspects de néphrite de Lyme (histopathologie compatible et sérologie positive). (23)

Une autre hypothèse formulée quant au mécanisme pathogénique à l'origine de cette néphrite de Lyme serait un dépôt d'immuns-complexes dans les glomérules rénaux (9). Il serait alors responsable d'une glomérulonéphrite post-infectieuse. Ceci est d'autant plus probable qu'il a été montré que le nombre d'immuns-complexes est plus important chez les chiens séropositifs présentant des signes cliniques que chez les chiens asymptomatiques. Une recherche d'immuns-complexes dans les tissus rénaux pourrait être envisagée afin d'éclaircir cette hypothèse. (23)

δ- Diagnostic

La néphrite de Lyme peut être associée à des désordres hématologiques, ioniques, biochimiques et urinaires.

Parmi les désordres hématologiques, les chiens atteints peuvent présenter une anémie arégénérative et une thrombocytopénie.

Les troubles ioniques possibles sont une hyperphosphatémie, une azotémie et une hyperkaliémie.

D'un point de vue biochimique, une hypoalbuminémie, une hypercholestérolémie et une hyperbilirubinémie sont parfois retrouvées.

Enfin, une analyse d'urine peut révéler une protéinurie, une hémoglobinurie, une hématurie, une glycosurie, une bilirubinurie, des cristaux et des sédiments actifs sans infection associée (ECBU négatif).

Récemment, il a été montré (11, 38) que la présence d'une microalbuminurie était associée à différentes maladies (dirofilariose, lymphosarcome et ostéosarcome) et pouvait précéder le développement d'une protéinurie avérée. Ainsi, il est possible que les chiens atteints de borréliose et présentant une microalbuminurie aient plus de chance de développer une protéinurie et une néphrite de Lyme et pourrait ainsi avoir un rôle diagnostic pour la détection de la néphrite de Lyme (19). Une étude a alors recherché s'il existait des associations entre l'exposition naturelle à *Borrelia burgdorferi* (test C6-ELISA et test d'immuno-empreinte) et la présence de microalbuminurie (test ELISA) chez des jeunes chiens-guides labradors et Golden Retriever asymptomatiques grâce au test de Fisher. Hélas, il n'existe pas d'association entre la présence de microalbuminurie et la présence de borréliose. (19)

Ainsi, il n'est pas possible à l'heure actuelle de prédire une néphrite de Lyme avec certitude. Seule la détection d'anticorps dirigés contre *Borrelia burgdorferi* en titre important constitue un éventuel facteur prédictif mais aucune étude n'a permis de déterminer avec certitude cette relation et de définir un seuil d'alerte. Il serait donc intéressant d'envisager de rechercher une éventuelle relation entre la présence d'immuns complexes et la néphrite de Lyme afin de pouvoir appréhender cette maladie souvent fatale.

I-3-d/ Glomérulonéphropathie des Bouviers Bernois (16)

Les Bouviers Bernois sont sujets à développer une glomérulonéphropathie familiale. Bien qu'il ait été prouvé qu'il existait une transmission autosomique récessive de cette pathologie, il se pourrait que *Borrelia burgdorferi* joue un rôle dans le développement de la maladie car tous les chiens affectés possèdent des anticorps dirigés contre ce spirochète. De plus, la proportion de chiens avec des anticorps anti-*Borrelia* est significativement supérieure chez les bouviers sains que chez les autres races saines.

Les glomérulopathies étant dans la plupart du temps asymptomatiques et associées à une protéinurie de découverte fortuite, une étude sur 181 chiens a cherché à comparer d'une part l'excrétion protéique urinaire des Bouviers Bernois et des autres races et d'autre part celle des Bouviers Bernois séropositifs pour la maladie de Lyme et des séronégatifs afin de savoir si la protéinurie pouvait être un outil diagnostique pour l'identification de la maladie de Lyme chez ces chiens. Les résultats n'ont pas montré de différence significative dans l'excrétion protéique urinaire entre les Bouviers Bernois et les chiens contrôles et entre les Bouviers Bernois séropositifs et les séronégatifs. Il n'est donc pas possible de détecter une prévalence supérieure de protéinurie comme signe précoce d'une atteinte rénale chez les Bouviers Bernois comparativement à d'autres races ou chez des chiens séropositifs comparativement à des chiens séronégatifs. Ceci est en accord avec l'étude portant sur les Labrador Retriever montrant l'absence d'association entre la borréliose et la microalbuminurie (19). On peut ainsi conclure que les anticorps dirigés contre *Borrelia* ne sont pas associés à une protéinurie comme premiers signes de néphropathie chez les Bouviers Bernois.

I-4) Diagnostic

Le diagnostic de la maladie de Lyme est d'autant plus difficile que la borréliose a une symptomatologie polymorphe et qu'il existe plusieurs espèces de *Borrelia* en Europe. Il repose sur des critères biologiques et diagnostiques. Hélas, il n'existe pas de marqueur d'activité de la maladie mais seulement d'exposition à *Borrelia burgdorferi*.

La culture bactérienne et la technique PCR sont peu utilisées du fait d'une culture très lente (21 jours) et une bactériémie rare chez le chien (9). Ainsi le diagnostic *antemortem* repose une séropositivité combinée à une exposition à *Ixodes*, des signes cliniques et une bonne réponse au traitement. Le diagnostic *postmortem* repose sur l'observation de lésions caractéristiques et d'une détection immunohistochimique des antigènes de *Borrelia*. Cependant celle-ci semble ne pas être assez spécifique et une PCR peut être conseillée en parallèle.

I-4-a/ Diagnostic direct

Par définition, le diagnostic direct d'une infection bactérienne est la mise en évidence de la bactérie elle-même. Ceci peut se faire soit par observation directe au microscope, par sa culture ou son isolement.

α- Observation microscopique

L'observation microscopique de *Borrelia burgdorferi* peut être effectuée avec une coloration GRAM. Cependant, l'incorporation de cette coloration est faible ce qui rend l'observation difficile. Les colorations Giemsa ou Wright sont plus appropriées mais restent tout de même délicates. Il est possible de voir les mouvements du

spirochète au microscope. Du fait de la faible teneur en bactéries des échantillons, il est fortement recommandé d'effectuer une mise en culture préalable pour la détection de *Borrelia* puis éventuellement de les observer au microscope.

β- Culture (53)

La culture des *Borrelia* nécessite un milieu Barbour-Stoenner-Kelly II, Kelly-Pettenkofer modifié ou Barbour-Stoenner-Kelly-H.

Le milieu de Barbour-Stoenner-Kelly II résulte de plusieurs modifications apportées par Stoenner puis Barbour sur un milieu initialement proposé par Kelly en 1971. Ce premier était un milieu semi-synthétique utilisé pour la mise en évidence et la croissance de *B. hermsii*. Puis, en 1982, Stoenner a ajouté à ce milieu un milieu de culture cellulaire CMRL 1066 (Connaugh Medical Research Laboratories) ainsi que des extraits de levure afin de permettre la croissance d'une unique cellule de *B. hermsii*. Du fait de la difficulté rencontrée pour l'isolement du spirochète chez les patients, Barbour a proposé de faciliter la préparation et d'y augmenter le pouvoir tampon afin d'atteindre de manière fiable une importante densité en spirochètes (1 à 4 x 10⁸/mL), un temps de génération de 11 à 12 heures et une croissance à partir de peu d'échantillon (1 à 2 organismes seulement).

D'un point de vue technique, il est tout d'abord nécessaire de disposer d'une hotte de biosécurité afin d'éviter toute contamination des prélèvements et de bien rincer le matériel avec de l'eau distillée avant son utilisation du fait de la sensibilité du spirochète aux détergents. Du fait du caractère microaérophile de *Borrelia*, il est recommandé de remplir les tubes stériles entre 70 et 90% de leur capacité. Pour la culture en milieu liquide, le protocole consiste tout d'abord à verser 6 mL de milieu complet BSK II dans un tube stérile de 8mL puis d'y ajouter 50 à 500 microlitres d'échantillon immédiatement après décongélation (à température ambiante ou dans l'incubateur à 34°C) et enfin de placer le tube fermé dans l'incubateur à 34°C (entre 30 et 37°C, le temps de multiplication est de 5 à 18 heures) en veillant à ne pas l'agiter. La croissance de la bactérie est décelable par un changement de couleur du milieu qui passe du rouge à l'orange puis au jaune. Une confirmation par observation microscopique est possible (un spirochète par champ au grossissement 40 correspond à 2x10⁵ cellules par mL. Une chambre de comptage peut également être utilisée.

La technique en milieu solide a été décrite par Hinnebush et Barbour en 1992. Elle consiste en deux couches contenant de l'agarose et du milieu BSK-II avec la bactérie enchâssée dans la couche du haut. Dans un premier temps, la couche du bas est versée à l'état liquide puis solidifiée. Ensuite, les cellules de *Borrelia burgdorferi* sont ajoutées à celle du haut qui est à son tour solidifiée. Les couches de gélose sont enfin placées dans un incubateur à CO₂.

Les colonies de *Borrelia burgdorferi* sont des colonies blanches opaques à la surface ou dans le milieu solide de 3mm de diamètre avec un centre dense et des bords diffus. Cependant la taille et la forme des colonies peuvent varier selon la bactérie.

Un inconvénient de la culture est une possible contamination au moment de la manipulation. Elle est décelable par une coloration jaune et un aspect trouble du

milieu dès 24 heures. Il est alors conseillé de renouveler la culture ou, dans le cas échéant, d'éliminer les contaminants. *Borrelia* est résistante à la phosphomycine et à la rifampicine donc il est possible de repiquer les cultures dans un milieu contenant ces deux antibiotiques. Les autres substances pouvant être utilisées pour éliminer les contaminants sont l'acide nalixidique et le 5-fluorouracil. En cas de contamination fongique, de l'amphotéricine B peut être utilisée.

Concernant le temps de culture, il pourrait varier entre six jours et trois semaines selon le temps de génération atteint en milieu liquide et entre une et quatre semaines en milieu solide. A ce temps de culture, s'ajoute le temps de préparation du milieu qui peut avoisiner deux heures.

Le milieu Kelly-Pettenkofer modifié diffère légèrement du milieu BSK II au niveau de sa concentration en glucose, bicarbonate de sodium et en sérum de lapin.

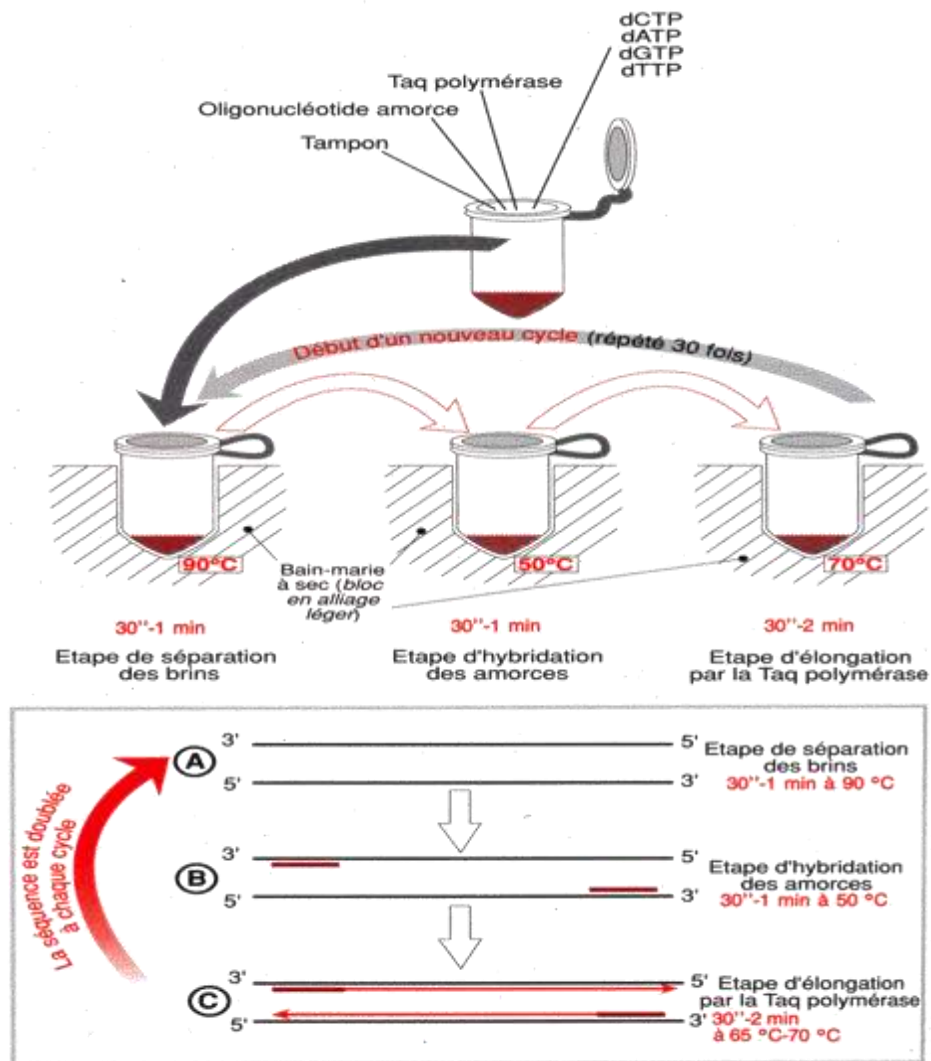
Enfin le milieu BSK-H a été développé afin d'éviter les variations possibles au niveau de certains composants du milieu BSK II. Il est dépourvu de gélatine et diffère du milieu BSK dans les proportions d'autres composants. Tout comme le milieu BSK II, il permet la croissance des spirochètes responsables de la maladie de Lyme et de *B. duttoni* responsable d'une fièvre récurrente. Cependant, il a été montré que les variations apportées à ce milieu peuvent être à l'origine de modifications au niveau des caractéristiques de croissance et au niveau de la régulation des gènes.

γ- PCR

Cette technique cherche à amplifier le génome des *Borrelia burgdorferi* puis de les détecter soit par électrophorèse en gel avec ou sans hybridation soit par PCR en temps réel. Elle peut être réalisée à partir d'un échantillon de sang, de tissu et même sur des tissus fixés dans de la paraffine (9)

Elle est composée de trois étapes distinctes : la séparation des brins par la chaleur, l'hybridation des amorces puis l'élongation par une enzyme appelée Taq polymérase détaillées dans la figure 11.

Figure 11 : Différentes étapes de la technique PCR (UP Biologie Moléculaire et Génétique Préclinique)



La technique PCR présente l'avantage d'être très sensible puisque capable de générer de très grandes quantités d'acides nucléiques (2^n copies où n désigne le nombre de cycles) à partir de quelques copies de la séquence génétique recherchée dans le prélèvement. De plus, une étude (48) portant sur 92 chiens suspects de borreliose a comparé la prévalence entre l'ADN de *Borrelia burgdorferi* (mis en évidence par PCR) et les anticorps anti-*Borrelia burgdorferi* (IgG et IgM révélés par technique ELISA). Les résultats de cette étude ont montré que seul un peu moins de la moitié des chiens présentant de l'ADN de la bactérie développait une réponse immunitaire. Ainsi, le transfert de la bactérie est possible chez le chien qui ne développe pas ou pas assez de réponse immunitaire.

Cette technique présente cependant des limites. En effet, la taille de la séquence à amplifier ne doit pas excéder 3kb (ou 20kb avec une enzyme spéciale). De plus, l'augmentation du nombre de cycle devient inefficace au delà de 35 cycles environ. Il

existe également un risque possible de contamination lors de la manipulation (ADN en contact avec l'air pendant l'ouverture du tube) et un possible manque de fidélité de l'enzyme. Enfin, des amplifications parasites peuvent apparaître notamment avec des amorces de petite taille (mauvaises hybridations). Un autre inconvénient de cette technique PCR est qu'elle n'est pas quantitative. Une étude (9) réalisée sur 84 chiens a tenté de mettre en place une technique PCR semi-quantitative. Cependant, le faible taux de pathogènes dans les tissus limite les avantages de la PCR semi-quantitative par rapport à la technique PCR traditionnelle. Enfin, la technique PCR détecte certes l'ADN du spirochète mais ne permet pas de dire si celui-ci est vivant, mort ou en cours de désintégration. Ainsi, une PCR positive ne permet pas de confirmer la présence de la maladie avec certitude.

I-4-b/ Diagnostic indirect

Un diagnostic indirect consiste en la mise en évidence de la réponse de l'organisme à l'infection. Les tests conventionnels utilisés dans le diagnostic de la maladie de Lyme sont de nature sérologique. Ils reposent sur une technique ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), une immunofluorescence indirecte et un test d'empreinte (détection d'anticorps liés à des antigènes individuels) pour confirmer le criblage précédent. (44) Afin de mieux comprendre ces méthodes diagnostiques, nous allons détailler succinctement la réponse immunitaire post-infectieuse observée.

α – Réponse immunitaire post-infectieuse

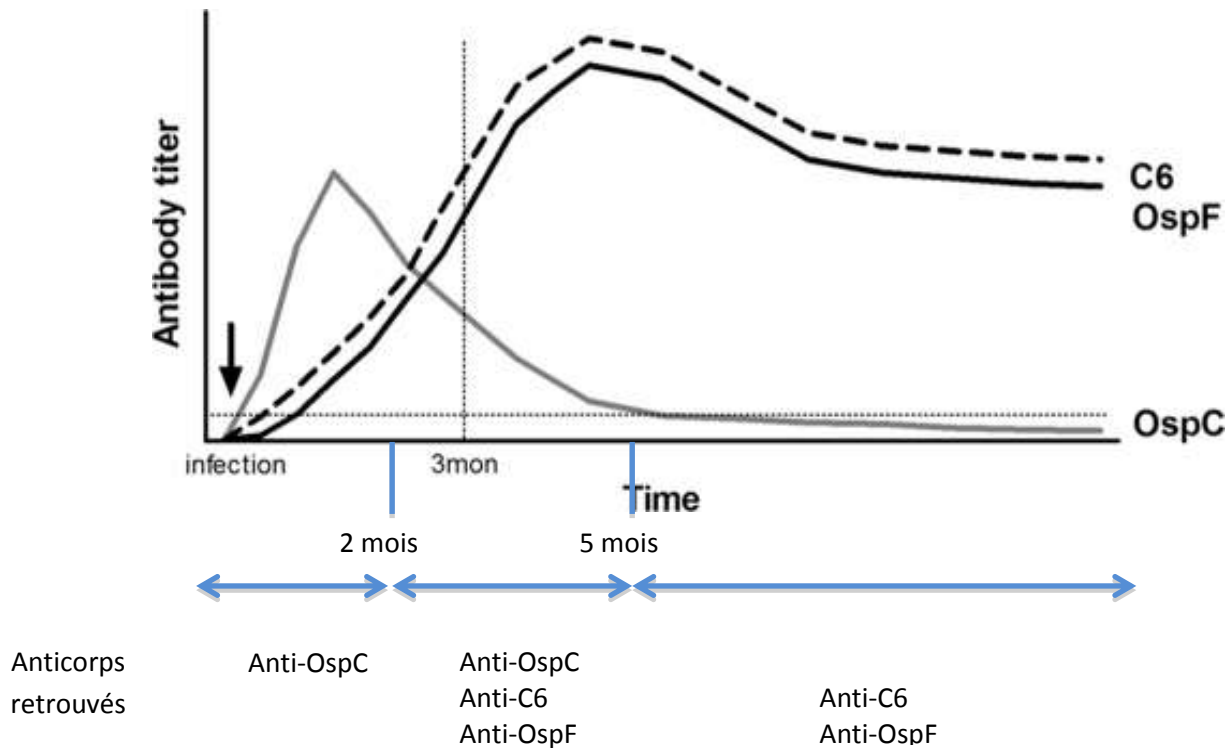
Borrelia burgdorferi est constituée de nombreuses molécules douées de la capacité de déclencher la réponse immunitaire (immunogénicité) et de celle de s'unir aux produits de cette réponse (antigénicité) : les antigènes. La présence de ces antigènes au sein d'un autre organisme constitue une agression à laquelle l'organisme répond de deux façons. Tout d'abord, se produit une réponse immunitaire non spécifique appelée immunité innée puis une réponse immunitaire spécifique appelée immunité acquise. Celle-ci fait intervenir des effecteurs de la réponse immunitaire appelés lymphocytes. Nous distinguons alors deux types de réponses :

- la réponse à médiation humorale : il s'agit d'une réponse lente (entre 15 et 20 jours) responsable de la production d'anticorps et permise par les lymphocytes B. Les premiers anticorps produits sont les IgM. Un second contact avec l'antigène thymo-dépendant génèrera une réponse secondaire avec la production d'IgG,
- la réponse à médiation cellulaire : il s'agit d'une réponse rapide (entre 7 et 10 jours) et cytotoxique permise par les lymphocytes T.

En 2012, Wagner *et al.* (35) ont étudié la cinétique des anticorps produits suite à une sensibilisation expérimentale à *Borrelia burgdorferi* pendant trois mois. Ils ont alors remarqué la production d'anticorps anti-OspC et anti-C6 dès trois semaines et anti-

OspF dès 5 semaines. Les anticorps anti-OspF et anti-C6 ont augmenté au cours des trois mois. Ceux dirigés contre la protéine de surface OspC ont quant à eux augmenté jusque 7 à 11 semaines puis ont diminué par la suite. Par extrapolation, ils ont établi la cinétique présentée dans la figure 12.

Figure 12 : Cinétique des anticorps produits suite à une sensibilisation expérimentale à *Borrelia burgdorferi* (35)



α - ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

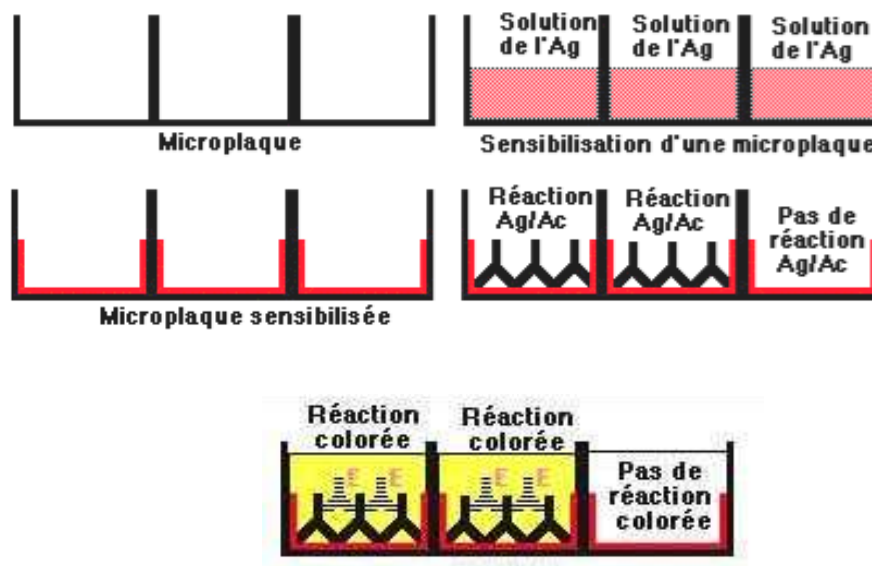
La technique ELISA est une technique immuno-enzymologique permettant de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps. Elle se compose de quatre étapes qui sont (figure 13) :

- la sensibilisation d'une microplaque à l'aide d'une solution contenant l'antigène spécifique de l'anticorps recherché suivie d'un lavage,
- le dépôt dans les puits de la solution testée (il se produit alors une réaction antigène-anticorps si des anticorps sont présents dans la solution) suivi d'un lavage,
- le dépôt d'une solution contenant des anticorps de détection. Il s'agit d'anticorps dirigés contre les anticorps recherchés et couplés à une enzyme

qui, en présence de son substrat, le transforme en un produit de réaction détectable et mesurable grâce à l'apparition d'une coloration,

- la révélation des anticorps fixés grâce à l'incubation d'une substance révélatrice qui se colore en présence d'anticorps recherchés. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme ayant réagi et donc à la teneur en anticorps recherché.

Figure 13 : Différentes étapes du test ELISA (UP Biologie Moléculaire et Génétique Préclinique)



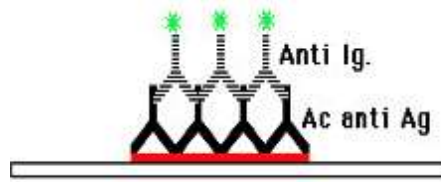
Les avantages de cette technique sont une quantification possible, une technique simple, rapide et spécifique lors de l'utilisation d'anticorps monoclonaux.

Cependant, la réaction enzymatique rend cette technique dépendante de facteurs cinétiques tels que la température, le pH et l'éclairement. Un autre inconvénient du test ELISA est qu'il repose sur la mise en évidence d'une réponse immunitaire dirigée contre *Borrelia burgdorferi*. Or, comme cité précédemment, certains animaux ne développent pas ou pas assez de réponse immunitaire malgré la présence de la bactérie. Ainsi, des faux négatifs peuvent être retrouvés avec une telle technique (48).

β – Immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence indirecte consiste en le marquage d'une protéine d'intérêt de manière indirecte. Plus précisément, l'anticorps primaire dirigé contre la protéine d'intérêt est révélé par un anticorps secondaire couplé à un fluorochrome (figure 14).

Figure 14 : Immunofluorescence indirecte (UP Biologie Moléculaire et Génétique Préclinique)



γ - Test d'immuno-empreinte

La technique du test d'immuno-empreinte permet l'étude de certaines protéines. Elle repose sur différentes étapes qui sont les suivantes :

- extraction des protéines d'un extrait cellulaire,
- fractionnement par taille en SDS-PAGE (Poly Acrylamide Gel Electrophoresis),
- coloration par le bleu de Coomassie ou transfert sur une membrane (blot) et révélation par un anticorps radioactif,
- autoradiographie.

Les critères d'interprétations du test d'immuno-empreinte reposent sur la positivité de deux, trois ou quatre bandes parmi p41 kDa, OspC, p83/100, p58, p39 kDa.

Un inconvénient de cette technique est qu'il peut exister une réaction croisée avec *Leptospira spp* pour les bandes p33, p60 à p75 et p41 sur le test d'immuno-empreinte.

Pendant longtemps, il a été considéré que la technique d'immuno-empreinte ne permettait pas de distinguer les animaux infectés des animaux vaccinés contrairement au test ELISA. Or, il est important de pouvoir différencier les anticorps des chiens vaccinés de ceux des chiens exposés pour plusieurs raisons. Tout d'abord, les chiens ont pu être vaccinés pendant l'incubation à l'origine de symptômes apparus ultérieurement. De plus, il est possible que les chiens développent des signes cliniques similaires à ceux de la borréliose après la vaccination sans être réellement infectés. Ainsi, l'absence de distinction entre une vaccination et une infection constituait un réel désavantage pour la technique d'immuno-empreinte. Cependant, des études récentes ont permis de distinguer des bandes du test d'immuno-empreinte comme marqueurs d'une infection et d'une vaccination. Parmi celles-ci, une étude effectuée sur 23 chiens a permis de comparer la réponse immune après une vaccination (vaccin commercial) avec celle après une infection contrôlée (exposition en zone endémique) (31). Infection ou vaccination génèrent toutes deux une réponse immune spécifique chez les individus avec des titres en anticorps similaires quelque soit le groupe. Cependant, il existe des différences entre les résultats du test d'immuno-empreinte. Les variations individuelles rendent un unique test d'immuno-empreinte insuffisant pour différencier une vaccination d'une infection et il est nécessaire de connaître l'historique de l'animal et son examen clinique. L'interprétation du test d'immuno-empreinte repose sur celui utilisé en humaine. Or, dans cette étude il a été montré que

l'évolution au cours du temps du modèle chez le chien différerait de celui de l'homme pour la bande OspC. De plus le nombre de bandes à inclure est à discuter puisque plus le nombre augmente plus la spécificité augmente mais la sensibilité diminue. Après une vaccination, l'intensité des bandes OspA et p41 reste plus élevée sur une période plus longue.

Il a été montré que le premier épisode de boiterie survenait après une incubation de 50 à 123 jours après l'exposition à une tique, période où le diagnostic de la borréliose est entrepris par le vétérinaire. Si nous comparons aux résultats du test d'immuno-empreinte, nous remarquons que cette période correspond à une intensité moindre pour les bandes OspA et supérieure pour les bandes p39 et OspC chez les chiens infectés. Néanmoins, un unique test d'immuno-empreinte sur un seul individu ne peut permettre de conclure. Il est nécessaire de répéter ce test après l'apparition de signes cliniques afin d'aider l'interprétation. Une diminution d'intensité des bandes p100, OspC et p41int.garinii est plutôt indicatrice d'une réponse immune post-vaccinale. Une augmentation ou une stabilisation de l'intensité des bandes p100, p39, OspC et p41int.afzelii sont plutôt en faveur d'une réponse immune post-infection.

La protéine VlsE et son peptide de synthèse C6 sont supposés être marqueurs d'une infection chez l'homme et le chien (non exprimés chez la tique, en culture cellulaire et dans les vaccins). Or, le peptide VlsE ne semble pas être informatif pour distinguer infection de vaccination d'autant plus que les résultats ne concordent pas entre les deux tests. Ceci souligne bien la difficulté de reproduire des tests avec des techniques différentes et dans des conditions différentes.

Du fait de la fréquence moindre des bandes spécifiques, les tests IgM ne sont pas recommandés pour le diagnostic de la maladie de Lyme.

Cette étude montre la complexité du diagnostic de cette maladie. Il est alors recommandé aux vétérinaires de prouver l'existence d'une arthrite, de rechercher les causes principales de celle-ci avant d'entreprendre une recherche de borréliose. Une sérologie seule ne peut suffire à conclure. De même, un test d'immuno-empreinte isolé est insuffisant pour différencier une réponse immune post-vaccinale d'une réponse immune post-infectieuse. Il est nécessaire de répéter ce test pour pouvoir conclure.

De plus, il est demandé de faire un test d'immuno-empreinte pour confirmer les tests de criblage mais son interprétation repose sur des modèles humains et non canins de borréliose. La borréliose canine est probablement surdiagnostiquée du fait du manque de spécificité du test. La date exacte d'infection ne peut être posée ce qui ne permet pas avec un seul test de différencier une infection récente d'une infection passée d'autant plus sur des chiens exposés à des tiques en permanence.

Il serait intéressant que des tests permettant de détecter une réponse immune canine soient validés et adaptés à la borréliose canine.

La comparaison des deux tests les plus couramment utilisés à savoir le test d'immuno-empreinte et le test ELISA a été étudiée sur 268 chiens-guides Labrador et Golden Retriever en utilisant comme outil statistique le kappa. Le taux de concordance retrouvé est de 93%. ($\kappa = 0,78$). La différence observée peut s'expliquer par une surestimation lors de la lecture des tests d'immuno-empreinte ou au contraire une sous-estimation des tests ELISA. Ainsi, ces deux tests présentent une

sensibilité et une spécificité proches pour la détection de l'exposition à *Borrelia*. Cette étude a également confirmé que le test immunoenzymologique ELISA ne détecte pas les animaux vaccinés ce qui permet de ne déceler que les formes actives de la borréliose. (19)

Ces tests présentent plusieurs inconvénients à savoir des résultats parfois conflictuels. De plus, il est important de souligner que sensibilité et spécificité de ces tests sont différentes en Europe par rapport aux USA. En effet, aux USA, seule *Borrelia burgdorferi sensu stricto* est responsable de maladies chez l'homme alors qu'en Europe on peut y ajoute *Borrelia afzelii* et *Borrelia garinii* (appartenant toutes deux au complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato*). En Europe, l'EUCALB propose que le diagnostic se fasse en deux temps : une sérologie ELISA ou une IFI puis en cas de réponse positive ou équivoque un test d'immuno-empreinte est recommandé.

δ- Détection de l'anticorps anti-C6

Un autre test existe et repose sur la mise en évidence d'anticorps dirigés contre l'antigène C6. Ce peptide est spécifique de *B. Burgdorferi* et est situé dans la région invariante IR6 de la protéine de surface VlsE (Vmp like sequence, expressed). Ce peptide a été isolé dans une espèce européenne de *Borrelia garinii*. La région impliquée est conservée aussi bien sur le plan génétique que structurel et antigénique entre *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii* et les autres souches de *Borrelia burgdorferi* (18). Ce gène est d'autant plus intéressant qu'il n'est exprimé que lors de la réplication chez les mammifères hôtes. En effet, la protéine n'est pas retrouvée chez la tique n'ayant pas pris son repas sanguin ou dans des conditions thermiques adaptées à la production de vaccins (22). Cette caractéristique fait de ce peptide un réel marqueur d'une infection active.

De plus, un autre avantage de ce marqueur est qu'il entraîne la production rapide d'anticorps après l'infection et une diminution rapide après le traitement contrairement aux anticorps mis en évidence par la méthode ELISA (IgG). Enfin, aucune réaction croisée n'est rapportée avec la dirofilariose, la babésiose, l'ehrlichiose, la leptospirose ou encore avec OspA ou d'autres vaccins (36, 41).

ε – Test combiné ELISA et immuno-empreinte **(51)**

Actuellement, le diagnostic s'effectue à partir de la technique ELISA suivie d'un test d'immuno-empreinte. Une étude portant sur 267 chiens a cherché à combiner ces deux techniques dans un même test quantitatif de recherche d'anticorps dirigés contre OspA, OspC et OspF exprimés dans *Escherichia coli*. Les protéines recombinantes sont couplées à un marqueur fluorescent constituant le support du test. Les avantages de ce type de test par rapport aux tests usuels seraient une sensibilité analytique améliorée, des meilleures gammes de quantification dynamique, un moindre volume d'échantillon nécessaire et un temps et un coût moins importants pour l'analyse. Cependant, les inconvénients seraient associés au fait que ces tests sont rarement

effectués chez les animaux de compagnie et à un manque de réactifs de bonne qualité. Pour faire face à ce dernier inconvénient, il faudrait combiner des antigènes recombinants purifiés ou des anticorps monoclonaux à la matrice fluorescente. La validation du test repose sur une comparaison avec le test d'immuno-empreinte.

La première étape a été de développer le test grâce à la création d'une base de données portant sur des résultats d'immuno-empreinte. Un test portant sur 79 échantillons ensuite été effectué et a révélé une corrélation de 93% pour OspA, 88% pour OspC et 96% pour OspE.

La seconde étape a consisté en la validation du test par comparaison des résultats du test avec le test d'immuno-empreinte sur 188 sérums. L'intensité fluorescente était significativement plus importante pour les trois protéines sur les sérums ayant un test d'immuno-empreinte positif que sur les sérums ayant un test d'immuno-empreinte négatif. De plus, les ROCs (Receiver Operating curve) ont montré une corrélation entre le test d'immuno-empreinte et le test pour ces trois protéines.

La dernière étape a consisté en l'interprétation des résultats du test avec une analyse de vraisemblance permettant d'établir les catégories « négatif », « équivoque » et « positif » pour chaque antigène. La qualité de ce test repose comme pour tout test diagnostic que la sensibilité et la spécificité qui sont récapitulées dans le tableau 3 :

Tableau 3 : Qualités des tests diagnostiques reposant sur la détection de différents antigènes de *Borrelia burgdorferi* (51)

	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Antigène OspA	83	90
Antigène OspC	62	89
Antigène OspE	82	86

Les tests ELISA réalisés sur des lysats cellulaires ont une sensibilité diagnostique très forte mais une spécificité moins bonne. Les faux positifs rencontrés sont dus aux réactions entre les anticorps sériques et les protéines du spirochète qui présentent une forte homologie avec les protéines d'autres bactéries. Ce test utilisant des protéines recombinantes diminue le risque de réactions croisées. De plus les essais multiples présentent en général une meilleure sensibilité que le test ELISA utilisant les mêmes anticorps comme marqueur ou détection. Tout comme le test ELISA, ce test est quantitatif, rapide à effectuer et demande moins de travail que le test d'immuno-empreinte.

De plus, l'analyse ROC a montré de grandes corrélations entre le test d'immuno-empreinte et ce test malgré quelques inadéquations. Celles-ci peuvent s'expliquer de par le fait que l'interprétation du test d'immuno-empreinte est observateur-dépendante et que la sensibilité du test d'immuno-empreinte est inférieure à celle de l'ELISA et donc de ce test combiné. Une identification de concentrations faibles imperceptibles au test d'immuno-empreinte a pu être détectée avec ce nouveau test.

Ce test permet de détecter les anticorps dirigés contre OspC, ceux contre OspF et même les deux simultanément. Ainsi ce test permettrait de diagnostiquer la maladie à

différents stades puisque OspC serait plutôt un marqueur d'une exposition récente alors qu'OspF serait un indicateur d'une exposition plus ancienne comme chez l'homme. Cependant des études seraient nécessaires pour confirmer cette hypothèse. Ceci serait intéressant pour les décisions thérapeutiques et pour le pronostic de succès du traitement.

Ainsi, ce test combine les informations obtenues par test ELISA et test d'immuno-empreinte et fournit une alternative quantitative, économique et sensible pour déterminer les anticorps dans le sérum des chiens indicateurs d'une infection à *Borrelia burgdorferi* ou d'une vaccination.

I-4-c/ Diagnostic différentiel

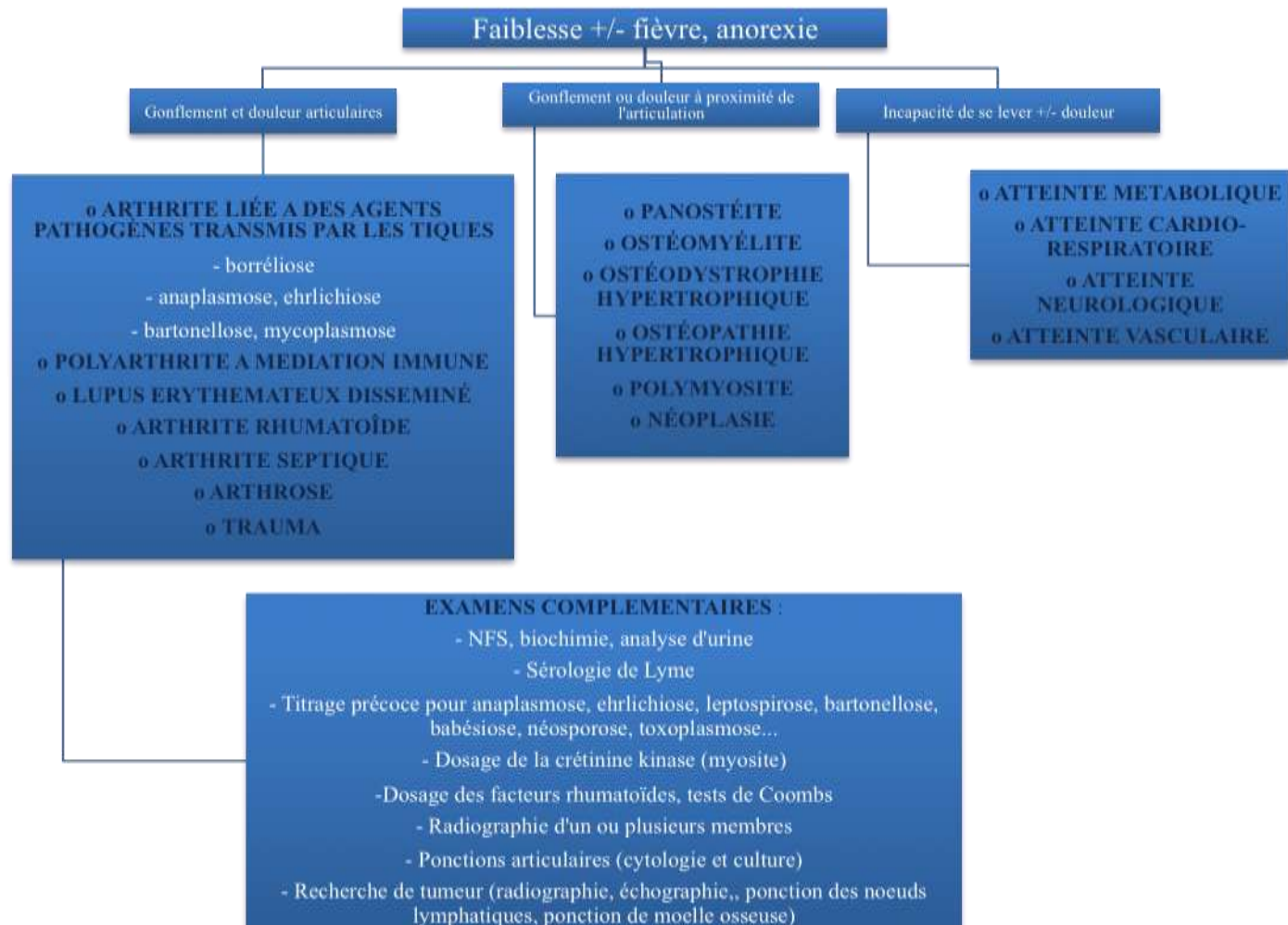
Le diagnostic différentiel repose sur les différentes causes de faiblesse, d'anorexie et de fièvre. Afin d'approfondir le diagnostic, il est important de définir le plus précisément possible l'atteinte orthopédique. En effet, le chien présente-t-il un gonflement et une douleur en regard d'une articulation ou à proximité de celle-ci ou alors présente-t-il uniquement une incapacité à se lever ?

Si l'atteinte est localisée au niveau d'une ou de plusieurs articulations, différentes étiologies sont possibles. Il peut s'agir d'une arthrite liée aux tiques (borréliose, anaplasmose, ehrlichiose, bartonellose, mycoplasmose), d'une polyarthrite à médiation immune, d'un lupus érythémateux disséminé, d'une arthrite rhumatoïde, d'une arthrite septique, d'une arthrose ou d'un traumatisme. (figure 15)

Il est alors important de reprendre les commémoratifs et l'anamnèse de l'animal avec attention et de hiérarchiser ensuite les hypothèses les plus probables.

Enfin, il est recommandé d'effectuer des examens complémentaires justifiés afin de progresser dans la démarche diagnostique (analyses sanguines, examens radiographiques,...).

Figure 15 : Diagnostic différentiel de la faiblesse, de la fièvre et de l'anorexie chez le chien (37)



I-5) Traitement

I-5-a/ Traitement antibiotique

Chez l'homme, la doxycycline, l'amoxicilline et la ceftriaxone sont les antibiotiques de choix (39). Par extrapolation et en accord avec des études de recherche, les dérivés de la tétracycline ou l'amoxicilline sont les molécules les plus souvent administrées par les vétérinaires. La posologie optimale est inconnue du fait de l'existence de plusieurs souches de *Borrelia burgdorferi*, de la difficulté de diagnostic et de la non certitude d'observer des signes cliniques après inoculation expérimentale du spirochète. Ainsi, la dose recommandée de doxycycline est de 10 mg/kg une fois par jour pendant au moins un mois. Cette molécule est privilégiée du fait de son action sur les autres pathogènes susceptibles d'être présents (*Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Leptospira*), son faible coût et ses propriétés anti-inflammatoires (37).

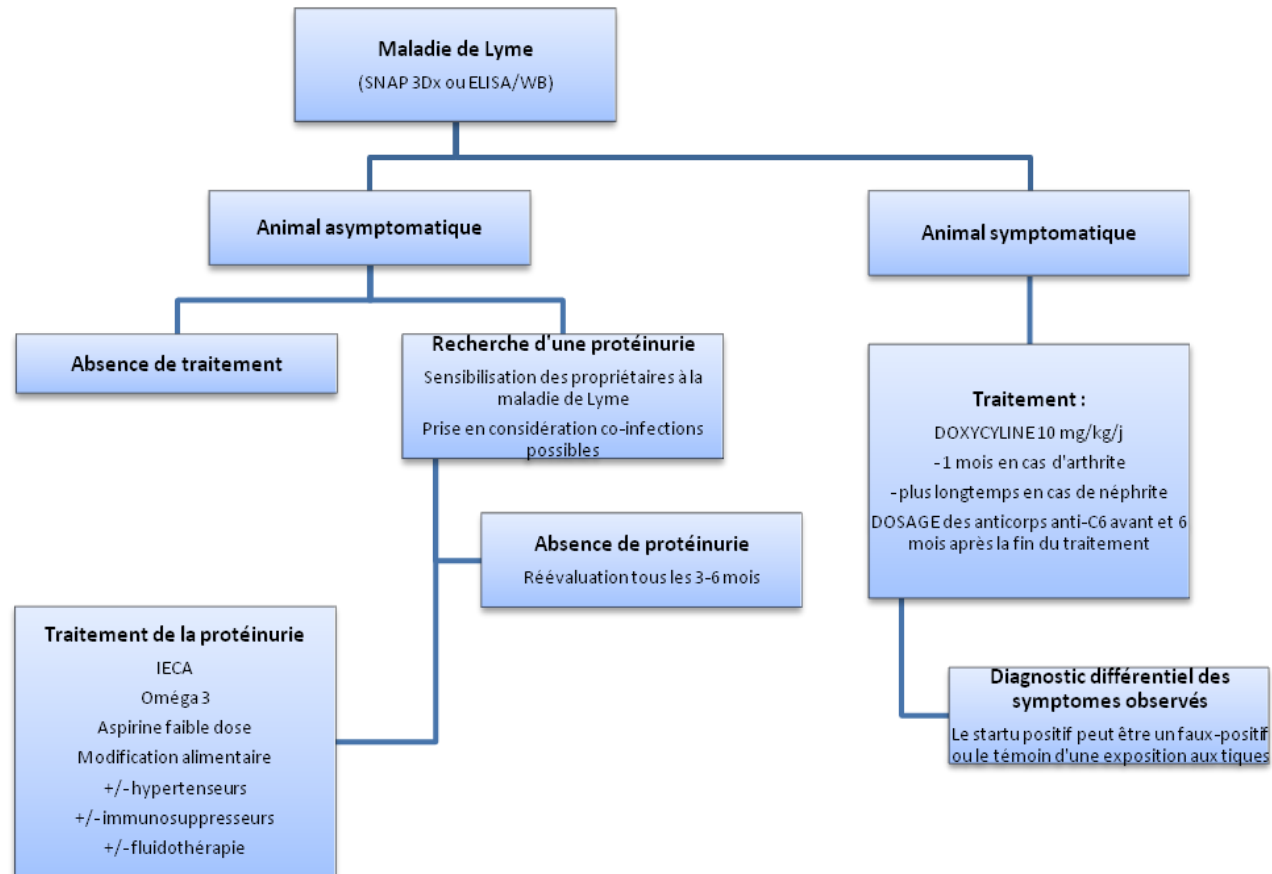
En cas de polyarthrite, il est possible d'associer des glucocorticoïdes.

Les chiens atteints de néphrite de Lyme peuvent nécessiter une antibiothérapie plus longue et l'association d'autres thérapies telles que des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, des faibles doses d'aspirine, des acides gras de type oméga trois, une modification du régime alimentaire, des hypertenseurs, une fluidothérapie voire des immunomodulateurs. Cependant, étant donné qu'il n'existe pas de modèle de la néphrite de Lyme, le traitement optimal est inconnu.

Le traitement antibiotique présente l'inconvénient de ne pas éliminer l'infection qui reste alors persistante.

Un arbre thérapeutique a été proposé dans l'ACVIM (37) et est retranscrit dans la figure 16.

Figure 16 : Conduite à tenir face à la maladie de Lyme chez le chien (37)



I-5-b/ Suivi du traitement antibiotique chez les chiens cliniquement atteints

Afin d'évaluer l'efficacité du traitement antibiotique chez des animaux cliniquement atteints (douleur/gonflement articulaire, adénomégalie, perte de poids, perte d'appétit, apathie), une étude (52) a choisi de suivre la présence de l'ADN de *Borrelia burgdorferi* avant, pendant et après le traitement par technique PCR. Celle-ci a utilisé deux marqueurs à savoir le gène *rrs* codant pour la petite sous-unité ribosomale et le gène *fla* codant pour la flagelline. Le traitement antibiotique mis en place était à base de doxycycline et d'ampicilline.

L'ADN de *Borrelia burgdorferi* a été retrouvé chez 64% des chiens avant le traitement, 27% au cours du traitement et chez aucun chien après la fin du traitement. Cette étude est tout de même discutable car la présence de spirochète dans le sang est temporaire et un haut niveau de détection n'est possible que pendant une petite période lors de la primo-infection. De plus, la technique PCR ne permet pas de différencier des organismes vivants des organismes morts ou encore de l'ADN de cellule bactérienne désintégrée. Elle ne permet donc pas de prouver la présence de la maladie. Bien qu'il y ait plus de preuves que des résultats PCR sont plus souvent négatifs lorsqu'un traitement est efficace et qu'inversement, un échec thérapeutique exprimé par la persistance de symptômes est plus souvent associé à une PCR positive, nous ne pouvons dire avec certitude que la technique PCR est un bon indicateur de l'efficacité de l'antibiothérapie.

I-5-c/ Suivi du traitement antibiotique chez les chiens asymptomatiques

Comme nous l'avons indiqué, de nombreux chiens infectés par *Borrelia burgdorferi* ne manifestent pas de symptômes. Ils constituent tout de même des sources de pathogènes pour les autres chiens. Ainsi, le traitement de ces chiens constitue un réel enjeu. Mais plusieurs questions peuvent se poser. Tout d'abord, dans la situation actuelle des choses, nous sommes plutôt dans une optique de limitation de l'utilisation des antibiotiques. En effet, traiter des animaux asymptomatiques ne serait pas contraire à une utilisation raisonnée de ceux-ci ? Ne va-t-elle pas développer des antibiorésistances à terme ? Et l'autre question qui se pose est comment parvenir facilement à tester l'efficacité d'un traitement sur des chiens asymptomatiques ?

Expérimentalement, il a été montré (34) que la production d'anticorps anti-C6 semblait dépendre de la présence d'un pathogène viable. En effet, une diminution des anticorps anti-C6 et anti-VlsE a été retrouvée chez des primates et chiens infectés expérimentalement et traités contre la maladie de Lyme. Une étude a alors recherché à mesurer quantitativement les anticorps anti-C6 au cours d'un traitement antibiotique contre *Borrelia burgdorferi* sur 132 chiens séropositifs asymptomatiques afin de savoir si ce paramètre pouvait constituer un outil de suivi de traitement. Ces chiens ont reçu un traitement antibiotique de 28 jours à base d'amoxicilline (5 mg/kg deux fois par jour) et de doxycycline (à la dose de 5-10 mg/kg deux fois par jour)

administré au cours des repas. Le dosage des anticorps anti-C6 a été effectué grâce à un kit ELISA adapté avec un seuil de titrage significatif de 29U/mL. Contrairement à d'autres études portant sur des singes et des chiens, il a été observé une diminution de 12,9% des anticorps dans les 12 mois suivant l'infection naturelle chez des chiens non traités. Ceci peut s'expliquer par le fait que le dosage quantitatif utilisé permet de détecter des variations mêmes minimes de ce taux contrairement aux tests qualitatifs utilisés dans les autres études. Chez les chiens traités, cette diminution s'élève à 68,0% en moyenne après 6 mois de traitement et de 83,3% après 12 mois de traitements chez des chiens avec des taux d'anticorps initialement élevés. Ce déclin est significativement supérieur à celui observé chez les animaux contrôle. Ainsi, les données obtenues semblent montrer que comparer les valeurs en anticorps anti-C6 initialement et 6 mois après l'initiation du traitement est un bon indicateur. Une diminution supérieure à 58,3% est attendue dans les 6 mois suivant la mise sous traitement de chiens avec des taux initialement élevés d'anticorps. En cas de valeurs inférieures à celle-ci, on peut conclure à un échec thérapeutique, à une recrudescence, à une non observance du traitement ou à une réexposition à l'infection pendant ou après le traitement. Ces critères empiriques seraient cependant à confirmer à l'aide d'une seconde étude prospective comprenant davantage de chiens.

I-5-d/ Forme de résistance aux antibiotiques

Borrelia burgdorferi présenterait la capacité de résister aux traitements antibiotiques grâce à une transformation réversible en une forme kystique. En effet, malgré la mise en place d'un traitement antibiotique adapté, des antigènes de *Borrelia burgdorferi* persistent dans l'organisme. Afin de mieux comprendre la raison de cette persistance, une étude a suivi les modifications morphologiques de *Borrelia burgdorferi* pendant 96 heures de contact avec les trois antibiotiques recommandés (ceftriaxone, pénicilline et doxycycline). L'observation des spirochètes au microscope à fond noir a révélé une formation de petites vésicules au niveau de la partie terminale ou moyenne du spirochète dans les 17 heures suivant l'incubation avec de la pénicilline. Celles-ci vont ensuite fusionner par paires dans les 24 heures puis de nouvelles fusions vont aboutir à la formation d'une structure arrondie en 48 heures. Pendant ces 48 premières heures, une augmentation de la motilité a été observée du fait d'une accumulation de flagelles dans une zone plus restreinte (effet tétanos). Cette structure kystique devient alors immobile dans les 72 heures post-incubation. La microscopie électronique a permis de mettre en évidence des portions intactes de spirochète au sein de ces structures kystiques. Après 96 heures d'incubation, les corps sphériques peuvent être lysés et libérer leur contenu au sein du milieu de culture (25). En comparant les différents antibiotiques, la transformation en forme kystique se produirait davantage en présence de pénicilline et de ceftriaxone qu'en présence de tétracyclines ou de macrolides. (40) Expérimentalement, il est possible d'induire la formation de sphéroplaste en mettant les spirochètes en contact avec de l'eau distillée (95% de formes kystiques observées après une minute de contact) (25) ou en les plaçant dans un milieu BSK dépourvu de sérum de lapin (*Borrelia* est alors incapable de synthétiser des acides gras). (1)

Concernant le mécanisme mis en jeu, il a tout d'abord été envisagé l'implication du gène *Rpos* qui est un facteur sigma responsable de la dormance et de la latence. Cependant, Murgia *et al.* ont démontré l'absence de participation de ce facteur dans la formation des kystes. Elle serait plutôt due à des réarrangements physico-chimiques de la membrane externe conduisant à des processus de fusion et contrôlés par différents mécanismes de régulation encore inconnus (40). D'un point de vue moléculaire, il a été observé la synthèse de plus de vingt protéines à potentiel antigénique au cours de cette transformation. Bien que le génome de *Borrelia burgdorferi* soit de petite taille et que les capacités de synthèse soient limitées, le spirochète est doué de la capacité de changer la morphologie de ces cellules et la synthèse des protéines dans le but de rentrer dans un état de dormance lui permettant de résister à des agressions extérieures (antibiothérapie,...) (1).

La forme immobile ainsi obtenue appelée sphéroplaste semble donc résistante aux trois antibiotiques préconisés en cas de borréliose de Lyme. Les chercheurs Brorson et Brorson ont alors réussi à montrer une sensibilité au métronidazole et au tinidazole *in vitro*. Lorsque la concentration en antibiotique dépasse la concentration minimale bactéricide (variable selon l'âge du kyste), les spirochètes et les noyaux contenus dans le kyste se dissolvent. Le métronidazole a été abandonné du fait d'un souci de tolérance chez les humains au profit du tinidazole. Les concentrations minimales

bactéricides de différents antibiotiques face à la borréliose de Lyme sont récapitulées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Concentrations minimales bactéricides de différents antibiotiques face à la borréliose de Lyme (7, 30)

ANTIBIOTIQUE		CONCENTRATION MINIMALE BACTÉRICIDE (µg/mL)
FAMILLE	PRINCIPE ACTIF	
BÉTALACTAMINES	Pénicilline G	12,5-25,6
	Amoxicilline	0,8-3,2
	Ceftriaxone	0,08-0,16
TÉTRACYCLINES	Doxycycline	1,6-6,4
NITRO-5-IMIDAZOLÉS	Tinidazole	128 (spirochètes) 0,5 (kystes de 10 mois) 0,125 (kystes de 1 jour)

La transformation en sphéropastes serait réversible. En effet, une étude a cherché à étudier cette transformation inverse. Pour ce faire, les spirochètes ont été mises en contact avec de l'eau distillée pendant 4 ou 24 heures afin de générer des formes kystiques. Celles-ci ont ensuite été remises dans un milieu de culture adapté à *Borrelia burgdorferi* (milieu BSK-H). Les kystes sont alors devenus de plus en plus petits et irréguliers et des formes mobiles ont fait protrusion dès le premier jour. Celles-ci ont continué à croître jusqu'à atteindre une forme normale de spirochète et se détachent du kyste dès qu'elles ont acquis une mobilité normale. Le délai de conversion semble dépendre de la durée de dormance du kyste. En effet, expérimentalement, il a été observé une conversion dès 9 jours après une dormance de 4 à 24 heures alors qu'elle s'est produite au bout de quatre semaines après une dormance de cinq semaines. Ceci peut s'expliquer par la composition des kystes qui varie au cours du temps. En effet, au début, ils sont composés de spirochètes de structure normale puis ceux-ci sont progressivement remplacés par des noyaux denses au microscope électronique et contenant de l'ARN. (6)

In vitro dans un milieu enrichi en antibiotiques, il a été observé que les spirochètes pouvaient se transformer en sphéropastes immobiles (L-forme ou forme kystique) qui peut être résistante aux antibiotiques. Cette transformation se produirait davantage en présence de pénicilline et de ceftriaxone qu'en présence de tétracyclines ou de macrolides. Lorsque l'antibiotique est retiré du milieu, les sphéropastes libèreraient des spirochètes mobiles. Cette forme immobile de spirochète serait sensible au métronidazole et à l'hydroxychloroquine. (37)

I-6) Prophylaxie

I-6-a/ Prévention de l'infestation par les tiques

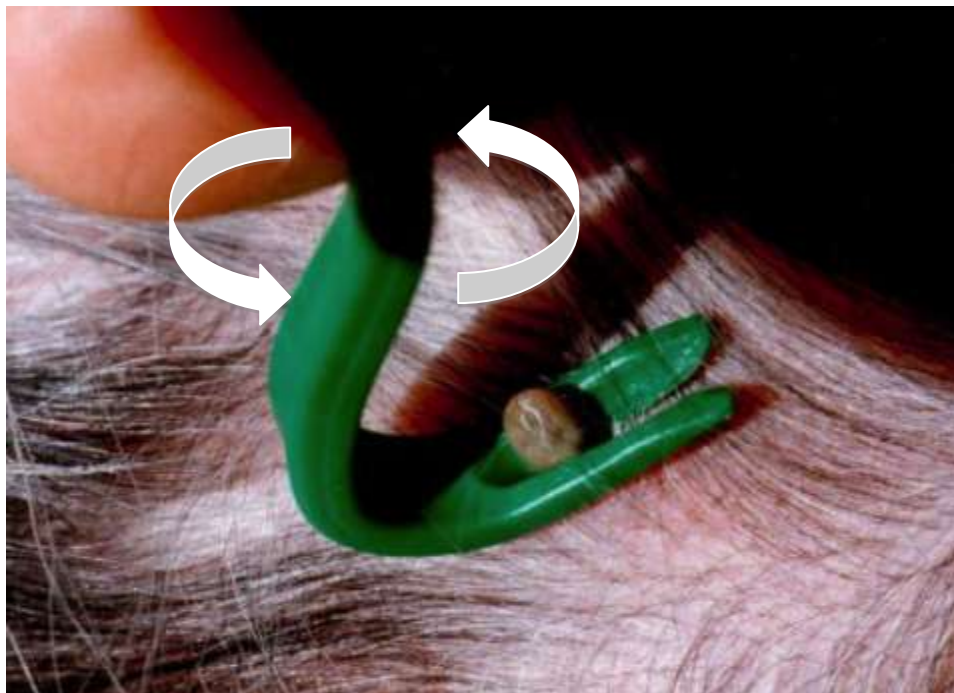
Un contrôle des tiques est important non seulement pour prévenir la maladie de Lyme mais aussi l'ehrlichiose, la babésiose, l'anaplasmose, la bartonellose et d'autres infections. Ce contrôle est d'autant plus important que la transmission de ces maladies peut survenir peu de temps après l'attachement de la tique. En effet, bien que *Borrelia burgdorferi* et *Babesia microti* nécessitent un temps d'attachement de 2-3 jours pour que la transmission soit efficace, *Rickettsia rickettsii* et *Anaplasma phagocytophilum* peuvent se transmettre dès le premier jour d'attachement. (37)

Elle commence tout d'abord par un contrôle environnemental avec un contrôle quotidien de la présence de tiques.

α – Etiquage manuel

En cas de présence d'une tique sur le chien, il est recommandé de procéder à son retrait à l'aide d'un crochet à tique. La manipulation consiste à entourer la tique des deux petites dents du crochet et de tourner toujours dans le même sens jusqu'à parvenir au détachement de la tique (figure 17). Cette technique présente l'avantage de retirer l'hypostome dans son intégralité contrairement à certaines pinces utilisées. Il est conseillé de procéder au retrait de la tique le plus tôt possible et de ne pas appliquer d'éther ou d'alcool dessus avant son extraction. Une fois la tique retirée, elle peut être conservée dans de l'éthanol à 70% pour son identification.

Figure 17 : Etiquage manuel (UP Parasitologie ENVA)



β – Traitement acaricide

Il existe des produits acaricides permettant de prévenir la morsure des tiques. Parmi ceux-ci, nous retrouvons l'amitraze, les pyréthrinoïdes, le fipronil et le pyriprol. Différentes formulations sont commercialisées, à savoir les spot on, les shampoings, les sprays et les colliers. Dans certains cas, il est recommandé d'utiliser ces formulations en association, comme par exemple une application spot on et un collier. Ces produits permettent de diminuer le risque de transmission des infections soit en empêchant la tique de s'attacher comme avec l'amitraz soit en la repoussant comme avec la perméthrine. (37)

Les colliers contenant de l'amitraz sont efficaces pour la prévention de la transmission de *Borrelia burgdorferi*. Ils doivent être bien serrés afin d'entrer en contact avec la peau et non pas seulement avec les poils. Ils sont efficaces contre les tiques seulement et non pas contre les puces. Le produit n'est plus efficace si le chien est lavé ou baigné et il ne peut être utilisé sur des chiens traités avec des antidépresseurs tricycliques en cas de troubles du comportement. Il est très toxique en cas d'ingestion et il est très important que le vétérinaire dispose de l'antidote qui est la yohimbine.

Quant au fipronil, il a été prouvé qu'il permettait de diminuer la transmission de *Borrelia burgdorferi* et d'*Ehrlichia canis*. Il a l'avantage de ne pas être éliminé lors d'un shampoing ou d'une baignade. De plus, il tue aussi bien les puces que les tiques (mais pas après deux jours d'attachement) et peut être utilisé chez les chats.

Enfin, l'association perméthrine/imidaclopride permet de prévenir la transmission de *Borrelia burgdorferi* et d'*Anaplasma phagocytophilum*. Le produit n'est pas éliminé après shampoing ou baignade. Il repousse et tue les tiques et les puces. Cependant il est toxique pour les chats.

Lors de l'administration de ces produits, il est important de se placer dans un local aéré ou en extérieur, de ne pas manger ou boire et de mettre les équipements de protection individuelle adaptés (gants, masque,...) afin d'éviter tout risque de toxicité. L'utilisation d'amitraz présente un risque non négligeable pour les personnes diabétiques. Il est donc important de prévenir les propriétaires des risques possibles liés à l'utilisation de ces molécules.

Dans le tableau 5, sont listées toutes les molécules actives contre les tiques chez les chiens, les formulations et leur spectre d'activité (12).

Tableau 5 : Molécules ou association de molécules actives contre les tiques (12)

MOLÉCULES	FORMULATIONS	SPECTRE D'ACTIVITÉ	AMM	TOXICITÉ
Indoxacarb Perméthrine	Spot on	Puces Tiques	Chien	Chat
Imidaclopride Perméthrine	Spot on	Puces Tiques Phlébotomes Culicidés Mouches	Chien	Chat
Fipronil S-méthoprène Amitraze	Spot on	Puces Tiques Poux	Chien	Lapin Attention diabétiques
Perméthrine Pyriproxyfène	Spot on	Puces Tiques	Chien	Chat
Fipronil S-méthoprène	Spot on	Puces Tiques Poux	Chien/Chat	Lapin
Fipronil	Spot on Spray	Puces Tiques Poux	Chien/Chat	Lapin
Pyriprole	Spot on	Puces Tiques	Chien	Lapin
Métaflumizone Amitraze	Spot on	Puces Tiques Poux Démodex	Chien	Attention diabétiques
Perméthrine	Spot on Shampooing	Puces Tiques	Chien	Chat
Deltaméthrine	Collier	Tiques Phlébotomes Culicidés	Chien	
Imidaclopride Fluméthrine	Collier	Puces Tiques Poux	Chien/Chat	

I-6-b/ Prophylaxie vaccinale

α – Vaccins

Actuellement les vaccins utilisés produisent une réponse anticorps anti-OspA stimulant l'activation du complément à former un complexe d'attaque membranaire détruisant *Borrelia burgdorferi* dans l'intestin de la tique au moment du repas sanguin. Cependant, des échecs vaccinaux sont rencontrés dans 40% des cas avec des vaccins anti-OspA et dans 22% des cas avec des vaccins composés de cellules entières. Ceci peut s'expliquer par le fait que la protéine OspA est directement inhibée après le repas sanguin de la tique, elle est spécifique de certains génotypes, et car les tiques peuvent être infectées par un spirochète OspA négatif. Une autre cible pour les vaccins est OspC qui, contrairement à OspA, est stimulé lors du repas sanguin de la tique et est exprimée pendant les premiers stades de l'infection chez l'hôte. L'extrême hétérogénéité antigénique n'a pas permis de poursuivre cette investigation. Cependant, des chercheurs ont identifié récemment un épitope de 7 acides aminés en position C terminale de OspC, reconnu par les anticorps anti-OspC et conservé chez plusieurs espèces de *Borrelia* dont *Borrelia afzelii* et *Borrelia garinii*.

Une étude de 2008 (29) a consisté en la création d'un vaccin bactérien bivalent anti-OspA et anti-OspC7 sur des beagles et en l'évaluation de son efficacité devant une provocation avec des tiques infectées. Pour ce faire, ils ont combiné deux souches de *Borrelia burgdorferi* à savoir *Borrelia burgdorferi* S-1-10 permettant de générer un fort taux d'anticorps anti-OspA et des anticorps anti-OspC mais avec une activité bactéricide anti-OspA seule et *Borrelia burgdorferi* 50772 à l'origine d'une importante réponse humorale anti-OspC. Aucun spirochète n'a été retrouvé ni dans les tiques ayant pris leur repas sanguin sur les chiens vaccinés ni dans la peau ou les articulations de ces chiens alors que l'agent de la maladie de Lyme a été isolé chez 32% des tiques ayant été engorgées sur des chiens vaccinés avec un placebo, dans les biopsies cutanées chez 93% de ces chiens et dans les articulations de 53% d'entre eux. De plus, ce vaccin semble capable d'empêcher la séroconversion puisqu'aucune bande supplémentaire n'a été observée au test d'immuno-empreinte 90 jours après la provocation contrairement aux chiens vaccinés avec le placebo (93% d'entre eux ont développé une réponse anticorps spécifique contre *Borrelia burgdorferi*). Enfin, des troubles articulaires (raideur, faiblesse articulaire, synovite) liées à la maladie de Lyme ont été retrouvés chez 67% des chiens vaccinés avec le placebo alors qu'aucune atteinte n'a été observée chez les chiens vaccinés avec le vaccin bivalent.

Tous ces résultats tendent à conclure en un niveau de protection élevé contre la borréliose de Lyme et ce peu de temps après l'immunisation.

Du fait de la présence de l'épitope OspC7 chez plusieurs espèces de *Borrelia*, il est possible que ce vaccin protège également contre d'autres spirochètes. De plus, il serait intéressant de tester la présence d'une éventuelle réponse immunitaire mémoire avec ce vaccin bivalent.

Une seconde étude a permis (28) de tester l'efficacité de ce vaccin au moins un an après la vaccination. Concernant la réponse humorale, les anticorps anti-OspC ne sont plus décelables alors que les anticorps anti-OspA ont été décelés dans 87% des cas vaccinés mais avec un titre beaucoup plus faible. Cependant, lorsque les chiens sont soumis à une forte exposition, la vaccination fournit tout de même un haut niveau

de protection. En effet, bien que les spirochètes aient colonisé la peau de 40% des chiens vaccinés malgré la présence sérique d'anticorps anti-OspA, l'infection a été rapidement éliminée par la suite et ni la séroconversion ni le développement de la maladie n'ont eu lieu. En revanche, les spirochètes ont été retrouvés dans la peau de 60% des chiens vaccinés avec le placebo et l'infection a persisté (atteinte cutanée, atteinte articulaire, séroconversion). Cette étude prouve la capacité des spirochètes à échapper aux anticorps anti-OspA très probablement grâce à leur variabilité antigénique et justifie donc les échecs vaccinaux rencontrés lors de l'utilisation de vaccins anti-OspA seuls. De plus, elle montre la protection accrue offerte par la réponse humorale anti-OspC bien que le mécanisme reste encore inconnu (phagocytose à médiation humorale ?...).

En conclusion, l'infection se produit malgré la présence d'anticorps anti-OspA et le vaccin bivalent ainsi créé surmonte cette imperfection en fournissant une protection accrue pendant au moins 1 an.

β– Protocole vaccinal

La vaccination contre la maladie de Lyme comporte deux injections de primovaccination. La première injection peut se faire dès 9 à 12 semaines d'âge avec un rappel deux à quatre semaines après.

Des rappels annuels sont à effectuer afin de garantir une immunité pérenne.

γ - Efficacité des vaccins

L'efficacité des vaccins peut être évaluée par la capacité de prévenir la maladie. Celle-ci peut être estimée par le nombre de chiens développant la maladie malgré une vaccination. Cependant, cela s'avère être difficile puisqu'il n'existe pas de test permettant de mettre en évidence une infection active.

δ – Effets secondaires

La vaccination est un procédé consistant à administrer un agent dans le but de développer chez le patient une réponse immune de type anticorps contre une maladie infectieuse. Or, étant donné que l'arthropathie de Lyme et la néphropathie de Lyme sont très probablement liées à une réponse immune de type dépôts d'immuns-complexes, il est possible que la vaccination participe à la pathogénie de cette maladie et ainsi qu'elle induise la maladie plutôt que de la prévenir.

Chez l'homme, il a été démontré que les anticorps anti-*Borrelia burgdorferi* réagissent avec de nombreux autoantigènes tels que le LFA-1, la myéline, la myosine, la cardiolipine et la thyroïde. Ainsi, le développement de vaccins humains contre la maladie de Lyme s'avère difficile du fait des nombreux effets secondaires possibles.

ε – Discussion

La vaccination préventive contre la maladie de Lyme est très discutée. En effet, cette maladie est rarement symptomatique mais elle peut être mortelle. Cependant, il a été démontré (21) qu'elle ne présentait aucun risque zoonotique pour l'homme. En effet, aucune corrélation positive n'a été démontrée entre la séropositivité des chasseurs et celle de leurs chiens. Ainsi, les chiens ne sont que des sentinelles de la borréliose de Lyme. Faut-il alors vacciner les chiens contre cette maladie ? Le tableau 6 récapitule les arguments en faveur et en défaveur de cette vaccination.

Tableau 6 : Arguments en faveur et en défaveur de la vaccination préventive contre la maladie de Lyme chez le chien (37)

Arguments en faveur	Arguments en défaveur
Vaccinations par des praticiens depuis 1990 sans effets secondaires	39 praticiens ne recommandent pas la vaccination, seulement 2 la recommandent et 4 l'utilisent rarement
Puisqu'il est impossible d'éliminer complètement l'infection, il vaut mieux tenter de prévenir l'infection avec une vaccination	Dans la plupart des cas, les chiens sont asymptomatiques ou répondent rapidement aux antibiotiques. Les chiens qui développent la maladie sont probablement prédisposés génétiquement à développer une maladie à médiation immune due aux antigènes de Lyme. Une vaccination ne serait donc pas efficace sur eux.
Certains propriétaires préfèrent la vaccination aux produits dirigés contre les tiques et certains propriétaires sont soucieux concernant la maladie de Lyme.	La vaccination ne doit pas remplacer une bonne prévention dans les aires endémiques du fait des autres infections possibles (<i>Anaplasma</i> , <i>Ehrlichia</i> , <i>Babesia</i> , <i>Bartonella spp</i>)
Les praticiens utilisant le vaccin rapportent voir moins de cas de borréliose	Les praticiens n'utilisant pas le vaccin rapportent également voir moins de cas.
Prévention de la maladie : 78% Prévention de la séroconversion : 90-92% Nécessité de rappels annuels	Efficacité variable (50-100%) La prévention de la maladie est plus importante que la prévention de la séroconversion Nécessité de rappels annuels
Moins de 2% d'effets secondaires	Choc anaphylactique possible
Le syndrome post-vaccinal peut être le résultat d'une erreur d'interprétation du WB, à une infection à <i>Anaplasma</i> ou à d'autres causes	Syndrome post-vaccinal nécessite des études supplémentaires
	OspA utilisée dans les vaccins est proinflammatoire, sensibilise l'animal et est retrouvée en grande quantité lors de néphrite de Lyme (maladie liée probablement aux immuns-complexes).
Immunothérapie des chiens séropositifs : Traitement de tous les chiens positifs avec de la doxycycline pendant un mois et les vacciner à J0 et J14	Pas de preuve que la vaccination des chiens séropositifs soit efficace. Elle pourrait même être néfaste dans certains cas .

I-6-c/ Dépistage chez les chiens sains

De même que pour la vaccination, le dépistage de la maladie de Lyme est très discuté. En effet, un dépistage permettrait une meilleure connaissance de la séroprévalence de cette maladie et de prévenir une atteinte mortelle de type néphropathie. Cependant, le dépistage peut conduire à une thérapeutique excessive pour une maladie à portage majoritairement asymptomatique et donc à des antibiorésistances. Tous les arguments sont recensés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Arguments en faveur et en défaveur du dépistage systématique de la maladie de Lyme chez le chiens (37)

Arguments en faveur	Arguments en défaveur
Détection d'une maladie potentiellement dangereuse (néphropathie) avant l'expression clinique. Si détectée, suivi annuel d'une éventuelle protéinurie (plus souvent chez retriever et shetland)	Diagnostic en excès et traitement excessif sur la base d'un test qui ne prédit pas si la maladie va s'exprimer ou non. La plupart des chiens ne développent pas de symptômes et ne nécessitent donc pas de traitement
Séroprévalence chez animaux asymptomatiques et symptomatiques	Traitement en excès avec une élimination incomplète des organismes peut induire des souches antibiorésistantes
Protocole de vaccination personnalisé car pas de preuve qu'efficace sur animaux séropositifs	Utilisation excessive d'antibiotiques augmente d'autres résistances microbiennes dans l'environnement
Information sur l'environnement car les chiens sont des sentinelles	Tous les chiens n'éliminent pas l'infection même après un mois de traitement
Sensibilisation des propriétaires sur la recherche de tiques et son importance	L'immunité induite est transitoire et les chiens traités peuvent être réinfectés
Informers les propriétaires que s'ils retrouvent une tique sur eux, ils doivent aller chez le médecin afin de leur prescrire de la doxycycline	Les chiens séropositifs subcliniques peuvent être dans un stade protecteur
	Les médicaments utilisés ont des effets secondaires
	Un test positif peut générer un souci injustifié chez les propriétaires
	Un test faussement positif génère des frais chez le propriétaire, un souci injustifié et des réactions possibles au traitement chez le chien qui ne nécessitait en réalité pas de traitement
	Les zones endémiques sont déjà connues. Un contrôle des tiques et une sensibilisation des personnes est recommandée dans toutes ces zones indépendamment des résultats des tests sanguins.
	La recherche de protéinurie doit être effectuée en routine lors d'une visite de santé et pas uniquement en cas de résultat séropositif

Conclusion

En définitive, la maladie de Lyme canine diffère beaucoup de la borréliose humaine.

Le spirochète responsable est une bactérie flagellée à fort potentiel locomoteur. Sa morphologie et sa composition sont complexes ce qui lui confèrent des propriétés spécifiques. Il présente notamment la capacité de se mouvoir dans des milieux visqueux tels que le liquide articulaire, de résister à un stress (antibiotique, eau oxygénée) en se transformant en forme kystique et d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte.

Le mode de transmission de cette zoonose est de type vectoriel. La tique *Ixodes ricinus* s'est infectée soit par transmission systémique soit par transmission transovarienne (beaucoup plus rare). *Borrelia burgdorferi* se réfugie alors au sein de son intestin jusqu'au repas sanguin de la tique. Au cours de celui-ci, une migration des bactéries jusqu'aux glandes salivaires de la tique se produit pour ensuite rejoindre le sang de l'hôte. La bactériémie est transitoire et le spirochète migre rapidement au niveau d'autres organes notamment des articulations.

Les signes cliniques observés sont frustes et non pathognomoniques contrairement à l'érythème migrant rencontré chez l'homme. Seuls 5% des chiens infectés sont cliniques. La boiterie et le syndrome fébrile sont les uniques symptômes reconnus comme étant consécutifs à l'infection par *Borrelia burgdorferi* d'après le postulat de Koch. Aucun modèle expérimental n'a encore été validé, ce qui rend assez difficile sa description clinique. Une autre forme beaucoup plus grave et souvent fatale a été observée : la néphrite de Lyme. Elle serait plutôt liée au dépôt d'immuns-complexes au niveau rénal.

D'un point de vue diagnostique, la mise en évidence directe du spirochète est très délicate et chronophage. C'est pour cela que la méthode de choix repose sur un diagnostic indirect. Avant, il était recommandé d'effectuer un test ELISA suivi d'un test d'immuno-empreinte pour confirmer le diagnostic. Désormais de nouveaux tests combinant ces deux méthodes existent. Ils sont beaucoup plus simples, rapides et avec de bonnes sensibilité et spécificité.

Le traitement de la maladie de Lyme repose sur celui administré en médecine humaine à savoir une antibiothérapie. La molécule la plus communément utilisée est la doxycycline. Il faut savoir que ce traitement ne permet pas d'éliminer complètement le spirochète mais de faire disparaître les symptômes. Le traitement des animaux séropositifs asymptomatiques est alors controversé notamment vis-à-vis des antibiorésistances.

Un suivi régulier des animaux séropositifs est important avec notamment la recherche d'une protéinurie en routine afin d'appréhender une éventuelle néphrite de Lyme souvent fatale.

La prophylaxie repose tout d'abord par une lutte contre le vecteur : *Ixodes ricinus*. Pour ce faire, une observation minutieuse de l'animal est recommandée après chaque exposition potentielle. Un étiquage efficace doit être effectué le plus rapidement possible lors de la présence d'une tique. Des traitements préventifs de type acaricides

peuvent être également mis en place pour éviter ou limiter l'infestation par les tiques. Ils existent sous différentes formes (colliers, spot on, spray, shampoing). Il est important de délivrer le produit le plus adapté à la demande du propriétaire et de fournir les recommandations appropriées au traitement choisi notamment vis-à-vis des risques toxiques.

La prophylaxie peut également être vaccinale avec une primovaccination en deux injections suivies de rappels annuels. La vaccination est très controversée dans le sens où elle ne doit pas remplacer une lutte contre le vecteur et que 95% des chiens infectés ne manifestent pas la maladie.

II- Etude expérimentale

II-1) Objectif

L'objectif de l'étude réalisée était d'estimer la prévalence d'infection des chiens par des agents de maladies vectorielles à l'aide de tests d'immunomigration (4Dx®, IDEXX). Ce test permet de mettre en évidence des marqueurs d'*Anaplasma*, d'*Ehrlichia*, de *Borrelia* et de *Dirofilaria* sur des prélèvements sanguins de chiens suspectés de maladie vectorielles. Il s'agissait également de rechercher s'il existait des associations entre les résultats positifs et les critères cliniques observés, les résultats hématologiques et la présence des tiques. Cette enquête a concerné initialement les quatre écoles vétérinaires françaises qui se sont chargées chacune d'un agent parmi les quatre. Pour notre part, seule l'infection par *Borrelia burgdorferi* sera traitée.

II-2) Matériel et méthodes

II-2-a/ Population étudiée

Pour ce faire, il a été demandé à un étudiant de chaque école nationale vétérinaire de récolter les prélèvements sanguins canins réalisés et adressés au laboratoire d'hématologie de chaque structure puis de réaliser ces tests en aveugle sur la période du premier mars 2011 ou 29 juin 2011.

II-2-b/ Critères d'inclusion

Tous les prélèvements sanguins de chiens effectués au sein de la structure en vue d'un hémogramme ont été pris en compte.

II-2-c/ Informations cliniques

Après chaque test, une fiche informative a été remplie à partir du dossier de l'animal. Elle comportait plusieurs catégories : tout d'abord l'identification de l'animal (nom, code postal, numéro de dossier et date de la prise de sang), l'anamnèse (race, âge, sexe, antécédents pathologiques, lieu de vie habituel, déplacements, date et nom du dernier traitement antiparasitaire externe préventif), l'examen clinique général lors de la prise de sang (température rectale, poids, peau, appareil cardiovasculaire, appareil pulmonaire, appareil digestif, appareil locomoteur, comportement,...) et les résultats

des examens complémentaires (hémogramme, frottis, biochimie, autres analyses et le résultat du test 4Dx). Suite à cette collecte d'informations, le cas était affilié soit à la population P1 ou P2 :

- Pour appartenir à la population P1 dite population suspecte de maladie vectorielle, l'animal devait remplir au moins un des critères suivants :

- d'un point de vue hématologique : anémie et/ou thrombopénie et/ou neutropénie et/ou leucopénie, présence sur le frottis sanguin de *Babesia*, de morula d'*Anaplasma* ou autre
- sur le plan clinique : la présence de fièvre et/ou d'abattement et/ou de boiterie/troubles locomoteurs et/ou de phénomènes algiques.

- Dans le cas d'une formule sanguine normale et/ou de la simple présence d'une tique sur l'animal, celui-ci était inclus dans la population témoin P2. Chacune de ces données ont ensuite été retranscrites informatiquement et traitées statistiquement. (Annexe 1)

II-2-d/ Prélèvement

Il s'agit de sang prélevé sur tube EDTA et conservé au réfrigérateur entre 2 et 8°C.

II-2-e/ Test d'immunomigration

Le test SNAP 4Dx® canin est un test diagnostic in vitro permettant la détection d'antigènes de *Dirofilaria immitis* et d'anticorps dirigés contre *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* (anticorps anti-C6) et *Ehrlichia canis* dans le sérum, le plasma ou le sang entier canin.

Chaque trousse est constituée d'un flacon de réactif conjugué de 7mL et d'un dispositif SNAP. Elle a été conservée entre 2 et 8°C avant la date de péremption au réfrigérateur.

La sensibilité et la spécificité du test pour la détection d'anticorps anti-*Borrelia burgdorferi* annoncées par le fournisseur sont respectivement de 98,8% et 100% (tableau 8).

Les échantillons de sang issus du laboratoire d'hématologie étaient stockés au réfrigérateur après leur analyse et chaque semaine le test SNAP 4Dx® était effectué.

En pratique, les échantillons et les trousse Snap sont laissés à la température ambiante pendant 30 minutes. Trois gouttes de sang sont prélevées avec la pipette et placées dans un nouveau tube. A celles-ci sont ajoutées quatre gouttes de réactif conjugué. Le tube est ensuite fermé et retourné trois à cinq fois. Le dispositif Snap est

parallèlement placé sur une surface horizontale. Le contenu du tube est ensuite ajouté dans sa totalité dans le puits tout en évitant tout débordement. L'échantillon s'écoule à travers la fenêtre de lecture avant d'atteindre le cercle d'activation après 30 à 60 secondes environ. Dès que le cercle d'activation commence à changer de couleur, l'activateur est enfoncé fermement afin de l'aligner sur le corps du dispositif. Si les échantillons n'atteignent pas le cercle d'activation dans les 60 secondes, l'activateur est enfoncé une fois que l'échantillon a traversé la fenêtre de lecture. Le test est laissé de côté pendant huit minutes avant de lire les résultats. (figure 18)

Figure 18 : Réalisation pratique du test 4Dx®



La lecture du test se fait au niveau de la fenêtre de lecture. Afin de s'assurer que le test est interprétable, il est nécessaire d'observer que la pastille de contrôle située en haut à gauche de la fenêtre est bleue. Ensuite, la lecture du reste de la fenêtre peut être effectuée. Elle consiste à regarder si une ou plusieurs pastilles sont bleues. Si la pastille du bas est bleue, cela révèle la présence d'un anticorps dirigé contre *Borrelia burgdorferi*. (figures 19,20 et 21)

Figure 19 : Lecture du test 4Dx®

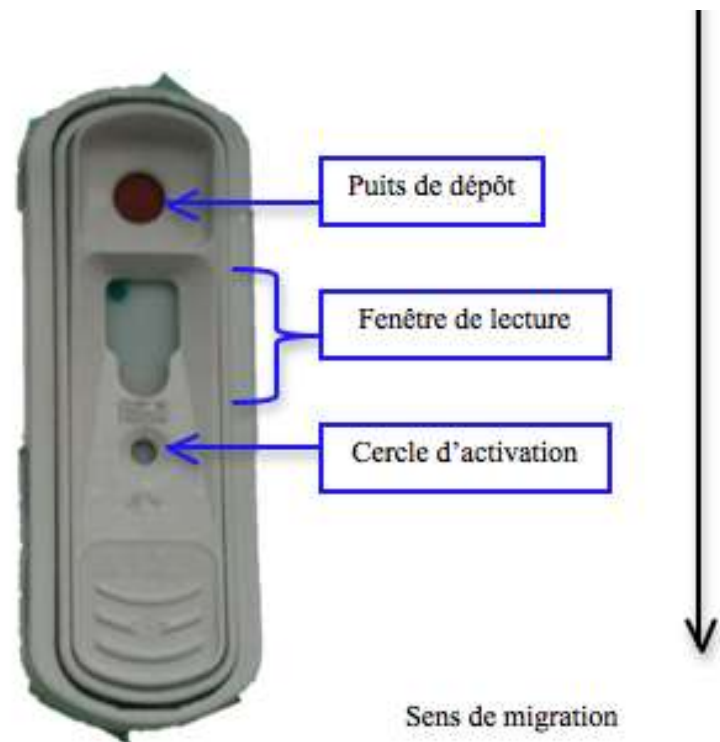


Figure 20 : Lecture de la fenêtre du test 4Dx®

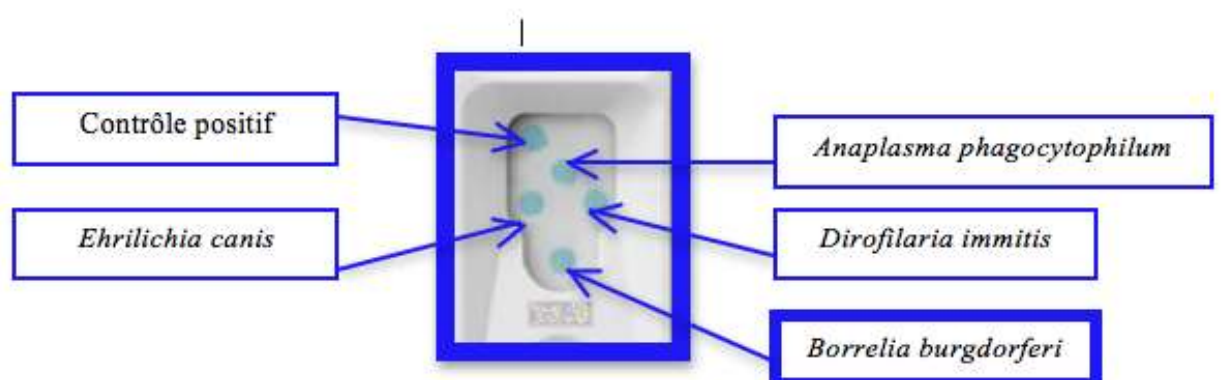


Figure 21 : Résultat positif pour *Borrelia burgdorferi*



Tableau 8 : Qualités diagnostiques du test 4Dx® (annoncées par le fournisseur)

	Sensibilité	Spécificité
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	99,1% [96,5% ; 100%] _{95%}	100% [98% ; 100%] _{95%}
<i>Dirofilaria canis</i>	99,2% [94,8% ; 100%] _{95%}	100% [98% ; 100%] _{95%}
<i>Borrelia burgdorferi</i>	98,8% [95,4% ; 99,9%] _{95%}	100% [98% ; 100%] _{95%}
<i>Ehrlichia canis</i>	96,2% [90,1% ; 98,8%] _{95%}	100% [98% ; 100%] _{95%}

II-3) Résultats

II-3-a/ Prévalence

L'étude a porté sur 323 chiens dont 143 femelles et 179 mâles. Plus précisément, l'école vétérinaire de Lyon a recensé 72 chiens (37 femelles, 34 mâles et un de sexe inconnu), l'école de Toulouse 53 chiens (28 femelles et 25 mâles) et l'école d'Alfort 198 chiens (78 femelles et 120 mâles).

L'âge des chiens se situe entre 2 mois et 17 ans avec une moyenne de 6 ans et demi.

A l'issue de cette étude, l'école nationale vétérinaire de Lyon compte un résultat positif pour *Borrelia burgdorferi* sur 72 échantillons soit 1,4%, l'école d'Alfort en compte 4 sur 197 soit 2,0% et l'école de Toulouse n'en dénombre aucun sur 53. (tableau 9 et figure 22)

Tableau 9 : Nombre et pourcentage d'échantillons positifs en fonction des Écoles

	Nombre total d'échantillons	Nombre de test 4DX positif pour <i>Borrelia burgdorferi</i>	Pourcentage d'échantillons positifs pour <i>Borrelia burgdorferi</i>
Lyon	72	1	1,4 %
Alfort	197	4	2,0 %
Toulouse	53	0	0,0 %
Total	322	5	1,5 %

Figure 22 : Proportion de chiens pour lesquels la présence d'anticorps vis-à-vis de *Borrelia burgdorferi* a été détectée par le test 4Dx®



II-3-b/ Profil des chiens positifs pour le test 4Dx®

L'anamnèse (nom, race, âge, sexe, département), les résultats de l'hémogramme et du frottis, les signes cliniques ainsi que les résultats du test 4Dx® des chiens ayant fourni un résultat positif au test 4Dx® sont présentés dans le tableau 10 ci-dessous.

Tableau 10 : Profils des chiens positifs pour le test 4Dx®

Nom du chien	Race	Age Sexe Ans F/M	Dpt	Anémie	Thrombopénie	Neutropénie	Leucopénie	Frottis	Fièvre	Abattement	Boiterie / Pb locom.	Phen. Algiq.	Anap.	Ehrl.	Borr.	Diro.
				Oui : 1 Non : 0					Oui : 1 Non : 0				Positif=1/ Négatif=0			
Bohème de Celius	Berger Allemand	4,5 F	91	0	0	0	0	Normal	1	1	0	0	0	0	1	0
Bosco	Beauce-ron	4 M	94	0	0	0	0	Normal	0	0	0	0	0	0	1	0
Titus dit Deadle	Bouvier Bernois	2,5 M	89	1	0	0	0	Normal	0	0	1	0	0	0	1	0
Toscane	Hovawart	9 F	91	0	1	0	0	Normal	0	0	0	0	0	0	1	0
Boumou-gne	Bouvier Bernois	4 M	38	1	1		0	0	1	1	1	0	0	0	1	0

II-3-c/ Races représentées

Concernant les races, elles ont été classées selon la classification FCI (Fédération Cynologique Internationale) dans l'annexe 2 (14).

Nous remarquons qu'au sein de la population générale de l'étude les chiens de berger et Bouviers sont les plus représentés (17,6%), suivis par des chiens croisés et de chasse (17,3%), les chiens de type Pinscher et Schnauzer, Molossoïdes et chiens de Montagne et de Bouvier Suisses (16,7%), les chiens Rapporteurs de Gibier, Leveurs de Gibier et chiens d'Eau (14%), les Chiens d'Agrément et de Compagnie (13,3%) et les Terriers (12,1%). Dans une moindre mesure, nous retrouvons des chiens d'Arrêt (4,9%), des Chiens Courants, Chiens de Recherche au Sang et Races Apparentées (2,2%), des Teckels (1,2%), des Chiens de Type Spitz et de Type Primitif (0,3%) et des Lévrier (0,3%). Les chiens ayant répondu positivement au test pour *B. burgdorferi* sont deux Bouviers Bernois, un Berger Allemand, un Beauceron et un Hovawart.

II-3-d/ Association avec les facteurs de suspicion

Une étude statistique a permis de rechercher s'il existait une association entre le résultat du test et les résultats d'hématologie (anémie, thrombopénie, leucopénie), les critères de suspicion clinique (fièvre, abattement, boiterie, phénomène algique) et la présence de tiques au sein de la population cible. Le calcul des effectifs attendus nous a conduit à utiliser le test de Fisher (3) et non pas le test du Chi². La valeur obtenue du p a été comparée pour chaque cas à 0,05 afin de pouvoir conclure à la significativité de l'association. Tous les résultats sont interprétés sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement.

a – Résultats selon les critères d'hématologie

Les résultats de l'analyse visant à rechercher une association entre les critères d'hématologie et les résultats du test 4Dx® (*Borrelia burgdorferi*) sont présentés dans les tableaux 11 à 15.

Tableau 11 : Recherche d'association entre l'anémie et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Anémie (Hb < 12 g/dL)			
Signe +	2	94	96
Signe –	3	221	224
Total	5	315	320
Test de Fisher (p-value)	0,64		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens anémiés (2,1%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens non anémiés (1,3%).		

Tableau 12 : Recherche d'association entre la thrombopénie et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Thrombopénie			
Signe +	2	84	86
Signe –	3	233	236
Total	5	317	322
Test de Fisher (p-value)	0,61		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens présentant une thrombopénie (2,3%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens ne présentant pas de thrombopénie (1,3%).		

Tableau 13 : Recherche d'association entre la neutropénie et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Neutropénie			
Signe +	0	31	31
Signe –	4	206	210
Total	4	237	241
Test de Fisher (p-value)	1		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens présentant une neutropénie (0%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens ne présentant pas de neutropénie (1,9%).		

Tableau 14 : Recherche d'association entre la leucopénie et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Leucopénie			
Signe +	0	11	11
Signe –	5	297	302
Total	5	308	313
Test de Fisher (p-value)	1		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens présentant une leucopénie (0%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens ne présentant pas de leucopénie (1,7%).		

Tableau 15 : Recherche d'association entre un critère hématologique de suspicion et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Anémie ou thrombopénie ou neutropénie ou leucopénie			
Signe +	3	152	155
Signe –	2	165	167
Total	5	317	322
Test de Fisher (p-value)	0,67		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens présentant un trouble hématologique (1,9%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens ne présentant pas de trouble hématologique (1,2%).		

A l'issue de cette analyse, aucune association n'a été observée entre les critères hématologiques et les résultats (*Borrelia burgdorferi*) du test 4Dx® au sein de la population cible, sous l'hypothèse qu'il n'y a pas de biais de sélection et de biais de classement.

β – Résultats selon les critères cliniques de suspicion

Les résultats de l'analyse visant à rechercher une association entre les critères cliniques de suspicion et les résultats du test 4Dx® (*Borrelia burgdorferi*) sont présentés dans les tableaux 16 à 20.

Tableau 16 : Recherche d'association entre l'hyperthermie et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Hyperthermie			
Signe +	2	108	110
Signe –	3	200	203
Total	5	308	313
Test de Fisher (p-value)	1		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens présentant une hyperthermie (1,8%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens ne présentant pas d'hyperthermie (1,5%).		

Tableau 17 : Recherche d'association entre l'abattement et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Abattement			
Signe +	2	123	125
Signe –	3	193	196
Total	5	316	321
Test de Fisher (p-value)	1		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens présentant un abattement (1,6%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens ne présentant pas d'abattement (1,5%).		

Tableau 18 : Recherche d'association entre la boiterie et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Boiterie			
Signe +	2	61	63
Signe –	3	254	257
Total	5	315	320
Test de Fisher (p-value)	0,26		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens présentant une boiterie (3,2%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens ne présentant pas de boiterie (1,2%).		

Tableau 19 : Recherche d'association entre le phénomène algique et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Phénomène algique			
Signe +	0	21	21
Signe –	5	291	296
Total	5	312	317
Test de Fisher (p-value)	1		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens présentant une douleur (0%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens ne présentant pas de douleur (1,7%).		

Tableau 20 : Recherche d'association entre un critère clinique de suspicion et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Hyperthermie ou abattement ou boiterie ou algie			
Signe +	3	189	192
Signe –	2	127	129
Total	5	316	321
Test de Fisher (p-value)	1		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens présentant un critère de suspicion clinique (1,6%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens ne présentant pas de critère de suspicion clinique (1,5%).		

A l'issue de cette analyse, aucune association n'a été observée entre les critères de suspicion clinique et les résultats (*Borrelia burgdorferi*) du test 4Dx® au sein de la population cible, sous l'hypothèse qu'il n'y a pas de biais de sélection et de biais de classement.

γ – Résultats selon la présence de tiques sur l'animal

Les résultats de l'analyse visant à rechercher une association entre la présence de tiques sur l'animal et les résultats du test 4Dx® (*Borrelia burgdorferi*) sont présentés dans le tableau 21.

Tableau 21 : Recherche d'association entre la présence de tiques sur l'animal et le résultat du test 4Dx®

	4Dx® positif	4Dx® négatif	Total
Présence de Tiques			
Signe +	0	36	36
Signe –	5	228	233
Total	5	264	269
Test de Fisher (p-value)	1		
Conclusion :	Dans l'échantillon, sous l'hypothèse d'absence de biais de sélection et de biais de classement, le pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens porteurs de tiques (0%) n'est pas significativement différent du pourcentage de chiens possédant des anticorps dirigés contre <i>Borrelia burgdorferi</i> parmi les chiens non porteurs de tiques (2,1%).		

A l'issue de cette analyse, aucune association n'a été observée entre la présence de tiques et les résultats (*Borrelia burgdorferi*) du test 4Dx® au sein de la population cible, sous l'hypothèse qu'il n'y a pas de biais de sélection et de biais de classement.

III- Discussion

III-1) Qualité et validité des résultats

III-1-a/ Qualité et validité du test SNAP 4Dx®

La qualité d'un test diagnostic est évaluée par deux paramètres : la sensibilité et la spécificité. D'un point de vue épidémiologique, la sensibilité correspond à l'aptitude d'un test à fournir une réponse positive chez un individu infecté. Elle s'estime par la proportion d'individus infectés fournissant une réponse positive au test. (50) D'un point de vue immunologique, il s'agit de la capacité de ne pas passer à côté d'un individu infecté.

En épidémiologie, la spécificité est, par définition, l'aptitude d'un test à fournir une réponse négative chez un animal indemne. Elle s'estime par la proportion d'individus indemnes fournissant une réponse négative au test. (50) En immunologie, il s'agit de la capacité à être certain que l'animal positif est un animal infecté.

Ces deux valeurs ne dépendent pas de la fréquence de la maladie dans une zone et sont donc qualifiées d'intrinsèques. Le choix d'une bonne sensibilité se fait toujours au détriment de la spécificité et réciproquement.

Le test utilisé met en évidence les anticorps anti-C6. La sensibilité annoncée par le fournisseur est de 98,8% et la spécificité de 100%. Ces deux valeurs sont bonnes et laissent à penser que ce test est de bonne qualité. En effet, avec un tel test nous devons nous attendre à ce que tous les cas positifs observés soient vraiment infectés et que la quasi-totalité des individus infectés soient détectés. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'antigène ciblé est un marqueur d'une infection active puisqu'il est exprimé uniquement lors de la répllication du spirochète au sein des mammifères hôtes (22) et qu'il diminue rapidement après le traitement. De plus, l'absence de réaction croisée avec la dirofilariose, la babésiose, l'ehrlichiose, la leptospirose et d'autres vaccins constitue un réel avantage pour ce marqueur. (36, 41)

En comparant ce test immunoenzymologique rapide (SNAP 3Dx®, IDEXX Laboratories) avec les tests conventionnels de dépistage de *Borrelia burgdorferi* (ELISA et test d'immuno-empreinte) chez des chiens suisses en Europe (18), il a été observé une corrélation significative modérée ($\kappa = 0.571$) avec les mêmes résultats chez 79% des échantillons testés. Cette corrélation est d'autant plus importante entre le test immunoenzymologique et le test d'immuno-empreinte portant sur les bandes p100 et p58 (bandes utilisées pour le diagnostic de la maladie de Lyme chez l'homme en Europe). Ceci confirme que ce nouveau test est capable de détecter les souches européennes de *Borrelia burgdorferi*. Cependant, si nous regardons de plus près ces résultats et que nous les comparons aux données fournisseur, nous remarquons la présence d'une certaine incohérence. En effet, la sensibilité du test d'immunomigration SNAP 3Dx® calculée par rapport aux tests conventionnels dans cette étude est de 81% et la spécificité de 77%. Comment peut-on expliquer une corrélation modérée et de tels écarts par rapport aux valeurs annoncées ? Une première hypothèse concernant les tests conventionnels peut se poser. En effet, il faut

savoir qu'ils ont été mis en place aux USA où les souches de *Borrelia* ne sont pas les mêmes qu'en Europe. Cette hypothèse est confortée par le fait que deux études reposant sur les mêmes tests aux USA ont révélé une corrélation de 100% (32) et de 93% (19). Ainsi la différence observée pourrait être liée à un défaut des tests conventionnels utilisés comme référence pour évaluer la sensibilité et la spécificité du SNAP 4Dx® (IDEXX Laboratories).

Une autre hypothèse serait la surestimation des qualités du test SNAP 4Dx® fournies par le laboratoire. Les valeurs annoncées reposent sur la comparaison des résultats du test d'immunomigration SNAP 4Dx® avec le test conventionnel qui cette fois est l'immunofluorescence et le test d'immuno-empreinte. Le descriptif de l'étude n'est pas détaillé mais reposerait sur 404 sérums de chiens. Il nous est donc impossible de poser un regard critique sur cette étude et d'en évaluer les éventuels biais.

III-1-b/ Qualité et validité de l'enquête épidémiologique

200 tests ont été fournis à chaque école afin d'effectuer les expériences. Cependant, les échantillons finaux ne s'élèvent au total qu'à 322 cas pour les trois écoles au lieu des 600 attendus.

En enquête descriptive, il est important que l'image de la population obtenue par mesure sur l'échantillon soit exacte et précise.

Le facteur conditionnant l'exactitude d'un résultat est la représentativité de l'échantillon par rapport à la population que l'on souhaite étudier. Afin de garantir ce facteur, il est conseillé que l'échantillonnage repose sur un tirage au sort. Dans notre cas, les sangs prélevés ne sont pas issus d'un tirage au sort puisque tous les prélèvements destinés à un hémogramme ont été analysés. Ainsi, nous ne pouvons pas certifier que les chiens de l'échantillon étudié soient représentatifs de la population canine française. Il a été choisi de ne pas réaliser ce tirage au sort pour un souci de taille d'échantillon qui, elle, conditionne la précision du résultat.

Afin de savoir si la précision est assurée, il suffit d'estimer la taille d'échantillon nécessaire pour l'estimation de la prévalence en fonction de la prévalence attendue et de la précision relative souhaitée. Dans notre cas, si nous estimons à 1% la prévalence attendue (celle trouvée en 2009), il aurait fallu 500 prélèvements de sang avec une précision relative calculée de 90% (50). Ainsi, notre résultat est peu précis et cela se reflète par l'intervalle de confiance associé qui est un peu étendu. Ce manque de précision n'altère en rien l'exactitude du résultat annoncé.

L'exactitude de la prévalence annoncée n'étant pas assurée, il nous est difficile d'interpréter ce résultat.

III-2) Moyens de l'étude

Initialement l'étude devait porter sur les quatre écoles nationales vétérinaires. 200 tests avaient été fournis à chaque école ce qui aurait fait un total de 800 tests. Cette taille d'échantillon nous aurait permis d'interpréter les résultats observés de façon significative. Malheureusement, l'école de Nantes n'a pu effectuer les tests ce qui biaise un peu les résultats à l'échelle nationale et tous les tests n'ont pas été effectués dans les 3 autres écoles. 322 tests ont été effectués au lieu des 800 attendus et ne nous permettent pas d'atteindre l'objectif souhaité pour cette étude.

III-3) Comparaison avec les données bibliographiques

La proportion de chiens positifs retenue suite à notre étude s'élève à 1,5% [0,1%;2,9%]_{95%}. Bien que les résultats ne soient pas significatifs, nous allons tenter de les comparer aux données présentées dans la bibliographie tout en restant conscients des limites de notre étude.

En 2009, une étude comparable effectuée en France a été publiée. Elle a consisté en l'évaluation de la prévalence des mêmes maladies vectorielles que notre étude avec les mêmes tests (SNAP 4Dx®) sur le sérum de 919 chiens. La prévalence ainsi estimée était de 1,1% [0,5%;2,0%]_{95%} (42). Si nous comparons cette valeur à celle que nous avons trouvée, nous remarquons qu'il n'y a pas de différence significative. Ainsi, ceci conforte les résultats observés.

Si nous nous intéressons maintenant à l'origine géographique, dix cas ont été diagnostiqués positifs dans les départements de l'Eure, de l'Eure-et-Loir, de Paris, du Val-de-Marne, des Hauts-de-Seine, d'Indre-et-Loire, de Meurthe-et-Moselle, du Bas-Rhin, de Haute-Savoie et des Alpes-Maritimes au cours de l'étude publiée en 2009. Ceci semble concorder avec notre étude puisque les cas retrouvés se trouvent principalement dans la moitié Nord de la France (8 cas sur 10 pour l'étude de 2009 et 4 cas sur 5 dans notre étude) et dans une moindre mesure dans le Sud-Est (2 cas sur 10 dans l'étude de 2009 et 1 cas sur 5 dans notre étude). Cette régionalisation semble tout à fait logique. En effet, *Ixodes ricinus* est une tique que l'on retrouve davantage dans les régions humides et boisées comme le montre la figure 7. Ainsi, bien que nos résultats ne soient pas valides, ils semblent tout de même se rapprocher de ceux observés lors de l'étude publiée en 2009 que ce soit d'un point de vue de l'estimation de la prévalence que de la localisation des positifs.

P. Bourdeau quant à lui l'avait estimée à 0,03-0,06 cas pour mille en 2008 selon les informations données par les cliniques vétérinaires elles-mêmes (42). L'incidence annuelle était alors estimée à 500 cas par an soit environ 200 fois moins que celle observée dans l'étude de 2009. La différence entre les estimations de Bourdeau et les deux autres valeurs précédentes peut s'expliquer par une sous-estimation de cette maladie qui est encore peu diagnostiquée chez les vétérinaires. Ceci est tout d'abord lié à une certaine méconnaissance de la maladie puisque très peu décrite chez le chien mais aussi à son expression clinique très peu fréquente et un tableau clinique fruste puisque seuls 5% des chiens manifestent cliniquement cette infection.

En Allemagne, une étude portant sur les mêmes tests d'immunomigration ont révélé une prévalence de 7,7% soit presque deux fois moins qu'en Suisse où la prévalence avait été évaluée à 15% sur des chiens de race autre que les Bouviers Bernois en 2007 (17, 27). Nous remarquons que la prévalence est nettement supérieure en Allemagne et en Suisse par rapport à la France. Ceci peut s'expliquer par le climat qui est plus adapté au développement et à la survie des tiques.

Concernant les races représentées, nous remarquons qu'au sein de notre étude 2 cas sur 5 (40%) sont des Bouviers Bernois. L'étude menée en Suisse en 2007 (17) a cherché à comparer la prévalence de *Borrelia burgdorferi* entre les Bouviers Bernois et les autres races de chiens par méthode ELISA et test d'immuno-empreinte. Elle a alors révélé une différence significative puisque 58% des chiens de race Bouviers Bernois se sont avérés positifs contre 15% seulement de chiens d'autre race. Cependant, le résultat de cette étude est discutable puisque la comparaison a porté sur 160 Bouviers Bernois et 62 chiens d'autre race. La surreprésentation des Bouviers Bernois peut en effet constituer un biais dans l'interprétation des résultats. Au cours de notre étude, les Bouviers Bernois étaient au nombre de 9. Cette race ne semble pas surreprésentée puisque nous comptons par exemple 44 chiens croisés, 14 Yorkshires, 10 Labradors. Ainsi, les résultats de notre étude semblent être en accord avec l'hypothèse que les Bouviers Bernois constituent une race possiblement prédisposée à l'infection par *Borrelia burgdorferi*.

En consultant plus précisément les dossiers des animaux séropositifs, nous avons recherché les raisons ayant motivé les analyses hématologiques et les avons recensées dans le tableau 22.

Tableau 22 : Tableau clinique des chiens séropositifs

Nom	Race	Âge	Motif de l'analyse hématologique	Diagnostic (si établi)
Bohème de Celius	Berger Allemand	4,5 ans	Vomissements, hyperthermie , abattement extrême	Pyomètre associé à une péritonite
Bosco	Beauceron	4 ans	Analyse sanguine avant la dernière séance de chimiothérapie sur un adénocarcinome jéjunal associé à des métastases ganglionnaires	Adénocarcinome jéjunal associé à des métastases ganglionnaires
Titus dit Deadle	Bouvier Bernois	2,5 ans	Adhérence leptoméningée ne rétrocedant pas au traitement corticoïde Analyse pré-opératoire	Adhérence leptoméningée
Toscane	Hovawart	9 ans	Vomissements, anorexie, abattement , hypertension artérielle pulmonaire	Adénocarcinome gastrique associé à des métastases lymphatiques
Boumougne	Bouvier Bernois	4 ans	Fort abattement , hématurie, dysorexie, hyperthermie , vomissements, déficit proprioceptif antérieur droit	

Nous remarquons que pour deux d'entre eux, l'analyse hématologique a été motivée par un acte chirurgical ou une chimiothérapie. Pour les trois autres cas (60%), la motivation reposait sur des critères cliniques. Parmi ceux-ci, nous retrouvons l'abattement. Ce symptôme ne fait pas directement partie du tableau clinique de la maladie de Lyme chez le chien comme décrit dans le postulat de Koch mais peut tout de même être inscrit dans le syndrome fébrile. Si nous comparons aux autres chiens de l'étude, ce symptôme est présent chez 123 d'entre eux sur 317 (39%). Du fait du faible effectif de notre échantillon, nous ne pouvons conclure quant à la différence entre ces deux groupes. Cependant, il semblerait que l'abattement constitue un marqueur pertinent de la maladie de Lyme. De plus, il est possible que sur les 123 chiens séronégatifs présentant un abattement, certains d'entre eux soient infectés par une autre souche de *Borrelia* non détectable par le test utilisé. En effet, ce test détecte les souches de *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* et *Borrelia afzelii* mais il n'a pas été prouvé qu'il détectait les autres souches rencontrées plus rarement comme *Borrelia valaisiana*, *Borrelia lusitaniae* et *Borrelia spielmanii*. Une autre explication possible serait que les chiens séropositifs aient été présentés en consultation pour d'autres pathologies associées à un tableau clinique plus marqué d'apparition aiguë (pyomètre, tumeur métastasée) et que l'infection à *Borrelia burgdorferi* soit asymptomatique. Cette seconde hypothèse est en accord avec la bibliographie qui indique que 95% des chiens séropositifs sont asymptomatiques.

Ainsi bien que nos résultats ne puissent pas être interprétables par souci d'effectif, nous remarquons qu'ils concordent avec différentes études bibliographiques sur plusieurs points : la valeur de la prévalence, la régionalisation des cas positifs et les races plus souvent représentées.

III-4) La Maladie de Lyme chez le chien : une maladie avérée ou recherchée ?

Quand la maladie de Lyme a été initialement décrite chez l'homme, elle a suscité un questionnement dans le domaine de la santé publique vétérinaire. En effet, il est logique de penser que le chien, plus sujet à être exposé aux tiques, présente plus de risque d'être infecté par cette bactérie. Cependant, la maladie de Lyme existe-t-elle vraiment chez le chien ou est-elle recherchée? Pourquoi n'est-il pas possible d'établir un tableau clinique de cette maladie après inoculation du spirochète expérimentalement? Deux hypothèses peuvent alors se poser : soit le caractère chronique de cette maladie explique que le tableau clinique soit fruste et très difficile à décrire. En effet, cela nécessiterait un suivi très long et très poussé. Soit, le chien est un porteur sain de ce spirochète et manifeste parfois des symptômes non pas à cause de *Borrelia burgdorferi* mais de coinfections ou d'autres pathogènes transmis par la même tique.

CONCLUSION

L'étude effectuée lors de ce travail de thèse de doctorat vétérinaire a cherché à évaluer la proportion de chiens possédant des anticorps anti-*Borrelia burgdorferi* à l'échelle nationale. La taille de l'échantillon inférieure à celle espérée diminue la précision avec laquelle est annoncée le résultat. De plus, le mode de sélection des prélèvements ne permet pas de garantir la représentativité de l'échantillon par rapport à la population canine nationale. Nous ne pouvons donc pas interpréter de façon certaine cette proportion. Cependant, elle est très proche de celle obtenue en 2009 au cours d'une étude similaire.

La maladie de Lyme canine est très difficile à décrire notamment sur le plan clinique et pathogénique. Est-ce dû au caractère chronique de cette maladie ou au contraire au fait que cette maladie n'ait pas d'existence réelle chez le chien ? Les signes cliniques observés sont-ils liés directement à *Borrelia burgdorferi* ou à des coinfections ou encore à d'autres pathogènes transmis par les tiques ?

Ces questions ainsi que l'absence de risque zoonotique rend la vaccination et le traitement préventif controversés. La recherche d'infection peut quant à elle rester intéressante puisque le chien constitue une sentinelle pour la maladie de Lyme humaine.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALBAN PS, JOHNSON PW, NELSON DR. Serum-Starvation-Induced Changes in Protein Synthesis and Morphology of *Borrelia burgdorferi*, *Microbiology*, 2000, **146**, 119-127.
2. BARANTON G, POSTIC D, SAINT GIRONS I, BOERLIN P, PIFFARETTI JC, ASSOUS M, GRIMONT PAD. Delineation of *Borrelia burgdorferi* Sensu Stricto, *Borrelia garinii* sp. nov, and Group VS461 Associated with Lyme Borreliosis, *International Journal of Systematic Bacteriology*, July 1992, **42**(3), 372-383.
3. BIOSTATGV. *Tests statistiques en ligne*. [en ligne]. Mise à jour le 10/12/2011. [<http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/>] (Consulté le 26/11/13).
4. BONO JL, ELIAS AF, KUPKO III JD, STEVENSON B, TILLY K, ROSA. P. Efficient targeted mutagenesis in *Borrelia burgdorferi*. *J Bacteriol.*, 2000, **182**, 2445-2452.
5. BOWMAN D, LITTLE SE, LORENTZEN L, SHIELDS J, SULLIVAN MP, CARLIN EP. Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States : Results of a national clinic-based serologic survey, *Veterinary Parasitology*, 2009, **160**, 138-148.
6. BRORSON O, BRORSON S H. A rapid method for generating cystic forms of *Borrelia burgdorferi*, and their reversal to mobile spirochetes, *APMIS*, 1998, **106**, 1131-1141.
7. BRORSON O, BRORSON S H. An in Vitro Study of the Susceptibility of Mobile and Cystic Forms of *Borrelia burgdorferi* to Tinidazole, *International Microbiology*, 2004, **7**, 139–142.
8. BUSSIERAS J, CHERMETTE R. Abrégé de Parasitologie vétérinaire. Fascicule IV. Entomologie Vétérinaire. Maisons-Alfort, Service de Parasitologie Ecole Nationale Vétérinaire, 1991, 163p.
9. CHOU J, WÜNSCHMANN A, HODZIC E, BORJESSON DL. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in Tissues from Dogs with Presumptive Lyme Borreliosis, *JAVMA*, Oct 2006, **229**(8), 1260-1265
10. CVBD. *Canine Vector-Borne Diseases*. [en ligne]. [www.cvbd.org/en/tick-borne-diseases/lyme-borreliosis/pathogens/] (Consulté le 28/03/13).
11. DEGEILH B. Données Fondamentales à la Base des Mesures Préventives, *Médecine et maladies infectieuses*, 2007, **37**, 360-367.
12. ESCCAP. *European Scientific Counsel Companion Animal Parasites*. [en ligne]. [www.esccap.fr] (Consulté le 10/04/13).

13. EUALB. *European Concerted Action On Lyme Borreliosis*. [en ligne]. [www.meduni09.edis.at/eualb/cms_15/index.php?option=com_content&view=article&id=53:tick-life-cycle&catid=57:biology-cat1&Itemid=87] (Consulté le 10/04/13).
14. FCI. *Fédération Cynologique Internationale*. [en ligne]. [www.fci.be/nomenclature.aspx] (Consulté le 10/04/13).
15. FRASER CM, CASJENS S, HUANG WM, SUTTON GG, CLAYTON R, LATHIGRA R *et al*. Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature*. 1997, **390**, 580-586.
16. GERBER B, EICHENBERGER S, HAUG K, WITTENBRINK MM, REUSCH CE. Association of Urine Protein Excretion and Infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Bernese Mountain Dogs, *The Veterinary Journal*, 2009, **182**, 487-488.
17. GERBER B, EICHENBERGER S, WITTENBRINK MM, REUSCH CE. Increased prevalence of *Borrelia burgdorferi* infections in Bernese Mountain dogs : a possible breed disposition. *BioMed Central Veterinary Research*. 2007, **3**, 15.
18. GERBER B, HAUG K, EICHENBERGER S, REUSCH C E, WITTENBRINK MM. Comparison of a Rapid Immunoassay for Antibodies to the C₆ Antigen with Conventional Tests for Antibodies to *Borrelia burgdorferi* in Dogs in Europe, *Veterinary Record*, 2009, **165**, 594-597.
19. GOLDSTEIN RE, CORDNER AP, SANDLER JL, BELLOHUSEN BA, ERB HN. Microalbuminuria and Comparaison of Serologic Testing for Exposure to *Borrelia burgdorferi* in Nonclinical Labrador and Golden Retrievers, *J Vet Diagn Invest*, 2007, **19**, 294-297
20. GOLDSTEIN SF, BUTTLE KF, CHARON NW. Structural analysis of *Leptospiraceae* and *Borrelia burgdorferi* using high voltage electron microscopy. *J. Bacteriol*. 1996, **178**, 6539-6545.
21. GOOSSENS HAT, VAN DEN BOGAARD AE, NOHLMANS MKE. Dogs as Sentinels for Human Lyme Borreliosis in The Netherlands. *J. Clin. Microbiol*. 2001, **39**(3), 844-848.
22. GREENE CE, STRAUBINGER RK. Borreliosis. In *Infectious Diseases of the Dog and the Cat*. 3rd ed. St. Louis, Saunders Elsevier, 2006, 1424 p.
23. HUTTON TA, GOLDSTEIN RE, NJAA BL, ATWATER DZ, CHANG YA, SIMPSON KW. Search for *Borrelia burgdorferi* in Kidneys of Dogs with Suspected « Lyme Nephritis », *J Vet Intern Med*, 2008, **22**, 860-865.
24. JOHNSON RC, SCHMID GP, HYDE FW, STEIGERWALT AG, BRENNER DJ. *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: Etiologic Agent of Lyme Disease. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1984, **34**(4), 496-497.

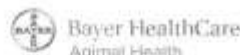
25. KERSTEN A, POITSCHKE C, RAUCH S, ABERER E. Effects of Penicillin, Ceftriaxone, and Doxycycline on Morphology of *Borrelia burgdorferi*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, May 1995, **39**(5), 1127-1133.
26. KRAICZY P, HARTMANN K, HELLWAGE J, SKERKA C, KIRSCHWINK M, BRADE V, ZIPFEL PF, WALLICH R, STEVENSON B. Immunological characterization of the complement regulator factor H-binding CRASP and Erp proteins of *Borrelia burgdorferi*. *Int J Med Microbiol*. 2004, **293**, 152-157.
27. KRUPKA I, PANTCHEV N, LORENTZEN L, WEISE M, STRAUBINGER RK. Tick-transmitted, bacterial infections in dogs : seroprevalences of *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Ehrlichia canis* in Germany. *Praktische Tierarzt*. 2007, **88**, 776-788.
28. LAFLEUR RL, CALLISTER SM, DANT JC, JOBE DA, LOVRICH SD, WARNER TF, WASMOEN TL, SCHELL RF. One-Year Duration of Immunity Induced by Vaccination with a Canine Lyme Disease Bacterin, *Clinical and Vaccine Immunology*, May 2010, **17**(5), 870-874.
29. LAFLEUR RL, DANT JC, WASMOEN TL, CALLISTER SM, JOBE DA, LOVRICH S D, WARNER TF, ABDELMAGID O, SCHELL RF. Bacterin That Induced Anti-OspA and Anti-OspC Borreliacidal Antibodies Provides a High Level of Protection against Canine Lyme Disease, *Clinical and Vaccine Immunology*, Feb 2009, **16**(2), 253-259.
30. LAMOURAUX C. La borréliose de Lyme chez le cheval. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2005.
31. LESCHNIK MW, KIRTZ G, KHANAKAH G, DUSCHER G, LEIDINGER E, THALHAMMER JG, JOACHIM A, STANEK G. Humoral Immune Response In Dogs Naturally Infected with *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato and in Dogs after Immunization with a *Borrelia* Vaccine, *Clinical and Vaccine Immunology*, May 2010, **17**(5), 828-835.
32. LEVY S, O'CONNOR TP, HANSCOM JL, SHIELDS P. Utility of an in-office C6 ELISA test for kit determination of infection status of dogs naturally exposed to *Borrelia burgdorferi*. *Veterinary Therapeutic*, 2002, **3**, 308-315.
33. LEVY SA, MAGNARELLI LA. Relationship between development of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs and the subsequent development of limb/joint borreliosis. *J Am Vet Med Assoc*. 1992, **200**, 344-347.
34. LEVY SA, O'CONNOR TP, HANSCOM JL, SHIELDS P, LORENTZEN L, DIMARCO AA. Quantitative Measurement of C₆ Antibody following Antibiotic Treatment of *Borrelia burgdorferi* Antibody-Positive Nonclinical Dogs, *Clinical and Vaccine Immunology*, Jan 2008, **15**(1), 115-119.
35. LI C, MOTALEB MA, SAL M, GOLDSTEIN SF, CHARON NW. Spirochete Periplasmic Flagella and Motility, *J. Mol. Microbiol. Biotechnol*, 2000, **2**(4), 345-354

36. LIANG FT, JACOBSON RH, STRAUBINGER RK, GROOTERS A, PHILIPP MT. Characterization of a *Borrelia burgdorferi* VlsE invariable region useful in canine Lyme disease serodiagnosis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000, **38**, 4160-4166.
37. LITTMAN MP, GOLDSTEIN RE, LABTO MA, LAPPIN MR, MOORE GE. ACVIM Small Animal Consensus Statement on Lyme Disease in Dogs : Diagnosis, Treatment, and Prevention, *J Vet Intern Med*, 2006, **20**, 422-434.
38. MANNELLI A, BERTOLOTTI L, GERN L, GRAY J. Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Europe : transmission dynamics in multi-host systems, influence of molecular processes and effects of climate change, *FEMS Microbiol Rev*, 2012, **36**, 837-861.
39. MARTINOT M. Bases Microbiologiques et Pharmacologiques du Traitement de la Borréliose de Lyme. Traitement et Suivi de la Phase Aiguë (érythème migrant), *Médecine et Maladies Infectieuses*, 2007, **37**, 394-409.
40. MURGIA R, PIAZZETTA C, CINCO M. Cystic Forms of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: Induction, Development, and the Role of RpoS, *Wien Klin Wochenschr*, 2002, **114**(13-14), 574-579.
41. O'CONNOR TP, ESTY KJ, HANSCOM JL, SHIELDS P, PHILIPP MT. Dogs Vaccinated with Common Lyme Disease Vaccines Do Not Respond to IR6, the Conserved Immunodominant Region of the VlsE Surface Protein of *Borrelia burgdorferi*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2004, **11**, 458-462.
42. PANTCHEV N, SCHAPER R, LIMOUSIN S, NORDEN N, WEISE M, LORENTZEN L. Occurrence of *Dirofilaria immitis* and Tick-Borne Infections Caused by *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia canis* in Domestic Dogs in France : Results of a Countrywide Serologic Survey, *Parasitol Res*, 2009, **105**, S101-S113.
43. RAGAGLI C, BERTOLOTTI L, GIACOBINI M, MANNELLI A, BISANZIO D, AMORE G, TOMASSONE L. Transmission dynamics of *Borrelia lusitaniae* and *Borrelia afzelii* among *Ixodes ricinus*, lizards, and mice in Tuscany, Central Italy. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 2011, **11**, 21-28.
44. REMY V, Place des Méthodes Biologiques dans le Diagnostic des Manifestations de la Borréliose de Lyme, *Médecine et maladies infectieuses*, 2007, **37**, 410-421.
45. ROSEY EL, KENNEDY MJ, YANCEY Jr RJ. Dual flaA1 flaB1 mutant of *Serpulina hyodysenteriae* expressing periplasmic flagella is severely attenuated in a murine model of swine dysentery. *Infect. Immun.*, 1996, **64**(10), 4154-4162.
46. SADZIENE A, THOMAS DD, BUNDOC VG, HOLT SC, BARBOUR AG. A flagella-less mutant of *Borrelia brgdorferi*. Structural, molecular, and in vitro functional characterization, *J. Clin. Invest.*, 1991, **88**(1), 82-92.

47. SAVEY M, DUFOUR B. Diversité des zoonoses. Définitions et conséquences pour la surveillance et la lutte. *Epidémiol. et santé anim.* 2004, **46**, 1-16.
48. SKOTARCZAK B, WODECKA B, RYMASZEWSKA A, SAWCZUK M, MACIEJEWSKA A, ADAMSKA M, HERMANOWSKA-SZPAKOWICZ T, SWIERZBINSKA R. Prevalence of DNA and Antibodies to *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in Dogs Suspected of Borreliosis, *Ann Agric Environ Med*, 2005, **12**, 199-205.
49. THEISEN M, BORRE M, MATHIESEN MJ, MIKKELSEN BO, LEBECH AM, HANSEN K. Evolution of the *Borrelia burgdorferi* Outer Surface Protein OspC, *Journal of Bacteriology*, June 1995, **177**(11), 3036-3044.
50. TOMA B, DUFOUR B, SANAA M, BENET JJ, SHAW A, MOUTOU F, LOUZA A. Épidémiologie Appliquée à la Lutte Collective contre les Maladies Animales Transmissibles Majeures. 2nd ed, Maisons-Alfort, Aeema, 2001, 696 p.
51. WAGNER B, FREER H, ROLLINS A, ERB HN. A fluorescent bead-based multiplex assay for the simultaneous detection of antibodies to *B. burgdorferi* outer surface proteins in canine serum, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2011, **140**, 190-198.
52. WODECKA B, RYMASZEWSKA A, SAWCZUK M, SKOTARCZAK. Detectability of Tick-Borne Agents DNA in the Blood of Dogs, Undergoing Treatment for Borreliosis, *AAEM*, 2009, **16**, 9-14.
53. WOLFRAM R. ZÜCKERT. Laboratory Maintenance of *Borrelia burgdorferi*. *Current Protocols in Microbiology*, 2007, 12C.1.1-12C.1.10

ANNEXE 1 : Fiche de renseignements

Etude Bayer Santé/ ENV- N° BHCFR025
Prévalence des maladies vectorielles canines



Identification du chien :

N° de cas

Site de recrutement :	☐ Alfort ☐ Lyon ☐ Nantes ☐ Toulouse
Nom du chien	
Code postal du propriétaire	
N° de dossier	
Date de la prise de sang (EDTA)	/ / (jjmmaa)

Critères d'inclusion pour test 4DX : Prise de sang (tube EDTA) faite sur chien P1 ou P2:		
Population	☐ P1 : Suspicion de maladie vectorielle & au moins 1 critère suivant rempli:	☐ P2 : Population témoin de chiens > 1 an avec
Hématologie	☐ Anémie (Hb < 12 g/dL) et/ou ☐ Thrombopénie (Num. Plaq. < 150 .10 ³ /mm ³) et/ou ☐ Neutropénie (PNN < 3.10 ³ /mm ³) et/ou ☐ Leucopénie (Leucocytes < 5.10 ³ /mm ³)	☐ Formule sanguine normale et/ou
Frottis sanguin	☐ Babesia ☐ Morula d'Anaplasma ☐ Autre :	☐ Présence d'une tique sur l'animal
Clinique	☐ Fièvre et/ou ☐ Abattement et/ou ☐ Boiterie / troubles locomoteurs et/ou ☐ Phénomènes algiques	

➡ Veuillez ensuite: Compléter les données qui suivent

Faire un test 4DX (sur le reste du prélèvement sanguin)

Anamnèse / informations concernant le chien			
(voir données Clovis ; notez ND= Non Disponible en l'absence de données):			
Race :			
Age :		Sexe :	☐ M ☐ F
Antécédents pathologiques ? si oui préciser ➡			
Lieu de vie habituel	☐ Région urbaine ☐ Campagne ☐ A l'intérieur exclusivement (sortie en laisse) ☐ A l'intérieur et dehors (ex jardin) ☐ Dehors la plupart du temps	Déplacements dans s'autres régions ? si oui Préciser où & quand : ➡	N° Département ou nom du pays :
Date et nom du dernier traitement antiparasitaire externe préventif :	Traité le	/ / (jjmmaa)	
Avec:			
Commentaire			

Examen clinique général (voir données Clovis ; notez ND= Non Disponible en l'absence de données):	
Température rectale	/ °C Poids (kg)
Peau	☐ Aspect normal ☐ Lésions (ex. pyodermite) ➡ Présence de ☐ tiques ☐ Puces ☐ Autre:
Appareil cardiovasculaire	☐ Normal ☐ Anormal (Ex. rythme, souffle...) ➡
Appareil pulmonaire	☐ Normal ☐ Anormal ➡
Appareil digestif	☐ Normal ☐ Anormal (ex. diarrhée, autre, ...) ➡
Appareil locomoteur	☐ Normal ☐ Anormal (ex. douleur, trouble articulaire,...) ➡
Comportement	☐ Normal ☐ Anormal (ex. Abattement...) ➡
Autre / commentaire	

Tél. Moniteur : 01.49.06.57.72 / 06 20 60 80 71

Fax. Moniteur : 01.49.06.58.48

Contacts: christophe.lesueur@bayer.com , sandy.limousin@bayer.com

Page 1 / 2

Etude Bayer Santé/ ENV- N° BHCFR025
Prévalence des maladies vectorielles canines



Identification du chien :

N° de cas

Examens complémentaires :

Frottis sanguin : ☐ Non effectué ☐ Effectué ; compléter SVP

☐ Frottis normal ☐ Anomalie visible

☐ Babesia ☐ Sphérocytose notable
☐ Morula d'Anaplasma
☐ Autre :

Analyse hématologique : indispensable ; compléter SVP

Paramètres	Mesure	V.U.	Unités
Erythrocytes		5,5-8,5	millions/mm ³
Hémoglobine		12-18	g/100 ml
Hématocrite		37-55	%
Volume globulaire moyen (VGM)		66-77	fl
CCMH (Conc Moyen en Hg)		20-25	µg/globule
Réticulocytes		0,1-1,5	% des érythrocytes
Leucocytes		6-18	10 ³ /ml (leucopénie si <5.10 ³ /mm ³)
Neutrophiles		60-75	% (neutropénie si <3.10 ³ /mm ³)
Eosinophiles		2-6	%
Lymphocytes		12-30	%
Monocytes		3-10	%
Numération plaquettaire		150-400	10 ³ /mm ³

Biochimie sanguine : ☐ Non effectuée ☐ Effectuée ; compléter SVP

Paramètres	Mesure	V.U.	Unités
ALAT		< 30	UI/l
Phosphatase alcaline (PAL)		30-120	UI/l
Bilirubine totale		1-6	mg/100ml
Créatinine		10-20	mg/l
Urée		0,2-0,5	g/l
Glucose		0,7-1,1	g/l
Protéines totales		54-71	g/l
Albumine		23-32	g/l
Globulines		27-44	g/l
Fer		90-120	µg/100 ml

Autres analyses : ☐ Non effectuées ☐ Effectuées ; compléter SVP

Test de Coombs direct

☐ Positif ☐ Négatif

Auto-agglutination persistante en milieu salin

☐ Présence ☐ Absence ou non constatée

Résultat du test 4DX :

Anaplasma	☐ Positif ☐ Négatif	Ehrlichia	☐ Positif ☐ Négatif
Borrelia	☐ Positif ☐ Négatif	Dirofilaria	☐ Positif ☐ Négatif
Commentaire/ conclusion:			

Nom/ Signature de la personne ayant rempli la fiche :

Date :

____/____/____ (jjmmaa)

Tél. Moniteur : 01.49.06.57.72 / 06 20 60 80 71

Fax. Moniteur : 01.49.06.58.48

Contacts: christophe.lesueur@bayer.com , sandy.limousin@bayer.com

Page 2 /2

ANNEXE 2 : Races recensées au cours de l'étude

GROUPE 1 : Chiens de berger et de bouviers	57
Section 1 : Chiens de berger	57
Bearded Collie	3
Berger	2
Berger Allemand	12
Berger Australien	3
Berger Belge Malinois	10
Berger Belge Tervuren	1
Berger Blanc Suisse	2
Berger de Beauce	5
Berger des Pyrénées	5
Berger Polonais de Plaine	1
Bobtail	1
Border Collie	7
Colley	3
Drever	1
Schapendoes	1
GROUPE 10 : Lévrier	1
Section 3 : Lévrier à poils courts	1
Whippet	1
GROUPE 2 : Chiens de type Pinscher et Schnauzer - Molossoïdes - Chiens de Montagne et de Bouvier Suisses	54
Section 1: Type Pinscher et Schnauzer	13
Doberman	11
Pinsher	2
Section 2 : Molossoïdes	32
Aidi	1
Bouledogue Anglais	2
Boxer	3
Bullmastiff	1
Cane Corso	2
Dogue Allemand	3
Dogue Argentin	5
Hovawart	1
Leonberg	3
Rottweiler	4
Saint Bernard	1
Shar Pei	3
Terre Neuve	3
Section 3 : Chien de montagne et de bouvier suisses	9

Bouvier Bernois	9
GROUPE 3 : Terriers	39
Section 1 : Terriers de grande et moyenne taille	9
Airedale Terrier	1
Fox Terrier	2
Jack Russel Terrier	6
Section 2 : Terriers de petite taille	8
Cairn Terrier	2
Scottish Terrier	2
West Highland White Terrier	4
Section 3 : Terriers de type bull	8
American Staffordshire Terrier	4
Bull Terrier	3
Staffordshire Bull Terrier	1
Section 4 : Terriers d'agrément	14
Yorkshire Terrier	14
GROUPE 4: Teckels	4
Section 1 : Dachshunds	4
Teckel	4
GROUPE 5 : Chiens de Type Spitz et de Type Primitif	1
Section 5 : Spitz asiatiques et races apparentées	1
Akita Inu	1
GROUPE 6 : Chiens Courants, Chiens de Recherche au Sang et Races Apparentées	7
Section 1 : Chiens courants	5
Beagle	4
Petit Bleu de Gascogne	1
Section 3 : Races apparentées	2
Dalmatien	2
GROUPE 7 : Chiens d'Arrêt	16
Section 1 : Chiens d'arrêt continentaux	15
Braque Allemand	3
Braque De Weimar	3
Braque Hongrois	1
Epagneul Breton	6
Griffon	2
Section 2 : Chiens d'arrêt britanniques et irlandais	1
Setter Anglais	1
GROUPE 8 : Chiens Rapporteurs de Gibier - Chiens Leveurs de Gibier - Chiens d'Eau	45
Section 1 : Rapporteurs de gibier	29

Golden Retriever	10
Labrador	19
Section 2 : Chiens leveurs de gibier et broussailleurs	16
Cocker	15
Springer Spaniel	1
GROUPE 9 : Chiens d'Agrément et de Compagnie	43
Ratier	1
Ratier	1
Section 1 : Bichons et apparentés	13
Bichon	11
Coton de Tulear	2
Section 11 : Molossoïdes de petit format	11
Boston Terrier	1
Bouledogue Français	8
Carlin	2
Section 2 : Caniche	5
Caniche	5
Section 5 : Chiens du Tibet	7
Lhasa Apso	3
Shih Tzu	4
Section 7 : Epagneuls anglais d'agrément	4
Cavalier King Charles	4
Section 8 : Epagneul japonais et pékinois	2
Pékinois	2
Autres	56
Autres	56
chien de chasse	9
Croisé	44
ND	3
Total	323

ENQUÊTE NATIONALE SUR LA MALADIE DE LYME CHEZ LE CHIEN

NOM et Prénom : TROUDE Lindsay

Résumé

La maladie de Lyme, décrite pour la première fois en 1975, est une pathologie bien connue chez les humains notamment par sa forme clinique caractéristique, l'érythème migrant. Elle est due à une bactérie transmise par les tiques et touche également d'autres espèces notamment le Chien. Cependant, sa manifestation clinique plus fruste fait d'elle une maladie peu connue dans l'espèce canine. Cette thèse a été rédigée dans le but de présenter de manière détaillée la maladie de Lyme chez le chien et d'en actualiser les données de prévalence à l'échelle nationale.

Pour ce faire, le sang de 322 chiens recueilli au sein des laboratoires d'hématologie de trois écoles vétérinaires françaises a été testé avec le test 4Dx® (IDEXX) permettant la mise en évidence d'anticorps dirigés contre *Borrelia burgdorferi*, bactérie à l'origine de la borréliose de Lyme. Le mode de sélection de l'échantillon ne permet pas d'interpréter les résultats obtenus avec certitude. Cependant, la prévalence de 1,5% [0,1%;2,9%]_{95%} observée à l'issue de cette étude est très proche de résultats obtenus en 2009 (1,1% [0,5%;2,0%]_{95%}). L'analyse de la répartition géographique des cas ainsi que des races représentées est également en accord avec les données bibliographiques ultérieures et laisse à penser que la borréliose de Lyme se retrouve davantage dans les zones humides et boisées, zones propices à la survie des tiques, et que les bouviers bernois constituent une race plus sensible à l'infection. La description très difficile de cette maladie aussi bien sur le plan clinique que pathogénique ainsi que l'absence de risque zoonotique associé rendent la vaccination et le traitement préventif controversés. La recherche d'infection peut quant à elle rester intéressante puisque le chien constitue une sentinelle pour la maladie de Lyme humaine.

Mots clés :

MALADIE DE LYME / BORRELIOSE / *BORRELIA BURGDORFERI* / TIQUE / *IXODES RICINUS* / DIAGNOSTIC / SEROPRÉVALENCE / ENQUÊTE ÉPIDÉMIOLOGIQUE / RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE / ANIMAUX SENTINELLES / RACE CANINE / CARNIVORE / CHIEN / BOUVIER BERNOIS

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Pr. Henri-Jean BOULOUIS

Assesseur : Pr. Jacques GUILLOT

NATIONAL SURVEY OF LYME DISEASE IN DOGS

SURNAME: TROUDE Lindsay

Abstract

The Lyme disease, which was described for the first time in 1975, is a well known disease in humans because of its typical clinical sign of erythema migrans. The bacteria (*Borrelia burgdorferi*) responsible for this disease is transmitted by ticks. It also affects other species such as dogs. The objective of the present thesis was to provide a detailed description of the Lyme disease in dogs and to update national prevalence data.

For that purpose, blood samples from 322 dogs were collected in the hematology laboratories of three French veterinary Colleges and further tested with 4Dx® (IDEXX) test which detects antibodies against *Borrelia burgdorferi*.

The selection method was not appropriate to interpret the results with certainty. Nevertheless, the prevalence of 1.5% [0.1% 2.9%] 95% observed at the end of the present study was very close to the results obtained in another survey in 2009 (1.1% [0.5% 2.0%] 95%). The analysis of the geographical distribution of the cases as well as breeds represented are also in accordance with previous bibliographic data and let us suppose that Lyme disease could be associated with forest areas and wetlands. Indeed, these areas are favorable for tick survival, and the Bernese mountain constitutes a breed more prone to the infection.

The difficulty of description of the Lyme disease regarding clinical and pathogenical aspects as well as the absence of zoonotic risks make preventive treatment controversial. The infection researches could remain relevant since dogs constitute sentinels to human Lyme disease.

Keywords

LYME DISEASE/ BORRELIOSIS/ *BORRELIA BURGDORFERI* / TICK / *IXODES RICINUS* / DIAGNOSIS / SEROPREVALENCE / EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATION / GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION / SENTINEL ANIMALS / CANINE / CARNIVOROUS / DOG / BERNESE MOUNTAIN DOG

Jury

President: Pr.

Director: Pr. Henri-Jean BOULOUIS

Assessor: Pr. Jacques GUILLOT