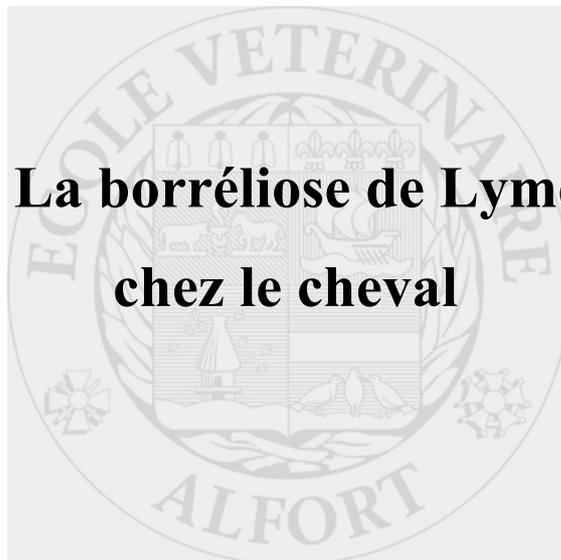


Année 2005



**La borréliose de Lyme  
chez le cheval**

THESE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

le.....

par

**Cécile LAMOURAUX**

Née le 23 février 1976 à Limoges (Haute-Vienne)

JURY

**Président : M.**

**Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL**

**Membres**

**Directeur : M. Jean-Marie DENOIX**

**Professeur à l'ENVA**

**Assesseur : M. Renaud MAILLARD**

**Maître de conférences à l'ENVA**

## SOMMAIRE

	Pages:
Table des illustrations	5
Introduction	6
I- Qu'est ce que "La Borréliose de Lyme"?	7
A- Une nouvelle maladie?	7
B- <i>Borrelia burgdorferi</i> : la bactérie	8
1- Taxonomie	8
2- Morphologie	10
3- Structure	10
a- Structure générale	10
b- Structure antigénique	12
4- Culture et métabolisme	14
5- Génétique	15
II- Epidémiologie de la maladie de Lyme	17
A- Epidémiologie descriptive	17
1- Espèces infectées	17
2- Répartition géographique	17
a- En Amérique du Nord	17
b- En Europe	18
c- Autres continents	18
3- Importance	18
a- Chez l'Homme	19
b- Chez le cheval	20
4- Variation saisonnière	21
B- Les modes de transmission de <i>Borrelia burgdorferi</i>	22
1- Transmission vectorielle	22
a- Morphologie	23
b- Biologie	24
c- L'activité saisonnière des principaux vecteurs	26
d- L'habitat des tiques	26
e- Les rapports Tique-Borrelia	26
f- Les réservoirs	28
g- Les facteurs de risque	29
2- Transmission directe	30

III- Aspects cliniques de la borréiose de Lyme	31
A- Chez l'Homme	31
1- La phase primaire	31
2- La phase secondaire	32
a- Les manifestations générales	32
b- Les atteintes cutanées	32
c- Les atteintes rhumatologiques	33
d- Les atteintes cardiaques	33
e- Les manifestations neurologiques	34
f- Autres atteintes diverses	35
3- La phase tertiaire	35
a- Signes neurologiques	35
b- L'Acrodermatite chronique atrophiante	36
c- Manifestations articulaires	32
4- Le Syndrome Post-Lyme	37
B- Chez le cheval	38
1- Temps d'incubation	38
2- Symptômes et signes cliniques	38
a- Manifestations générales	39
b- Manifestations articulaires	39
c- Manifestations neurologiques	42
d- Manifestations oculaires	43
e- Manifestations cutanées	45
f- Manifestations cardiaques	45
g- Troubles de la reproduction	45
3- Pronostic	46
4- Lésions	46
IV- Pathogénie	47
A- Pouvoir pathogène expérimental	47
B- Pouvoir pathogène naturel	49
1- Colonisation du vecteur	49
2- Le passage du vecteur à l'hôte	51
3- Colonisation de l'hôte	52
4- Echappement à la réponse immunitaire	53
a- Variation antigénique	53
b- Immunomodulation	54
c- Mécanismes divers	54
5- Mécanismes auto-immuns	55
6- Pouvoir toxique	55

V- Diagnostic de la borréliose de Lyme	56
A- Mesures de sécurité dans les laboratoires et prélèvements	57
1- Mesures de sécurité	57
2- Collecte de prélèvements	57
a- Prélèvements bactériologiques	57
b- Prélèvements pour la sérologie	58
B- Signes biologiques et histologiques non spécifiques	58
1- Analyse sanguine	58
2- Analyse du liquide céphalo-rachidien	59
3- Analyse du liquide synovial	59
4- Histologie	59
C- Diagnostic biologique spécifique	60
1- Méthodes directes	60
a- Examen direct	60
b- Culture	62
c- La polymérase Chain Reaction (PCR)	63
2- Diagnostic indirect	64
a- Techniques sérologiques	65
b- Définitions ds qualités d'une méthode de sérologie	68
c- Les réactions croisées	69
D- Diagnostic différentiel	70
1- Chez l'Homme	70
2- Chez le cheval	70
E- Diagnostic épidémiologique chez le cheval	72
F- Diagnostic thérapeutique	72
VI- Traitement	73
A- Bases rationnelles du traitement de la maladie de Lyme	73
1- Les $\beta$ -lactames	77
2- Les macrolides	77
3- Les tétracyclines	78
B- Attitude clinique	79
1- Chez l'Homme	79
2- Chez le cheval	81
VII- Prophylaxie	83
A- Prophylaxie médicale	83
1- La vaccination	83
a- Chez l'Homme	83
b- Chez le cheval	84
2- L'antibiothérapie prophylactique	85
	86

B- Propylaxie sanitaire	
1- Lutte contre les vecteurs	86
2- Les répulsifs	86
a- Antiparasitaires traditionnels	87
b- Antiparasitaires modernes	87
3- L'inspection visuelle	87
Conclusion	89
Bibliographie	90

## Table des illustrations

	Pages:
Figure 1	Arbre phylogénique de <i>Borrelia</i> 3
Figure 2	Morphologie d'un spirochète 5
Figure 3	Représentation schématique d'une coupe transversale d'un spirochète en microscopie électronique 7
Figure 4	Incidence régionale annuelle de la maladie de Lyme (en cas pour 100000 habitants et par an) - Période 1999-2000 14
Figure 5	Saison de contamination de la borréliose de Lyme chez 90 cas humains 16
Figure 6	<i>Ixodes ricinus</i> 17
Figure 7	Gnathosome d'une tique au microscope électronique 18
Figure 8	Cycle d' <i>Ixodes ricinus</i> et transmission de <i>B.burgdorferi</i> 19
Figure 9	<i>Ixodes dammini</i> 20
Figure 10	Erythème migrant consécutif à une morsure de tique 26
Figure 11	Radiographie profil du carpe droit montrant les ostéophytes 35
Figure 12	Distension au niveau de l'articulation métacarpo-phalagienne 36
Figure 13	Jument présentant un blépharospasme, photophobie et un épiphora 39
Figure 14	Pièce de dissection de la dure-mère: Nodules méningés 42
Figure 15	Mécanismes de défenses de l'organisme mis en jeu lors de l'infection par le spirochète 44
Figure 16	Expression des protéines de surface de <i>B.burgdorferi</i> lors de l'infection de l'hôte 46
Figure 17	Coupe histologique de la membrane synoviale du carpe d'une ponette 55
Figure 18	<i>Borrelia burgdorferi</i> par immunofluorescence 56
Figure 19	Résultats de Western Blot chez l'homme 62
Figure 20	Crochets Tire-Tic® 83
Tableau I	Activités des principales classes d'antibiotiques vis-à-vis de <i>B.burgdorferi</i> 69
Tableau II	Propriétés pharmacocinétiques des antibiotiques recommandés 70
Tableau III	Sites d'action préférentiels des antibiotiques utilisés 71



## Introduction :

Lyme, une petite ville de l'état du Connecticut aux Etats-Unis d'Amérique, est célèbre depuis 1975, non pas pour ses attractions touristiques, mais pour la première description dans ce pays d'un syndrome clinique connu, au moins en partie, en Europe depuis le début de ce siècle, à savoir un érythème chronique migrant (*erythema chronicum migrans*) accompagné de signes cliniques généraux de type grippal et suivi d'épisodes d'arthrites récidivantes, de troubles nerveux et de séquelles éventuelles et que les médecins dénommèrent « la maladie de Lyme ».

Cette maladie est caractérisée par son extrême diversité à la fois génétique, épidémiologique, clinique et diagnostique. Des progrès considérables ont été effectués dans la connaissance de cette maladie aux multiples facettes.

La borréliose de Lyme est une maladie infectieuse multi-systémique occasionnée par un spirochète, *Borrelia burgdorferi*. C'est une zoonose présente dans toutes les régions tempérées du globe transmise à l'homme à partir d'un réservoir sauvage ou domestique par l'intermédiaire d'arthropode vecteur. Elle apparaît maintenant comme la maladie à vecteur la plus importante en Europe et aux Etats-Unis.

Complètement ignorée il y a encore quelques années, la maladie de Lyme apparaît comme une préoccupation médicale majeure chez l'homme, tant par l'évolution croissante du nombre de cas que par la gravité des séquelles, mais plus encore par sa pathogénie complexe qui rend son diagnostic délicat et sa prévention difficile.

Chez le cheval, cette affection est certainement sous diagnostiquée particulièrement en Europe, car souvent méconnue. La majorité des références bibliographiques de la maladie de Lyme chez le cheval proviennent des Etats-Unis où le premier cas a été diagnostiqué. Par comparaison, la description de la maladie chez l'homme compte plusieurs milliers de publications.

Cette étude bibliographique suit un plan classique qui permettra de mieux connaître la maladie de Lyme chez le cheval. Après avoir abordé quelques généralités, l'étude se portera sur l'agent étiologique responsable de cette maladie : *Borrelia burgdorferi* mais aussi son épidémiologie, ses aspects cliniques chez l'homme et le cheval, et sa pathogénie. Puis nous détaillerons les différentes possibilités de diagnostic disponibles à l'heure actuelle.

Le traitement et sa prévention cloront cette étude de la maladie de Lyme chez le cheval. Nous découvrirons ainsi les différentes méthodes et produits mis à notre disposition pour mieux protéger nos chevaux.



## I – Qu'est ce que « La Borréliose de Lyme » ?

### A- Une nouvelle maladie ?

Les premières descriptions en Europe, datent de la fin du XIX<sup>ème</sup> - début XX<sup>ème</sup> siècle (137). En 1909, Afzelius, un dermatologue suédois, décrit une lésion cutanée qu'il nomme *erythema chronicum migrans* (ECM), consécutive à une piqûre de tique. En France, dès 1922, Garin et Bujadoux décrivent des troubles neurologiques faisant suite à un ECM.

En 1955, Binder démontre que l'ECM est dû à un agent infectieux, sensible à la pénicilline, transmis par la tique *Ixodes ricinus*.

En 1976, l'apparition d'une épidémie d'arthrites, en particulier infantile, dans la région de Lyme (U.S.A.) permet à Steere et al. (153) d'entreprendre une enquête épidémiologique à ce sujet. On s'aperçoit alors que les « arthrites de Lyme » n'étaient qu'un des aspects d'une maladie plus complexe, débutant par l'érythème chronique migrateur décrit par Afzelius et pouvant atteindre le système nerveux, les articulations et même le cœur. C'est en 1977 que fut regroupé sous le nom de «maladie de Lyme» un ensemble des symptômes cliniques chez l'homme.

Il est intéressant de souligner que si la description américaine est survenue plus d'un demi-siècle après les observations européennes, il semble bien que l'infection n'ait pas existé avant les années 60 aux Etats-Unis ; un certain nombre d'auteurs distingue, dans la clinique, la forme américaine de la forme européenne.

En 1982, Burgdorfer et al. (26) isolent et identifient un spirochète comme étant l'agent causal. L'isolement est réalisé à partir d'intestins de tiques *Ixodes dammini* et de patients humains. Ce spirochète est alors assimilé à une *Borrelia* et dénommé *Borrelia burgdorferi* en hommage à Burgdorfer (87).

Si la maladie de Lyme est maintenant bien connue en médecine humaine, ce n'est qu'au cours de ces dernières années, que des travaux décrivent cette infection chez les animaux domestiques et sauvages.

La première description clinique et la confirmation post mortem de la maladie de Lyme chez le cheval, ont été réalisées par Burgess et al., en 1986 (32). Une étude sérologique, menée en Nouvelle Angleterre, fait état de la découverte d'anticorps dirigés contre *Borrelia burgdorferi* chez le cheval dès 1982 (114).

Ce n'est qu'au cours de ces dernières années que des travaux décrivent un modèle expérimental équin (39).

## B- *Borrelia burgdorferi* : la bactérie.

### 1- Taxonomie :

L'agent étiologique de la maladie de Lyme, *Borrelia burgdorferi*, est une bactérie schizomycète appartenant à l'ordre des *Spirochaetales*, à la famille des *Spirochaetaceae* et au genre *Borrelia*. (Figure 1)

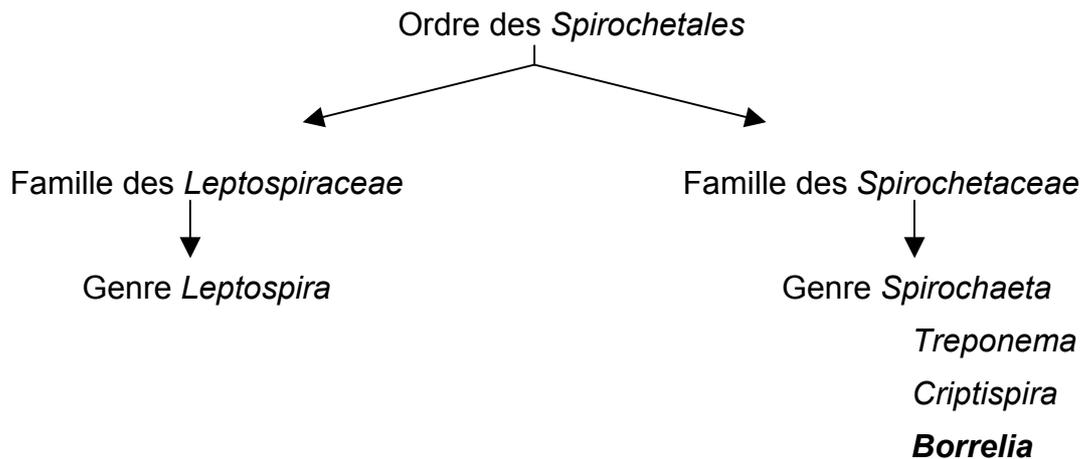


Figure 1: Arbre phylogénique de *Borrelia*

La taxonomie des *Borrelia* associés à la maladie de Lyme a profondément évolué depuis ces dix dernières années, contrairement à celles associées aux fièvres récurrentes. En effet, depuis la découverte de l'agent supposé unique *Borrelia burgdorferi*, onze espèces ont pu être identifiées, qui se rapprochaient du spirochète découvert par Burgdorfer.

La première souche découverte aux Etats-Unis a donc pris la dénomination *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, et les autres souches ont été incluses dans le complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato*.

La proximité génomique est estimée par le pourcentage d'hybridation des ADN et la stabilité thermique des hybrides. Deux souches appartiennent à une même espèce si le pourcentage d'homologie est supérieur à 70% et si les ADN conservent leur stabilité :  $\Delta T_m < 5\%$ .

Les espèces peuvent être distinguées par différentes méthodes comme la ribotypie, l'amplification génique utilisant des amorces spécifiques d'espèce, l'analyse des profils de macrorestriction après électrophorèse en champ pulsé, l'analyse des séquences du gène codant l'ARNr 16S (*rrs*), l'électrophorèse d'enzymes métaboliques ou un système d'amplification génique utilisant des amorces choisies au hasard (AP-PCR) (128).

La structure génomique de *B. burgdorferi sensu lato* est originale de par la présence d'un chromosome linéaire, ce qui est exceptionnel chez les procaryotes. Le contenu en guanine-cytosine est de 32%. De nombreux plasmides ont été identifiés participant à la variabilité des souches borréliennes, par exemple l'expression des protéines de surface Osp qui varie en fonction de la localisation géographique. Ceci expliquerait également le polymorphisme clinique de la maladie en fonction des pays et la difficulté rencontrée pour le diagnostic et la prophylaxie vaccinale (2).

Parmi les différentes souches de *B. burgdorferi*, une grande variabilité est observée concernant la protéine OspC, révélatrice de la pathogénicité des souches (11). Certains plasmides sont également liés au caractère infectieux, comme lp25, lp28-1 par exemple (130).

Les manifestations parfois bien distinctes de la maladie chez certains patients (cutanées, neurologiques ou articulaires) ainsi que la ségrégation géographique de certaines atteintes (articulaires aux Etats-Unis, neurologiques surtout en Europe, acrodermatite chronique atrophiante essentiellement en Europe) ont poussé les scientifiques à chercher une association clinique avec les différentes espèces constituant *B. burgdorferi sensu lato* (6,128).

Seules trois espèces sont pathogènes : *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* et le groupe VS 461. Plus tard, le groupe VS 461 fut baptisé *B. afzelii* (34). Une dizaine d'espèces de *Borrelia* ont été identifiées dont *B. japonica* (90), *B. andersonii*, *B. valaisiana*, *B. lusitaniae* (127) et *B. bissetii* (129). Ces dernières n'ont pas été isolées chez l'homme jusqu'à présent. D'autres groupes génomiques n'ont pas encore de dénomination officielle.

Les affections cutanées du type *erythema migrans* peuvent être dues aux trois principales espèces pathogènes *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* ou *B. afzelii*. En Alsace, une étude récente montre que *B. garinii* et *B. afzelii* sont les espèces prédominantes dans les lésions d'érythème migrant (128).

Par contre, le lymphocytome cutané bénin et l'acrodermatite chronique atrophiante sont presque exclusivement rencontrés lors d'infection par *B. afzelii*. Géographiquement, ce groupe prédomine en Europe du Nord (Allemagne et plus particulièrement en Scandinavie) (7).

Les problèmes neurologiques résultent principalement d'infections par *B. garinii*. *Borrelia garinii* a été isolée en France et également à partir d'une tique au Japon et en Europe où elle sévit (128).

Les arthrites sont plutôt le fait de *B. burgdorferi sensu stricto*. Sur le plan géographique, *B. burgdorferi sensu stricto* semble la seule *Borrelia* présente aux Etats-Unis mais également en Europe de l'Ouest et du Sud (7).

On peut cependant retrouver *B. afzelii* par exemple dans des prélèvements de synovie sur des arthrites (100).

Ces spécificités d'espèces ne sont pas à ce jour expliquées mais le tropisme pourrait résulter de l'attachement des *Borrelia* à certains glycosaminoglycane caractéristiques de différents types de cellules (148).

## 2- Morphologie :

Les spirochètes en général sont des bactéries minces, mobiles, ondulées et hélicoïdales. La mobilité est en grande partie due à la présence de flagelles fixés aux deux extrémités de la bactérie et qui remontent le long du corps bactérien pour se terminer approximativement à hauteur du milieu de la bactérie. Ces flagelles ne sont pas libres dans le milieu extérieur mais se retrouvent localisés dans l'espace périplasmique entre la membrane externe et le peptidoglycane (63,128,131).

Les membres du genre *Borrelia* mesurent entre 4 à 30  $\mu\text{m}$  de long et 0,2 à 0,5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Ils forment de 4 à 8 tours d'hélice assez larges et possèdent de 7 à 30 flagelles périplasmiques dont les extrémités libres se chevauchent au centre du corps bactérien. Le chromosome est linéaire, ce qui est une exception dans le monde bactérien. Des plasmides linéaires ou circulaires peuvent aussi être présents (28,131).

*Borrelia burgdorferi* est visible au microscope optique après coloration par des colorants à base d'aniline, par coloration de Vago ou après imprégnation argentique (63).

Au microscope à contraste de phase ou de façon plus aisée au microscope à fond noir, elle est observable à l'examen direct.

*Borrelia burgdorferi* est l'une des quatre espèces du genre d'intérêt médical et vétérinaire.

## 3- Structure :

### a- Structure générale :

Structurellement, *Borrelia burgdorferi* est similaire aux autres spirochètes. De l'extérieur vers l'intérieur on trouve une couche amorphe, l'enveloppe externe, l'appareil locomoteur et le cylindre protoplasmique (63). (Figure 2 et 3)



Figure 2 : Morphologie d'un spirochète (131).

La ligne discontinue représente l'enveloppe externe. La ligne continue délimite le cylindre protoplasmique. Les flagelles sont entourés autour du corps cellulaire, avec un corpuscule basal à chaque extrémité.

**La couche amorphe**, formée d'hydrates de carbone, peut être perdue par simple lavage en tampon P.B.S. Son origine est inconnue, elle correspond soit à une production bactérienne, soit à une accumulation de substances exogènes (63).

**L'enveloppe externe**, formée de plusieurs couches, a une structure proche de celle des bactéries à Gram négatif. Elle peut être isolée après traitement par le dodécyl sulfate de sodium et représente alors 16,5 % du poids sec de la bactérie. Elle est composée à 49,9 % de protéines, 50,75 % de lipides et 3,33 % d'hydrates de carbone (45).

Des protéines majeures ayant un rôle antigénique et immunogène sont associées à l'enveloppe externe. On les appelle Osp (Outer Surface Protein), les principales étant OspA et OspB. D'autres présentent un intérêt également pour expliquer la pathogénie et pour le diagnostic (OspC par exemple) (63).

Des recherches ont été menées pour trouver l'existence d'un lipopolysaccharide, afin de comprendre les réactions de Jarish-Herxheimer (exacerbation des troubles et signes cliniques quelques heures après le début du traitement) parfois observées chez les malades après une prise d'antibiotiques. L'enveloppe externe, si elle est proche de celle des bactéries Gram négatif, ne présente pas de lipopolysaccharide (LPS) des entérobactéries à l'origine de chocs endotoxiniques mais une substance proche qualifiée de «LPS like» douée de propriétés biologiques proches des endotoxines (63).

**L'appareil locomoteur** est recouvert par l'enveloppe externe parallèle à l'axe longitudinal de la cellule. Il est constitué de flagelles qui ressemblent par leur constitution chimique à ceux des autres bactéries mais qui diffèrent de ceux des tréponèmes par l'absence d'une enveloppe (63).

Les flagelles s'insèrent à chaque extrémité de la bactérie sur un corpuscule basal et ils cheminent entre le cylindre protoplasmique et l'enveloppe externe en direction de l'autre extrémité si bien qu'ils se chevauchent au centre de la cellule. Leur nombre varie selon les souches. Il peut être au total de 14, 16 ou 22 flagelles. Les souches à 22 flagelles sont rencontrées aussi bien en Europe qu'en Afrique. Les souches à 14 flagelles semblent spécifiques du continent américain et celle de 16 flagelles spécifiques de l'Europe (63).

Les flagelles sont constitués de l'assemblage d'un polypeptide comportant 336 acides aminés et d'un poids moléculaire de 41 kD : la flagelline (P41). Cette protéine P41 a une activité antigénique et immunogénique importante (87). Elle est commune à toutes les espèces de *Borrelia burgdorferi* (10).

Les flagelles réagissent avec l'anticorps monoclonal H604, et présentent de nombreuses réactions croisées avec d'autres antigènes ou des cellules neuronales humaines (149).

**Le cylindre protoplasmique** est limité par une membrane pariéto-cytoplasmique ; il est constitué de la membrane cytoplasmique à laquelle est associé sur sa face externe un peptidoglycane qui confère à la bactérie une certaine rigidité (14). Le cylindre protoplasmique contient l'appareil nucléaire, des plasmides et le cytoplasme, qui contrairement aux tréponèmes est dépourvu de microtubules.

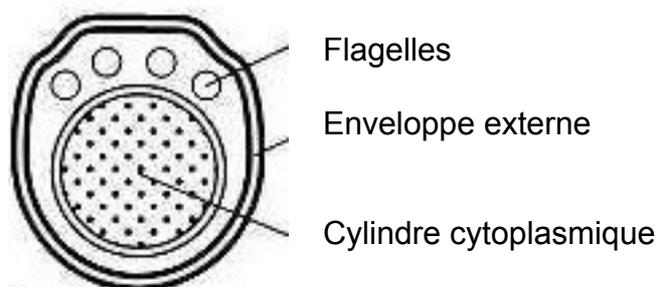


Figure 3 : Représentation schématique d'une coupe transversale d'un spirochète en microscopie électronique (131).

#### b- Structure antigénique

Deux méthodologies ont permis de mettre en évidence les différents antigènes de *Borrelia burgdorferi* :

- L'utilisation d'anticorps monoclonaux fluorescents a permis de localiser la position des déterminants antigéniques.
- L'électrophorèse suivie d'un Western-blot a permis de séparer les protéines et de les caractériser par leur poids moléculaire. Pour *Borrelia burgdorferi*, on peut observer un minimum de 80 polypeptides parmi lesquels certains se révèlent importants sur le plan antigénique.

#### Les protéines de l'enveloppe externe OspA et OspB :

Le poids moléculaire apparent de la protéine OspA varie de 30,5 à 33 kD.

La protéine OspA, spécifique de *B. burgdorferi*, est reconnue par les anticorps monoclonaux H3TS et H 5332 (10).

La variabilité de la réponse de 128 souches exprimant la protéine OspA vis à vis de 8 anticorps monoclonaux est à la base de la classification de Wilske (163) en 7 sérotypes et est corrélée avec la classification génomique.

Le sérotype 1 correspond à *B. burgdorferi sensu stricto*, le sérotype 2 à *B. afzelii*, les sérotypes 3 à 7 à *B. garinii*.

La comparaison de l'analyse des séquences d'OspA montre que le sérotype 5 provient d'une recombinaison génétique des sérotypes 4 et 6. Cela concorde avec les travaux de Barbour qui démontrent que les variations antigéniques sont la conséquence de réarrangements de l'ADN (13).

Ce sérotypage semble correspondre aussi à des découpages encore plus nets concernant le potentiel pathogénique et l'organotropisme des souches de *Borrelia burgdorferi*. Sur 136 isolats provenant de tiques, de prélèvements de peau humaine et de liquides céphalo-rachidiens d'Europe et des Etats-Unis, il a été montré que : le sérotype 1 provient presque exclusivement de peau

humaine européenne, le sérotype 6 est plus fréquemment isolé de tiques, les sérotypes 4 et 5 ne sont jamais retrouvés dans les isolats de tiques.

Ce phénomène de variabilité antigénique pourrait expliquer la persistance à long terme des bactéries chez le patient.

La protéine OspB est une protéine majeure de surface et dont le poids moléculaire est très variable selon l'espèce. Il est de l'ordre de 34 kD.

Cette protéine est très spécifique de *B.burgdorferi* mais n'existe pas chez l'espèce génomique *B. garinii* (10).

Elle réagit selon les souches soit avec les Ac monoclonaux H 6831 et H5TS, soit avec l'un ou l'autre, soit avec aucun des deux.

Ces deux protéines sont rarement détectées en Western-blot et seraient très spécifiques seulement au stade tardif de la maladie après 6 mois d'évolution.

#### La protéine OspC :

C'est une protéine majeure de 20 à 22 kD, très immunogène, présente chez les souches européennes. Elle réagit avec l'Ac monoclonal L221F8. L'analyse des séquences du gène OspC et des séquences protéiques révèle une variabilité antigénique d'une espèce à l'autre mais aussi au sein d'une même espèce, *Borrelia garinii* en particulier (164).

L'OspC est de grande utilité pour le diagnostic biologique ; les Ac anti-OspC apparaissent précocement dans la réponse sérologique contre *Borrelia burgdorferi*.

#### La protéine OspD:

C'est une protéine majeure de surface de 29 kD. La fonction de l'OspD est actuellement inconnue (121).

#### La protéine OspE :

L'OspE est une protéine de surface de 19 kD (95). L'apparition d'Ac anti-OspE fait partie de la réponse sérologique précoce.

#### La protéine OspF :

C'est une protéine de surface, de 26 kD, découverte en même temps que l'OspE (95).

#### La protéine de 41 kD : la flagelline

C'est une protéine spécifique du genre *Borrelia* alors que OspA et OspB sont des protéines spécifiques d'espèces.

La flagelline induit une réponse immunitaire précoce (IgM et IgG) peu spécifique. La flagelline réagit avec l'Ac monoclonal H9724 et c'est une protéine à déterminisme chromosomique (10).

Sa recherche en sérologie est cependant limitée du fait qu'elle partage des épitopes avec des polypeptides similaires extraits d'autres *Borrelia* et d'autres tréponèmes, d'où l'existence de réactions croisées et de fausses sérologies positives de Lyme (115).

La protéine P39 :

C'est une protéine très spécifique de *B. burgdorferi* existant à la fois chez les souches américaines et européennes.

La structure protéique est proche de celle de la flagelline (P41) mais immunologiquement différente.

Cette protéine de 39 kD est un marqueur spécifique du stade secondaire ou tertiaire de la maladie (84).

La protéine de 60 kD (115):

C'est une protéine très immunogène. Elle semble très conservée chez de très nombreuses souches de *Borrelia burgdorferi*.

Cette protéine appartient à la famille des « Heat Shock Protein » de même que les protéines de poids moléculaire compris entre 58 à 74 kD.

Cette protéine est connue comme étant commune aux autres spirochètes et à de nombreuses autres bactéries (mycobactérie, *Pseudomonas*, *E.coli* ...).

La protéine de 93 kD :

Elle semble ne pas présenter de variations intra-souches puisque l'Ac monoclonal D7 dirigé contre la P93 kD de *B. burgdorferi* B31 réagit avec toutes les souches de *Borrelia* quelle que soit leur origine (162).

Elle est localisée dans le cylindre protoplasmique. C'est l'un des meilleurs marqueurs pour la borréliose de Lyme au stade tertiaire.

LPS like :

La substance «LPS like» a été isolée de l'enveloppe externe de *B.burgdorferi*. «LPS like» favorise la prolifération monoclonale des lymphocytes B, la production d'immunoglobulines et la libération de l'interleukine 1 (IL1), médiateur du système immunitaire et synthétisé par les macrophages, rendu responsable des arthrites caractérisant le stade III de la maladie chez l'homme (73).

En somme, chez *Borrelia burgdorferi*, il existe 5 protéines majeures :OspA, OspB, OspC, flagelline et la protéine P60.

#### 4- Culture et métabolisme: (63,128)

*B.burgdorferi* est microaérophile. L'énergie est fournie par la fermentation des sucres, notamment le glucose par la voie d'Emden-Meyerhoff. Cela justifie l'utilisation d'acide pyruvique dans les milieux de culture puisqu'il active la glycolyse. La N-acétyl-glucosamine intervenant dans la composition du peptidoglycane est indispensable aux cultures. Les lipides sont des facteurs essentiels à la culture comme pour tous les spirochètes. C'est le cas des acides gras saturés et insaturés apportés par l'albumine bovine sérique dans les milieux de culture. Ces acides gras à longue chaîne carbonée sont incorporés sans modification de leur structure.

Les *Borrelia* ne possèdent pas de catalase, ni de peroxydase, mais une superoxyde-dismutase (12). Les *Borrelia* ont des besoins nutritifs complexes, ce qui rend leur culture *in vitro* délicate. Ces bactéries ne sont jamais retrouvées libres dans le milieu extérieur.

Ce n'est qu'en 1971 que Kelly propose un milieu semi-synthétique permettant la croissance et l'isolement de *B. hermsii* avec des résultats facilement reproductibles. En 1982, Stoenner incorpore à ce milieu des extraits de levure et un milieu de culture cellulaire : le CMRL 1066 (Connaugh Medical Research Laboratories). Ce milieu de Kelly modifié a permis d'obtenir les premiers isollements de *B. burgdorferi* à partir de tiques puis de malades. Mais il est difficile de cultiver le spirochète à partir de patients.

Des modifications ont été apportées par Barbour pour augmenter le pouvoir tampon du milieu et rendre la préparation plus aisée. Ce milieu modifié porte maintenant le nom de BSK II (Barbour Stoenner Kelly).

Les cultures sont ensuite incubées à 30-33°C, observées et repiquées tous les 5-7 jours pendant 2 mois. L'observation se fait au microscope à fond noir, où l'on distingue la forme et la mobilité caractéristiques des *Borrelia*.

Lors de repiquages successifs, on observe une perte de pouvoir pathogène, des modifications importantes de l'antigénicité des protéines OspA et OspB, une augmentation du poids moléculaire du complexe «LPS-like» et la perte de plasmides qui entraîne une diminution de la virulence. Ceci peut avoir une influence néfaste sur les résultats d'enquêtes sérologiques. En effet, les souches utilisées sont généralement anciennes et peuvent donner de faux résultats négatifs lors des analyses sérologiques.

## 5- Génétique :

C'est Fraser et al. (66) qui, les premiers, ont séquencé et identifié le génome de *B. burgdorferi*.

Les *Borrelia* présentent la particularité de posséder un chromosome linéaire se comportant comme un chromosome d'eucaryote et mesurant environ 950 kb (15,66). Les plasmides peuvent être circulaires ou également linéaires ; cette structure linéaire simple brin avec les extrémités repliées en épingle à cheveux est une exception parmi les procaryotes mais se retrouve chez certains virus, notamment les *Poxvirus*, ce qui laisse penser à une origine virale. Les plasmides sont au nombre de 5 en moyenne, cette composition variant au cours des repiquages. Certaines souches en portent jusqu'à 21 (620 kb dont 9 plasmides linéaires et 12 circulaires), ce qui constitue le plus grand nombre de plasmides connus à ce jour pour une bactérie (122). Leur taille varie de 5 à 200 kb pour les plus grands. Les profils plasmidiques obtenus à partir de 13 souches révèlent une grande hétérogénéité (13). La perte du pouvoir pathogène au cours des cultures, parallèlement à celle de plasmides, suggère la présence de gènes de virulence sur ces plasmides chez *B. burgdorferi sensu lato*.

### **Plusieurs gènes ont été identifiés :**

Les gènes codant de nombreuses protéines ont été identifiés : on en dénombre 853 sur le chromosome et encore 535 codés par les plasmides (63,122,128).

Les protéines de la membrane externe OspA et OspB sont codées par deux gènes organisés en opéron avec un promoteur commun, localisés sur un plasmide linéaire de 49 à 56 kb. La taille de ce plasmide linéaire varie en fonction des espèces génomiques décrite par Baranton et al. (10) puisqu'elle est, par exemple de 50 kb pour *B. burgdorferi sensu stricto*, de 55 kb pour *B. garinii* et de 56 kb pour *B. Afzelii* (142).

Le gène codant la protéine OspC est situé sur un plasmide linéaire de 27 kb. La longueur de ce gène varie également selon l'espèce génomique : elle est respectivement de 630, 636, 621 nucléotides pour *B.burgdorferi*, *B. afzelii* et *B. garinii*.

Le gène *OspD* codant la protéine OspD est situé sur un plasmide linéaire de 38 kb, il n'est présent que dans des souches ayant subi un faible nombre de repiquage (121).

*OspE* et *OspF* sont codés par des gènes localisés sur un plasmide de 45 kb.

Le gène *fla* codant la flagelline, est situé sur le chromosome bactérien (67).

Les gènes ribosomiaux de *Borrelia burgdorferi* ont une structure originale et particulière : il existe un seul gène *rrs* codant l'ARN 16S, mais deux copies de chacun des gènes *rrl* codant l'ARN 23S et *rrf* codant l'ARN 5S (146). On peut identifier les souches en analysant le profil de restriction enzymatique du produit d'amplification de l'espace intergénique *rrf-rrl*(128).

Des protéines de stress comme les HSP communes à de nombreux agents pathogènes bactériens sont des chaperonines impliquées dans les phénomènes de réparation cellulaire. Ce sont des assemblages de sous-unités de 60 kDa codées par des gènes situés sur le chromosome bactérien. Ces protéines sont hautement immunogènes mais peu spécifiques (63,149).

Les gènes codant les lipoprotéines représentent plus de 8% du génome soit 150 gènes ce qui est considérable; cette variabilité est mise à profit dans les processus d'échappement à la réponse immune et d'adaptation à l'hôte (122).

90% des gènes codés par les plasmides n'ont aucun lien avec les gènes portés par les autres *Borrelia*, ce qui laisse penser qu'ils sont impliqués dans les mécanismes d'adaptation spécialisés (122).

Cette présentation de l'agent étiologique de la maladie de Lyme nous amène à présent à évoquer les autres protagonistes, en abordant l'étude de l'épidémiologie de cette maladie. Nous reviendrons au cours de l'étude clinique et de la pathogénie sur certains aspects génétiques et immunologiques en analysant le pouvoir pathogène de *Borrelia*.

## II- Epidémiologie de la maladie de Lyme :

### A- Epidémiologie descriptive :

#### 1- Espèces infectées :

La maladie a été décrite chez l'Homme et les mammifères domestiques en particulier le chien, les équidés, les ruminants et rarement le chat (63).

La maladie affecte toutes les races de chevaux. Les races rustiques, plus exposées aux tiques, sont plus fréquemment atteintes (35). Il ne semble pas y avoir de prédisposition de sexe, mais le pourcentage de séropositivité tend à augmenter avec l'âge (52,110,158).

De nombreuses autres espèces peuvent être porteuses mais sans développer de signes cliniques : des mammifères (petits rongeurs, ongulés...), des oiseaux (notamment grives, merles...) ou même des lézards. Nous développerons plus tard leur rôle épidémiologique de réservoir.

#### 2- Répartition géographique :

La maladie de Lyme présente une répartition mondiale. Cependant la distribution géographique des différentes espèces de *Borrelia*, et donc de la maladie, n'est pas uniforme à travers le monde. La répartition de la maladie est conditionnée par l'aire de distribution des vecteurs. On peut la limiter à une ceinture recouvrant la zone tempérée de l'hémisphère Nord, comprenant la majeure partie de l'Eurasie et des Etats-Unis. Cette répartition doit être encore un peu sous-estimée de par le fait que les moyens mis en œuvre pour détecter la maladie dans certains pays sont déficients (76).

##### a- En Amérique du Nord :

La maladie de Lyme est un véritable problème de santé publique aux USA. Des infections ont été signalées dans presque tous les états. L'incidence varie donc d'un état à l'autre. Il existe 3 foyers endémiques principaux (2):

- Les états du Nord-est des USA : Connecticut, New York, New Jersey, Maryland, Massachusetts, Rhode Island, Pennsylvanie ;
- Les états du « Middle west » : Minnesota et Wisconsin
- Les états de l'Ouest : Californie, Nevada, Oregon.

Des états comme le Texas, semblent épargnés comme le montre une étude sur 496 sérums de chevaux qui fait état d'une séroprévalence nulle (44).

Au Canada, quelques cas humains sporadiques ont été décrits. De 1985 à 1994, 205 cas ont été signalés. La seule région reconnue endémique est Long-Point, sur le lac Erié, en Ontario. La majorité des cas a été rapportée entre le mois de mai et d'août. Tous les âges sont concernés.(48)

### b- En Europe :

L'Europe est touchée dans son ensemble, avec un gradient croissant d'Ouest en Est.

En France :

Les risques sont étendus à la totalité du territoire, puisqu'ils sont superposables à la présence du vecteur, à l'exception d'une petite bande côtière près de la Méditerranée et au dessus de 1500 m (125).

Des foyers importants ont été signalés en Alsace, Limousin et Lorraine, et de manière moins importante en région Centre (Berry, parc de Chambord) et en Ile de France (forêt de Rambouillet), ainsi que dans le Sud-Ouest (notamment les Landes et la région Midi-Pyrénées).

En Grande Bretagne :

Les régions d'enzootie sont localisées au New-Forest (Hampshire), au Thet Ford Forest (Norfolk) et à une partie de l'Ecosse (136).

### c- Autres continents : (139)

Au Japon, les premiers cas de Borréliose de Lyme ont été signalés en 1987. Le spirochète a été isolé chez *Ixodes persulcatus* et *Ixodes ovatus*.

En Chine, de très rares cas ont été diagnostiqués, surtout dans la région Nord-Est .

En Australie : La maladie de Lyme est signalée, en 1982, au nord de Sydney. Les spirochètes responsables ont été identifiés chez *Ixodes holocyclus*.

En Amérique du Sud : Des cas de borréliose ont été rapportés au Brésil et au Chili.

En Afrique : Des cas exceptionnels ont été rapportés en Côte d'Ivoire, au Burkina-Faso, en Afrique du Sud, au Zimbabwe, au Mozambique et en Tunisie.

Une distribution géographique aussi large est exceptionnelle pour une borréliose ; elle s'explique par la multiplicité des vecteurs et des réservoirs.

### 3- Importance :

La borréliose de Lyme est la première maladie à vecteur de l'hémisphère Nord. Elle est reconnue comme maladie professionnelle à déclaration obligatoire depuis 1988 en France.

Elle fait l'objet de nombreuses études actuellement car il existe de nombreuses inconnues concernant notamment sa prévalence, tant chez l'homme que chez l'animal. Les campagnes de sensibilisation auprès des médecins (Alsace, Limousin...) ont permis d'identifier de plus en plus de cas, mais la zone d'ombre consécutive au sous-diagnostic est encore difficile à évaluer et l'incidence en très forte augmentation depuis une dizaine d'années serait due également à l'amélioration des connaissances à son sujet.

Enfin, certains cas atypiques ne sont pas diagnostiqués, d'autant plus que les méthodes diagnostiques présentent de nombreuses limites (116).

a- Chez l'homme :

Aux Etats-Unis ; dès 1982, le Center for Disease Control (CDC) met en place un système de surveillance (36). Une plus grande sensibilisation de la population et des médecins est réalisée, ce qui donne des valeurs plus fiables qu'en Europe. Environ 16000 cas sont rapportés chaque année, 17730 en 2000 selon le MMWR, avec localement une incidence pouvant atteindre 100 voire 1000 cas pour 100 000 habitants (incidence moyenne de 6,3 cas pour 100.000 habitants). En 2003, Harvey propose une estimation selon les statistiques du CDC (Center for Disease Control and prevention), en estimant que l'incidence annuelle atteint 5,1 cas pour 100.000 personnes par an, ce qui correspondrait sur la période 1925-2000 à une prévalence de 1.070.000 cas, soit 2% de la population américaine.

En Europe, l'incidence varie de 0,3 pour 100.000 au Royaume Uni à 130 pour 100 000 en Autriche. Une incidence de plus de 50 000 cas annuels est atteinte pour l'ensemble de l'Europe.

En France, les valeurs sont très variables selon les études, on estime à environ 16 cas pour 100.000 l'incidence nationale, mais des poches d'endémie présentent des valeurs plus importantes : 42 cas pour 100 000 dans le Limousin, 86 en Alsace et 34 en Lorraine (148). (Figure 4)

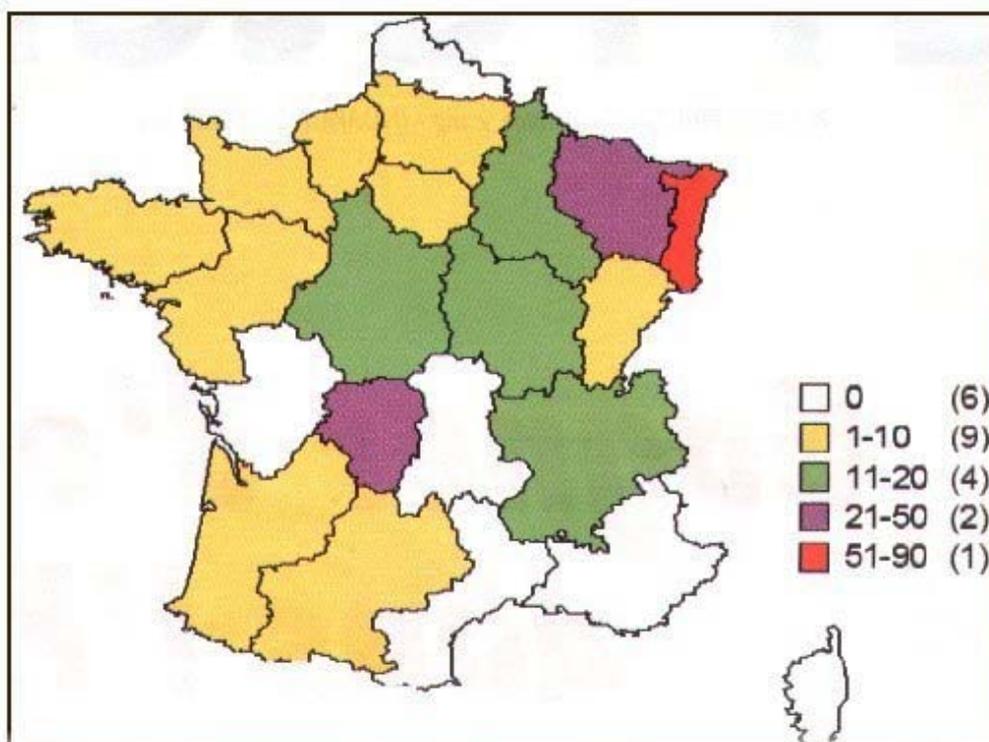


Figure 4 : Incidence régionale annuelle de la maladie de Lyme (en cas pour 100.000 habitants et par an).Période 1999-2000. (134)

Selon l'Institut Pasteur, l'incidence annuelle en France est mal connue et estimée à environ 5000 cas par an. Dans une étude réalisée par le réseau sentinelle entre mai 1999 et avril 2000, l'incidence atteindrait 5500 nouveaux cas annuels diagnostiqués par les médecins généralistes (134).

En Alsace, quelques données sont disponibles grâce à la mise en place d'un réseau de surveillance de la maladie de Lyme, en collaboration avec les médecins sentinelles volontaires depuis mars 2001 (41,47). Après certaines extrapolations, cette étude donne une incidence annuelle régionale estimée entre 204 et 275 cas pour 100.000 habitants pour une période de mars 2001 à février 2002. Certains cantons ont dépassé les 450 cas pour 100 000.

D'autre part, une étude menée par l'intermédiaire de la mutualité sociale agricole (MSA Alsace) auprès du personnel forestier de l'ONF a montré une séroprévalence de 18%, ce qui est considérable.

#### b- Chez le cheval :

L'épidémiologie de la maladie de Lyme est fondée sur des analyses sérologiques. Cette description ne concerne plus une population atteinte mais une population exposée.

L'ampleur de la maladie est particulièrement développée aux Etats-Unis : dans les régions endémiques, le taux de séroprévalence des juments est passé de 12 à 60% entre 1983 et 1986 (24), alors qu'en Europe, à la même époque, aucun cas n'était recensé. La plupart des enquêtes sérologiques ont été réalisées aux Etats-Unis.

La première enquête sérologique date de 1982 en Nouvelle Angleterre, où 24% des chevaux présentent des anticorps dirigés contre *B.burgdorferi*. en région d'enzootie du Connecticut contre 2% en région non enzootique du Massachusetts (114).

Dans l'état du Wisconsin, Burgess et al. (30) ont mis en évidence des anticorps chez 118 chevaux sur 190, certains d'entre eux présentaient une boiterie et un gonflement des articulations.

Dans une étude sérologique faite sur 705 chevaux provenant des états de New York et du Connecticut, 92 (13%) étaient porteurs d'anticorps, 9 d'entre eux souffraient d'atteintes des membres ou des articulations, se traduisant par un ou plusieurs épisodes récurrents de raideur (157).

Cohen (42) estime la séroprévalence aux Etats-Unis entre 1% en zone non endémique et 68% dans les zones endémiques. Magnarelli estime en 2000, à près de 50% le taux de séroprévalence des chevaux, dans les régions du Nord-Est des Etats-Unis (109).

En Angleterre, le premier cas n'est rapporté qu'en 1993 et une enquête sérologique montre un taux de séropositivité de 3 à 4% chez des chevaux asymptomatiques issus de plusieurs régions et un taux de séropositivité moyen de 52% pour des chevaux qui présentent des symptômes et issus de régions endémiques pour l'homme (24).

En Allemagne, une étude épidémiologique réalisée sur 1492 chevaux présentant des signes cliniques évoquant la borréliose, a montré une séroprévalence de 47,9% (98).

En France, une enquête réalisée en Bretagne sur 400 chevaux a révélé la présence d'anticorps chez 36,5% des sujets (52). La plupart des chevaux sont asymptomatiques. Au Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, Trap et al. prélèvent 126 sérums de chevaux pris au hasard et sans signe clinique pouvant évoquer une borréliose de Lyme, 21 sont positifs (16,27%). Dans un second lot de sérums provenant de 30 chevaux avec une suspicion clinique, 11 étaient positifs (36,7%), certains avec un taux de positivité élevé (157). Une étude sérologique, réalisée en 2002 sur une population prise au hasard de 50 chevaux âgés de 1 à 3 ans, a indiqué que 12% des chevaux étaient séropositifs (126).

#### 4- Variation saisonnière :

Dans toutes les études portant sur l'Europe, il apparaît de façon évidente un pic annuel estival, de mai à octobre (56).

En médecine humaine, les signes cutanés sont très courants entre mai et août. Les formes secondaires ou tertiaires sont réparties de manière plus régulière sur l'année, et l'érythème migrant prédomine à l'automne et en hiver (47). Dans ces données, il faut prendre en compte le délai d'apparition des symptômes et le délai du diagnostic, si le patient connaît la date de la piqûre : l'étude menée par le réseau de surveillance en Alsace donne un délai d'une semaine (48% des cas) à un mois (37% des cas) pour l'apparition de l'ECM et au moins d'une semaine pour le diagnostic (63% des patients). Cela signifie que le pic d'infestation par les tiques se situe environ 1 mois avant celui de la maladie, soit de mars à juillet. (Figure 5)

Bien que la période d'activité du vecteur *Ixodes ricinus* soit biphasique (printemps et automne), ceci ne se traduit pas au niveau de la maladie. L'explication peut résider dans le mode de vie des populations à risque qui sortent plus volontiers et en tenue plus légère au printemps et en été qu'à l'automne, ce qui faciliterait l'infestation par les tiques et la transmission de la maladie.

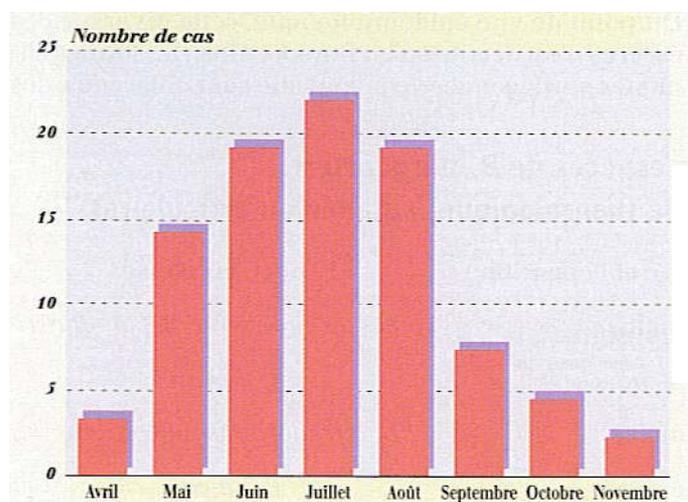


Figure 5 : Saison de contamination de la borréliose de Lyme chez 90 cas humains (49)

Du fait de l'étude de la séroprévalence, la répartition saisonnière des cas de maladie de Lyme chez le cheval est difficile à étudier (157). Aucune donnée numérique n'est rapportée concernant l'incidence saisonnière de cette affection chez les animaux domestiques, et chez le cheval en particulier (123). Une distribution bimodale de la séropositivité a été décrite chez des chevaux provenant du Wisconsin, avec des pics en début d'été et en début d'automne (43).

## B- Le mode de transmission de *Borrelia burgdorferi*.

### 1- Transmission vectorielle :

Les bactéries du genre *Borrelia* se transmettent via des hôtes intermédiaires qui sont des arthropodes piqueurs.

En ce qui concerne *B.burgdorferi*, le principal vecteur appartient au genre ***Ixodes***.

Les tiques ou *Ixodes* sont des ectoparasites hématophages stricts qui font partie de l'ordre des ***Ixodida***. L'espèce de tiques impliquée varie selon la région géographique : ***Ixodes ricinus*** en Europe (Figure 6), et ***Ixodes dammini*** aux USA, sont les principales tiques vectrices de la maladie de Lyme.

Le rôle d'autres arthropodes piqueurs dans la transmission de cette borreliose est connu mais mineur (63,76). Cependant des puces, des moustiques et des tabanidés ont été trouvés comme porteurs du spirochète. Magnarelli et al. (108) ont pu reproduire une infection sur des bovins à partir de piqûres de taons et de moustiques infestés.

Ces vecteurs secondaires peuvent avoir une influence non négligeable sur l'entretien de l'infection en zone d'endémie, de par la multitude de repas sanguins qu'ils peuvent réaliser sur de nombreux hôtes.

Ces tiques appartiennent à la famille des ***Ixodidae*** (ou tiques dures), elle-même divisée en deux sous-familles : les *Argasineae* et les *Ixodineae*. Seuls ces derniers sont responsables de la transmission des spirochètes à l'homme et à d'autres vertébrés.

Environ 140 espèces de tiques appartenant au genre *Ixodes* ont été décrites. Le genre *Ixodes sensu stricto* comporte une soixantaine d'espèces en Eurasie et sur le continent américain (21).

Il s'agit de tiques généralement de petite taille, relativement difficiles à déceler sur l'hôte lorsqu'elles ne sont pas gorgées. Leurs hôtes sont très diversifiés.



Figure 6 : *Ixodes ricinus*  
(Photo : service de parasitologie de l'ENVN).

L'étude des caractères morphologiques et du cycle de vie de l'agent porteur sont deux éléments nécessaires à l'étude de la maladie.

a- Morphologie :

Les tiques dures sont de véritables géants parmi les acariens, puisque leur taille adulte varie souvent entre 3 et 20 mm. Elles ont un corps globuleux ayant trois régions essentielles non segmentées (82) :

**Le gnathosome** correspond à l'extrémité céphalique, ou capitulum, qui se prolonge par un rostre portant les pièces masticatrices (Figure 7). Sur les pièces buccales, il existe une paire de chélicères, en avant de la bouche terminées chacune par une sorte de pince dilacératrice qui va entailler la peau et former un « lac » sanguin sous-cutané. Il y a également un hypostome, pièce médiane et ventrale, armée de denticules dans laquelle on trouve un canal en communication directe avec le tube digestif. Il joue un double rôle de succion et de digestion. De plus, une paire de palpes sensorielles encadrant les chélicères permettent au parasite de s'accrocher à la peau.

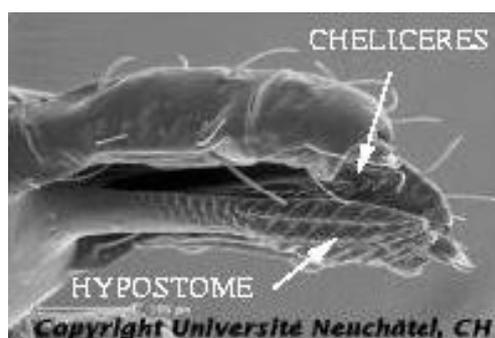


Figure 7: Gnathosome d'une tique par microscopie électronique (17)

**Le podosome** porte les appendices locomoteurs, le nombre de pattes variant en fonction des stades de la tique. Les mâles, les femelles adultes et les nymphes ont quatre paires de pattes réparties en deux groupes : deux paires dirigées vers l'avant et deux autres dirigées vers l'arrière. Les larves sont hexapodes.

La première paire comporte un organe sensoriel, l'organe de Haller qui sert à l'orientation dans l'espace.

**L'opisthosome** est la partie du corps dépourvue d'appendice, où débouchent l'anus et les orifices génitaux. Les sexes sont séparés.

Les nymphes ont les mêmes caractères que les adultes femelles mais n'ont pas d'orifice génital.

Les larves sont morphologiquement comparables à la femelle adulte mais n'ont que trois paires de pattes et les structures liées à la maturité sexuelle sont absentes.

### b- Biologie :

Il existe de nombreux facteurs dont dépend la dissémination de la borréliose de Lyme : climat, diversité et densité des vecteurs et des hôtes, fréquence des contacts vecteur/hôte et taux d'infection respectifs.

La biologie du vecteur a une influence primordiale sur l'exécution du cycle de *B. Burgdorferi* et donc sur l'épidémiologie de la maladie.

Le cycle de développement (Figure 8) est un cycle évolutif comportant quatre stades successifs (œuf, larve, nymphe, adulte (Figure 9)) et nécessitant trois hôtes successifs :

c'est un **cycle triphasique trixène** (123).

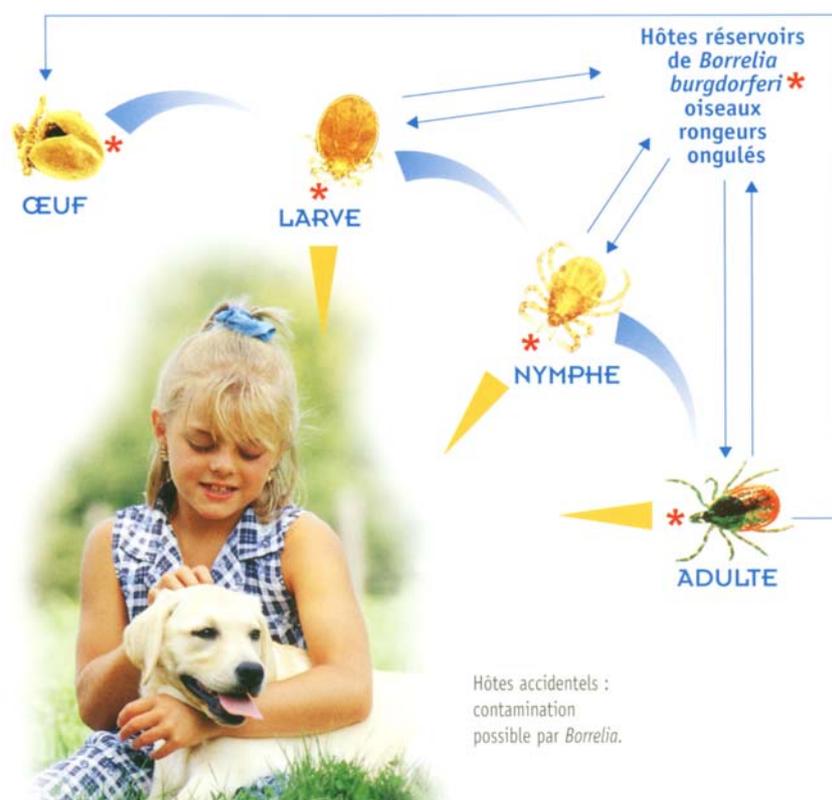


Figure 8 : Cycle d'*Ixodes ricinus* et transmission de *Borrelia burgdorferi*.  
(Laboratoire Mérieux)

Au printemps, après un dernier repas sanguin, la femelle adulte pond 500 à 3000 œufs dans des endroits sombres, obscurs et humides, puis meurt quelques jours après. Le temps d'incubation des œufs varie selon la température ambiante. Une variation brusque de température peut les tuer.

Dans des conditions ambiantes normales, **les œufs** vont éclore en 8 jours à 3 semaines et donner naissance à des larves hexapodes ayant une taille comprise entre 0,5 et 1 mm.

**Les larves** sont actives essentiellement en juillet – août. Le déplacement des larves se fait dans un rayon de 30 à 50 cm autour du lieu de l'éclosion. Elles se fixent à l'affût d'un hôte, au sol dans la litière ou à quelques centimètres du sol. La larve détecte la présence de son hôte grâce à ses organes sensoriels sensibles aux vibrations, à la chaleur, à la présence d'acide carbonique et d'acide butyrique dégagés par la peau des mammifères (70,101,110).

L'infestation peut avoir lieu à toute heure et serait maximale entre 20 et 24 heures : périodes d'activité des rongeurs hôtes (21). En France, les larves sont surtout fixées sur des rongeurs (mulots, campagnols) et secondairement sur des oiseaux et des reptiles.

Une fois fixée, la larve enfonce son hypostome dans la plaie pour aspirer le sang après avoir dilacéré le tégument. Il s'agit d'une morsure et non d'une piqûre.



Figure 9 : De gauche à droite : femelle adulte, mâle adulte, nymphe, larve d'*Ixodes dammini*. (36)

La durée moyenne du repas sanguin est de 3 à 5 jours. Elle augmente de 10 à 20 fois son poids. La larve gorgée de sang se détache de son hôte. Après une phase libre au sol de 4 à 6 semaines en moyenne, la larve se métamorphose en **nymphe** octopode, mesurant 1 à 3 mm. Cet état de repos coïncide avec la saison froide. De plus, l'activité de la nymphe dépend davantage des conditions hygrométriques (21). La nymphe va ensuite se mettre à l'affût (branches basses à 10 cm du sol) d'un deuxième hôte où elle effectuera un repas sanguin. Les nymphes peuvent se nourrir sur les mêmes rongeurs que les larves mais on les retrouve également sur des lièvres, des écureuils, des hérissons, des renards ou même des lézards. Les oiseaux sont aussi des hôtes fréquents. La durée du repas sanguin avoisine celle du stade larvaire, 4 à 7 jours. Puis la nymphe tombe à son tour sur le sol. La phase libre qui suit, longue de 2 à 5 mois, permettra le passage au stade **adulte** à la fin de l'été.

Après un temps de repos et de maturation, les adultes se mettent à la recherche du troisième hôte sur lequel aura lieu l'accouplement. Les mâles se nourrissent peu et vont mourir quelques temps après, alors que la femelle fécondée continue de s'alimenter pour synthétiser les protéines nécessaires au développement des œufs (73,115).

Les hôtes de choix des adultes sont, selon leur présence éventuelle dans le milieu, les cervidés, les sangliers et de façon moins fréquente les bovins, les ovins et les carnivores : renard ou chien.

A tous les stades du développement et surtout aux stades nymphaux et adultes, l'homme et le cheval sont des hôtes accidentels (140).

La lenteur propre du développement des espèces, associée aux pauses hivernales souvent longues, ne permet l'évolution que d'un stade par saison favorable et entraîne l'étalement du cycle sur plusieurs années : de 2 à 4 ans pour *Ixodes ricinus* suivant les latitudes (63,83).

#### c- L'activité saisonnière des principaux vecteurs: (63,83)

La période d'activité des tiques varie dans le temps, et s'étale de mars à octobre en Europe, avec en général deux pics d'incidence au printemps et à l'automne, correspondant à deux sous-populations (nymphe et adulte). En effet, les larves en France ont une activité maximale en juillet ; les nymphes ayant hiverné reprennent leur activité en mars, avec un maximum en mai, puis disparaissent l'été pour revenir en septembre ; les adultes sont particulièrement nombreux en mai, septembre et octobre.

Le déterminisme de l'activité d'affût est influencé par les conditions climatiques (température et humidité principalement) et la photopériode, mais aussi par des facteurs comme la nature de l'habitat et la présence d'hôtes potentiels. En dehors des périodes favorables, la tique rentre en diapause ; on distingue la diapause comportementale, sorte de quiescence de la tique à jeun, de la diapause développementale, impliquant l'arrêt des phases de mue ou d'embryogénèse pour les œufs. Des facteurs génétiques des populations locales de tiques influent également sur la longueur de la diapause.

Cette activité saisonnière retentit bien évidemment sur l'épidémiologie de la borréliose de Lyme, et des études ont montré que l'infection chez les tiques varie également suivant la saison, ainsi que suivant la présence d'hôtes potentiels.

#### d- L'habitat des tiques : (21,63,83,97)

*Ixodes* passe une grande partie de son cycle de développement au sol (tique exophile).

Le milieu doit satisfaire deux conditions indispensables à la survie d'*Ixodes ricinus*. D'une part un taux d'humidité supérieur à 80% dans les périodes les plus sèches de l'année, est nécessaire pour maintenir la balance hydrique, sans pour autant que le terrain soit inondé à la saison pluvieuse. Les tiques

sont en effet sensibles à la dessiccation durant la période d'affût et pendant les phases de développement. D'autre part, le milieu doit être pourvu en hôtes potentiels pour les trois stades de développement.

Le biotope d'*Ixodes ricinus* correspond à la forêt, les sous-bois et d'autres zones pouvant assurer son développement.

On rencontre cette tique en plaine ou en zone montagneuse, c'est-à-dire entre 400 et 1200 m. En France, *I. ricinus* est très abondant et réparti sur une grande partie du territoire, à l'exception des zones sèches du Sud-est.

La température optimale de développement de la tique est comprise entre -15° et 30°C. Au delà, toute activité cesse et il se produit une dessiccation qui entraîne la mort de celle-ci.

#### e- Les rapports Tique – Borrelia :

La contamination de la tique par *B.burgdorferi* se fait à la faveur d'un repas sur un hôte réservoir. On estime à 8% le taux de tiques porteuses de *Borrelia* en France (125).

*B. burgdorferi* se situe dans le tube digestif de la tique. Une fois ingéré, le spirochète gagne l'intestin du vecteur où il s'agrège près des microvillosités de la bordure en brosse des cellules épithéliales et dans les espaces intercellulaires. Seulement quelques tiques (3,4%), subissent une infection généralisée avec passage du spirochète dans l'hémolymphe. Ainsi des spirochètes peuvent être retrouvés en faible nombre dans différents tissus tels que les glandes salivaires et les ovaires (27).

Deux autres modes de contamination de la tique sont possibles :

- par transmission transtadiale ;

les spirochètes qui séjournent à l'intérieur de leurs hôtes se transmettent de la larve à la nymphe et de la nymphe à l'adulte (138). La transmission est efficace après seulement 17-29 heures de fixation d'une nymphe sur son hôte. En moyenne, on compte 1-3 jours pour les nymphes et 2-4 jours pour les adultes.

- par transmission trans-ovarienne ;

les *Ixodes* transmettent la bactérie à leur descendance par l'intermédiaire des œufs. Les larves se trouvent alors infectées avant même d'avoir effectué leur repas sur un hôte contaminé. Une étude a montré que seulement 1% des pontes étaient contaminées, parmi lesquelles 44 à 100% des œufs et en conséquence 47 à 97% des larves sont infectées.

Dans la nature, la transmission de l'infection entre tiques et hôtes dépend de la fréquence des contacts entre les deux espèces, et également du taux d'infection du vecteur. Or on observe une grande abondance des larves par rapport aux nymphes, de même des nymphes par rapport aux adultes, environ 10 fois plus de nymphes que de femelles. Par contre, les nymphes présentent un taux d'infection par *B. burgdorferi* bien supérieur à celui des larves : 30% d'infection pour les nymphes d'*Ixodes ricinus* (soit 10 à 20 fois plus que pour les larves). Au final, la grande abondance de nymphes infectées leur donne un rôle très important dans la transmission de la

bactérie, notamment chez les passereaux, les écureuils et les lièvres, chez qui l'infestation est très fréquente.

Une étude menée dans le sud de l'Allemagne a montré que sur plus de 3000 tiques prélevées, 20% des adultes, 10% des nymphes et seulement 1% des larves étaient infectés. Les chiffres selon les études sont très variables, car les protocoles de capture sont différents (ou même simplement la période de capture) et ont une influence sur les résultats obtenus. On obtient en moyenne en Europe un taux d'infection des tiques d'environ 10-20%.

Cette étude de la biologie d'*Ixodes ricinus* nous permet de mieux cerner le rôle éco-épidémiologique du vecteur dans la borréliose de Lyme. Parmi tous les hôtes hébergeant *Ixodes ricinus*, certains jouent un rôle de réservoir de germes et permettent l'entretien des foyers d'infection.

#### f- Les réservoirs :

Définition : Pour constituer un réservoir de germes intéressant, un animal hôte doit non seulement être réceptif à l'infection et en être fréquemment porteur, mais il doit encore permettre le passage du germe à l'arthropode hématophage vecteur, en vue de la dissémination ultérieure à d'autres vertébrés ainsi que le passage de l'infection d'une année sur l'autre en dépit de la mauvaise saison. Ceci implique l'existence chez le mammifère infecté d'une importante parasitémie périphérique et d'une durée d'infection suffisamment longue pour couvrir la période de diapause hivernale de la tique vectrice. (53-54)

Ainsi, un animal séropositif ou à partir duquel on isole le germe, n'est pas nécessairement un réservoir. Cela prouve uniquement qu'il a été en contact avec le pathogène (83).

Les réservoirs sont essentiellement les mammifères et en particulier les rongeurs sauvages sur lesquels les formes larvaires et les nymphes se nourrissent.

Aux USA, le principal réservoir naturel est constitué par un rongeur forestier souvent très répandu, *Peromyscus leucopus*. En Europe, les réservoirs sont constitués par les campagnols, les mulots et les musaraignes (94).

Les grands mammifères sauvages forestiers comme les cerfs, les sangliers et les chevreuils, bien que présentant des taux de séropositivité élevé (19% des sangliers et 23,9% des chevreuils des forêts de la région parisienne) ne sont probablement pas responsables de l'entretien de la dissémination de *Borrelia burgdorferi* car ils n'infecteraient que difficilement les tiques dont ils sont porteurs. Leur rôle est en fait d'assurer le maintien des populations de tiques qui leur sont associées (124).

Quant au rôle des oiseaux dans le cycle épidémiologique de la borréliose de Lyme, il est encore mal défini. Cependant les oiseaux migrateurs pourraient être d'excellents moyens de transport de l'agent pathogène. Le rôle

de réservoir des oiseaux a été démontré par les travaux de Mac Lean (102), lequel a isolé *B.burgdorferi* de plusieurs espèces d'oiseaux migrateurs.

Une étude suédoise (72) nous apprend que la maladie de Lyme peut être véhiculée sous sa forme latente par des oiseaux migrateurs, par exemple des grives à ailes rouges, pendant plusieurs mois avant de se réactiver, puis d'être transmise aux tiques. En fait, il apparaît que, dans les conditions de migration, une infection latente peut être activée. On peut imaginer qu'un stress hormonal et ses effets déprimeurs sur l'immunité sont en cause. Quoi qu'il en soit, l'infection de tiques, lors d'une étape de passereaux migrateurs, et la contamination d'espèces locales par des spirochètes ne sont donc pas exclues, même s'il est très difficile d'apprécier l'importance épidémiologique réelle d'un tel mode de dissémination.

L'Homme et le cheval sont des hôtes accidentels qui peuvent déclarer la maladie (83). La compétence de réservoir est le fruit d'une longue évolution, dans laquelle les organismes s'habituent petit à petit l'un à l'autre. L'adaptation physiologique qui en résulte permet la coexistence des deux organismes et la persistance dans le milieu.

Par ailleurs, les tiques infectées peuvent par elles-mêmes constituer un réservoir de la maladie, leur durée de vie étant suffisamment longue pour permettre un maintien dans le temps de la bactérie.

#### g- Les facteurs de risque :

L'essentiel des facteurs de risques est représenté par le mode de vie du cheval et tout ce qui s'y rapporte.

L'habitat naturel des tiques étant essentiellement représenté par les zones de forêt, sous-bois et broussailles, il est évident que les chevaux vivant au contact de ces lieux sont les plus exposés au risque de contamination.

L'enquête réalisée par Doby et al. (52), sur 400 chevaux montre que la fréquence de l'infection est, du moins en partie, liée aux activités en extérieur, en forêt principalement. Ainsi, 52% des chevaux de randonnée sont positifs contre 23,7% des étalons de haras.

Les chevaux vivants en pâture et les chevaux de randonnée sont, par conséquent, des catégories à risque.

La présence d'animaux d'élevage (surtout les ovins) est un facteur favorisant. Pour ces animaux, les pâtures en lisière de forêt, avec un passage fréquent d'animaux sauvages, et la présence d'arbustes pouvant abriter de petits rongeurs ou des oiseaux – réservoirs potentiels du germe – sont considérés comme zone à risques.

Enfin, la tique *Ixodes ricinus* peut être vectrice d'autres maladies comme la babésiose, l'ehrlichiose, l'encéphalite à tique, qui peuvent être transmises en co-infection avec *B.burgdorferi* et rendre difficile le diagnostic de maladie de Lyme. Ces cas sont de surcroît difficiles à traiter, d'autant que *Babesia* et *Ehrlichia* sont immunosuppressives (15).

## 2- Transmission directe :

La transmission directe de *B. burgdorferi* d'un vertébré à l'autre sans intervention d'un vecteur est possible.

En effet, ce mode de contamination est au moins soupçonné, si non confirmé par plusieurs études (63,76,123).

Des expériences ont démontré le développement d'un fort taux d'anticorps anti-*B.burgdorferi* chez des chiens sains ayant été en contact avec des chiens inoculés ou avec de l'urine de chiens inoculés (29). Un chat a pu être contaminé par consommation de lait en provenance d'une vache atteinte (53).

Par ailleurs, la possibilité de transmission *in utero* a été démontrée par la mise en évidence de *B. burgdorferi* sur un poulain, mort juste à la naissance lors d'une étude portant sur sept juments Appaloosa gestantes infectées naturellement (123).

Une transmission par voie colostrale a été suspectée chez une jument séronégative mais présentant des anticorps dirigés contre *B. burgdorferi* dans le colostrum. Son poulain a été euthanasié à l'âge d'un an suite à des troubles neurologiques évoquant une méningite. *B. burgdorferi* a été isolée du foie et des reins de ce poulain. La chronicité des lésions rénales découvertes à l'autopsie, rend compte de l'ancienneté de l'affection (31).

Un cas de transmission directe par la morsure d'un cheval a été envisagée chez un homme en Belgique, en 1986 (113).

Cette transmission materno-foetale a été aussi prouvée chez l'homme (56). Gardner a recensé les cas de maladie de Lyme chez les femmes enceintes (citée par 76). Ces grossesses n'aboutissent pas dans un fort pourcentage. De plus, certains nouveau-nés présentent des symptômes.

Enfin, il faut signaler la possibilité de la transmission du germe lors d'une transfusion sanguine, puisque *B.burgdorferi* a une survie prolongée, aux alentours de 60 jours dans les échantillons de sang humain conservés à basse température (4°C). Cette possibilité de transmission chez l'homme a été envisagé en 1989 par Aoki (4). Ce mécanisme de transmission est désormais rare à cause du traitement auquel doivent être soumis les produits sanguins utilisés, dans le cadre des mesures antivirales (139).

Ces modes de contamination secondaires, s'ils ne présentent pas la majorité des cas, peuvent également jouer un rôle épidémiologique dans la dissémination de la bactérie.

### III- Aspects cliniques de la borréliose de Lyme.

Le pouvoir pathogène sera envisagé successivement chez l'homme et chez le cheval. Les aspects cliniques de la borréliose de Lyme frappent **par leur extrême diversité**.

Chez l'homme, le tableau clinique de la maladie de Lyme évolue généralement selon un modèle schématique de trois phases successives.

Chez le cheval, ce modèle de description n'est pas utilisé.

#### A- Chez l'homme :

Par mesure de clarté, on peut décrire l'histoire naturelle de la maladie de Lyme en trois phases, en se référant à celle de la syphilis. Cependant des incertitudes persistent quant à la place exacte de certaines manifestations cliniques. Certains auteurs préfèrent distinguer dans l'évolution une phase récente et une phase tardive : la phase récente correspondant aux phases primaire et secondaire, d'autres décrivent les différentes formes cliniques comme étant distinctes, liées aux différentes souches pathogènes de *B.burgdorferi sensu lato*.

##### 1- La phase primaire (ou phase précoce localisée):

La phase primaire localisée au point d'inoculation du germe se résume à une lésion cutanée ou à un érythème migrant (EM), encore appelé érythème annulaire, qui apparaît en 3 à 30 jours, preuve de la dissémination des spirochètes dans le tissu cutané (Figure 10).



Figure 10 : Erythème migrant consécutif à une morsure de tique (36)

La lésion consiste en une macule ou papule cutanée centrée sur le point de morsure de l'arthropode puis s'étend de façon centrifuge pour atteindre plusieurs centimètres de diamètre. Il est plus usuel d'employer le terme d'érythème migrant (EM). L'extension de l'érythème est progressive ou se fait par poussées.

L'érythème peut guérir spontanément en quelques jours ou semaines et les nombreux patients qui présentent des signes tardifs de la maladie de Lyme peuvent n'en avoir aucune souvenance.

Les *Borrelia* passant dans le sang, il est possible d'observer plusieurs jours après un EM initial, une ou plusieurs lésions identiques à distance. Parfois l'existence d'une arthrite au voisinage de l'EM se manifeste par une réaction inflammatoire du poignet ou de la cheville. Cette arthrite normalement aseptique sans épanchement important et ne touchant que les petites articulations, est à ne pas confondre avec l'arthrite septique liquidienne, touchant les grosses articulations.

Une autre lésion dermatologique précoce peut apparaître : il s'agit du lymphocytome cutané bénin. C'est une complication assez rare de la maladie de Lyme, plutôt liée aux infections par *B.garinii* ou *B. afzelii*. Il s'agit d'une lésion inflammatoire légèrement excavée, circonscrite, souvent localisée à la tête (lobe de l'oreille).

A ce stade de la phase primaire, les signes généraux sont modérés et peu caractéristiques de la maladie (syndrome grippal) : fièvre, malaises, myalgie, céphalées sévères, arthralgies et fatigue.

## 2- La phase secondaire (ou phase précoce disséminée) :

La phase secondaire correspond à une dissémination hématogène des *Borrelia*. Elle débute 1 à 4 mois après le contagé et révèle parfois la maladie. Les atteintes cutanées, rhumatologiques, cardiaques et neurologiques peuvent être isolées ou associées entre elles.

### a- Les manifestations générales :

Les signes généraux accompagnent les premiers signes cutanés mais sont peu caractéristiques. Ils consistent en un syndrome grippal avec un état subfébrile, des douleurs musculo-squelettiques, de l'asthénie et des troubles gastro-intestinaux. Des adénopathies sont parfois présentes soit régionales, soit généralisées.

### b- Les atteintes cutanées :

Ces atteintes cutanées sont essentiellement représentées par l'ECM multiple.

Chaque lésion a le même aspect que l'EM de la phase primaire mais les ECM de la phase secondaire sont généralement plus petits. Chez les patients présentant ces lésions, les symptômes ultérieurs sont souvent plus intenses. Ce type de manifestations semble plus fréquent aux USA qu'en Europe (160).

L'évolution se fait généralement vers la guérison en quelques semaines mais en l'absence de traitement, le malade reste exposé à des complications tardives.

#### c- Les atteintes rhumatologiques :

Ce sont les atteintes articulaires, rapportées aux U.S.A., qui ont permis d'attirer l'attention sur la maladie. Décrites chez 60% des patients aux U.S.A., elles sont beaucoup moins fréquentes dans les séries européennes (16).

Les atteintes articulaires existent à tout âge mais semblent plus fréquentes chez l'enfant ou l'adulte jeune et sont souvent associées à des troubles neurologiques (23).

Elles débutent en moyenne 24 jours après la contamination par des arthralgies fugaces, atteignant une ou deux articulations.

Les arthrites apparaissent un peu plus tard en moyenne, deux mois après la morsure. L'aspect le plus fréquent est celui d'une mono ou oligo-arthrite asymétrique, intermittente et récidivante qui atteint surtout les grosses articulations avec une prédilection pour le genou, puis les chevilles, les épaules, les coudes et les poignets (16-23).

Lorsqu'il existe un épanchement articulaire, le liquide synovial est de type inflammatoire.

Nocton et al. (119) ont pu mettre en évidence par PCR la présence d'ADN de *B. burgdorferi* dans le liquide synovial de 75 patients atteints d'arthrite de Lyme.

L'évolution se fait vers la régression sauf dans 10% des cas où elle se fait dans le sens d'une arthrite chronique migratrice, parfois destructrice.

#### d- Les atteintes cardiaques.

Rare en Europe, l'atteinte cardiaque est plus fréquente aux Etats-Unis (8% des malades) où elle survient entre le trentième et le soixante-quinzième jours après l'inoculation (69).

Les troubles de la conduction (bloc auriculo-ventriculaire, sino-ventriculaire ou intra-ventriculaire) représentent l'essentiel de l'atteinte cardiaque. Les signes cliniques observés sont essentiellement des palpitations, une dyspnée, des douleurs thoraciques constructives, une irrégularité du pouls et parfois des syncopes.

Les manifestations cardiaques régressent habituellement en moins de 15 jours, sauf s'il y a des complications pouvant alors laisser des séquelles plus ou moins graves (56).

### e- Les manifestations neurologiques.

Les désordres cliniques provoqués par une atteinte neurologique sont fort divers, justifiant le terme de « grande simulatrice » donné à la borréliose de Lyme, au même titre que la syphilis (58).

Elles représentent le mode de révélation le plus fréquent de la phase secondaire en Europe. Elles touchent environ 11% des malades aux USA et 80% des malades en France.

Le délai moyen entre la morsure de la tique et l'apparition des signes neurologiques est de un mois.

#### Les atteintes périphériques.

##### § Atteintes radiculaires sensitives :

La radiculite hyperalgique est la manifestation neurologique la plus typique et la plus fréquente ; elle est présente dans 64% des cas (133). Elle survient 2 à 6 semaines après l'inoculation qu'il y ait eu ou non un EM. Elle intéresse au début les racines nerveuses correspondantes au territoire de la morsure de tique avant de s'étendre plus loin ; il s'agit le plus souvent de cruralgies ou d'algies thoraco-abdominales très intenses (160).

Les douleurs sont résistantes aux antalgiques classiques et aux anti-inflammatoires non stéroïdiens. Sans traitement, ces douleurs persistent de 1 à 4 mois, mais disparaissent rapidement sous antibiotique (23).

##### § Atteintes motrices périphériques :

Les atteintes motrices sont plus rares que les atteintes sensitives, avec lesquelles elles sont le plus souvent associées.

Elles se manifestent par des paralysies asymétriques à prédominance proximale, avec amyotrophie précoce régressant habituellement en 6 à 8 semaines et laissant des séquelles motrices. Ces atteintes sont moins sensibles aux antibiotiques (2-133).

##### § Atteintes des nerfs crâniens :

L'atteinte des nerfs crâniens est très fréquente : 50% dans la série de Ragnaud (133).

La VII<sup>ème</sup> paire des nerfs crâniens est le plus souvent atteinte réalisant une paralysie faciale périphérique uni ou bilatérale. Tous les nerfs crâniens peuvent être intéressés.

Malgré une antibiothérapie précoce, la guérison n'est pas toujours complète et des séquelles peuvent persister (118).

#### Les atteintes centrales.

Elles se retrouvent chez 25% des patients ayant une atteinte neurologique (118-160).

Il s'agit le plus souvent de manifestations médullaires ou encéphalitiques qui sont généralement mineures.

Les symptômes peuvent néanmoins être plus sévères et simuler une sclérose en plaque ou une compression médullaire (16-118).

Un traitement antibiotique débuté précocement et une posologie suffisante assure le plus souvent la guérison.

### Les atteintes méningées.

L'atteinte méningée est commune à l'ensemble des manifestations neurologiques, quel que soit leur type.

Elle est très souvent asymptomatique, rarement révélée par un tableau de méningite.

### Les atteintes oculaires .

Certaines atteintes oculaires ont été rapportées au cours de la maladie de Lyme, il s'agit surtout de conjonctivites, d'uvéites, de kératites et de décollement de la rétine (2- 160).

La maladie de Lyme s'inscrit donc comme une cause d'uvéite, le spirochète ayant été isolé par culture dans l'humeur vitrée (140).

### f- Autres atteintes diverses.

Des atteintes plus rares ont été observées (2-23-115-118) :

# les atteintes hépatiques se manifestent par une augmentation des transaminases et parfois une hépatomégalie.

# les atteintes musculaires se traduisent par des myalgies associées ou non aux manifestations cutanées, articulaires ou neurologiques.

# des atteintes gynéco-obstétricales ont pour conséquences des prématurités , des malformations et même des morts *in utero*.

# des atteintes rénales sont prouvées par des hématuries microscopiques ou des protéinuries.

# des atteintes génito-urinaires se manifestent par des orchites (inflammations aiguës ou chroniques du testicule).

# des atteintes respiratoires avec une toux improductive.

## 3- La phase tertiaire (ou phase tardive) :

La phase tertiaire apparaît des mois ou des années après le contagé et ne touche qu'un petit nombre de malades. Ces manifestations tertiaires sont essentiellement définies par leur chronicité.

### a- Signes neurologiques.

Ils surviennent plusieurs années après le début de la maladie mais sont difficiles à diagnostiquer dans la mesure où les antécédents de morsure de tique ou d'EM sont fréquemment oubliés par les patients et les manifestations de la phase secondaire ont ou n'ont pas eu lieu.

### L'encéphalomyélite (139-141).

L'encéphalomyélite représente le tableau clinique le plus décrit à ce stade surtout en Europe. Elle associe des atteintes cérébrales, médullaires et des nerfs périphériques et crâniens.

Cliniquement, elle se manifeste par des troubles de la marche, une ataxie, des troubles de la mémoire et de la concentration. Les nerfs crâniens les plus touchés sont les VII<sup>ème</sup> et VIII<sup>ème</sup> paires.

#### Encéphalopathie démyélinisante(16-140).

C'est une manifestation d'apparition progressive ou évoluant par poussées, caractérisée par des troubles de la mémoire ou de l'attention, voire des démences, parfois même des comas.

L'encéphalite chronique de Lyme peut se présenter comme une affection psychiatrique, surtout chez l'enfant et se traduire par des troubles de la personnalité et un tableau d'anorexie mentale, régressif sous antibiothérapie.

#### Atteintes médullaires isolées(140)

Elles réalisent plusieurs tableaux : une myélite transverse faisant évoquer la sclérose en plaque, une paraparésie spastique pouvant évoluer vers une paraplégie, une compression médullaire ou une sclérose latérale atrophiante.

#### b- L'ACA ( Acrodermatite Chronique Atrophiante) :

Il s'agit d'une grande lésion cutanée d'évolution chronique durant parfois plus de cinq ans, souvent décrite en Scandinavie et en Allemagne sous le nom de maladie de Pick-Herxheimer. Cette lésion est presque exclusivement due à *B.afzelii* et est donc très rare aux Etats-Unis. Elle apparaît à tout âge, mais c'est surtout l'adulte de plus de 40 ans qui est atteint (25).

La phase inflammatoire est marquée par l'apparition de taches érythémateuses, rose violacé, cyanotiques, mal délimitées, légèrement squameuses. Les lésions évoluent ensuite vers l'atrophie. L'épiderme est lisse, brillant laissant apparaître par transparence le réseau veineux sous-cutané (16).

A ce stade, le diagnostic est confirmé par la sérologie constamment positive et la responsabilité de *B. burgdorferi* a été démontrée par son isolement à partir de biopsies cutanées (115-160).

#### c- Manifestions articulaires :

Les arthrites chroniques sont définies comme des arthrites évoluant sans rémission pendant au moins un an et/ou avec présence d'un pannus synovial et d'érosion cartilagineuse, décrits aux USA ; elles s'opèrent chez 10% des patients. En Europe, cette fréquence est sensiblement moindre (2).

La majorité de ces arthrites chroniques apparaissent après plusieurs mois d'accès intermittents d'arthrites ou d'arthralgies. Il s'agit d'une mono-arthrite touchant préférentiellement les genoux de façon uni ou bilatérale. Les épaules, les hanches et les chevilles sont parfois concernées, les petites articulations sont moins atteintes (23).

#### 4- Le syndrome post-Lyme (SPL)

Un certain nombre de patients ayant souffert d'une maladie de Lyme se plaignent de multiples syndromes apparus malgré un traitement précoce : céphalées, arthralgies, myalgies, fatigue, parésie, labilité émotionnelle, perte d'audition, vertiges, troubles du sommeil et rigidité du cou.

Des études ont démontré que certains facteurs de risque augmentent la probabilité de voir apparaître de telles séquelles : une durée de maladie supérieure à 1 an avant d'initier un traitement, un titre élevé d'IgG spécifiques, de multiples bandes au Western blot corrélées à des troubles de la mémoire verbale. Mais le SPL peut tout aussi survenir à l'occasion d'une infection persistante, d'une réinfection ou d'un processus inflammatoire ou immunologique déclenché par *B.burgdorferi* dans le cerveau. D'autres causes doivent également être considérées, comme le retard de diagnostic, la lente disparition des symptômes ou les séquelles de l'infection.

Le SPL comprend les troubles chroniques ou intermittents qui débutent lors de la maladie clinique et persistent des mois à des années en dépit d'une antibiothérapie adaptée. Ce syndrome appelé maladie de Lyme chronique, pose un problème de diagnostic différentiel avec d'autres syndromes comportant la même symptomatologie, le syndrome de fatigue chronique ou la fibromyalgie. Selon les études, le SPL touche de 13 à 53% des patients qui ont présenté une maladie de Lyme. La fatigue, les troubles de concentration, les troubles du sommeil et les problèmes cognitifs sont les plus fréquemment rencontrés dans le SPL par rapport au syndrome de fatigue chronique.

L'ensemble des signes cliniques de la borréliose de Lyme frappe par **leur extraordinaire diversité**. Cependant celle-ci serait dépendante de l'espèce génomique responsable. C'est ainsi que les travaux réalisés par Vandam et al. (159) montrent que la grande majorité des cas d'EM et d'ACA aux Pays-Bas sont dus à *B. afzelii* alors que *B. burgdorferi sensu stricto* est très rarement isolée. De même, Assous et al. (6) ont montré par la technique du Western-blot que les patients atteints d'érythème migrant ont tous un profil d'anticorps identique vis à vis de toutes les souches des trois espèces : *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii*. En revanche, la réaction contre *B. burgdorferi sensu stricto* est importante avec les sérums des patients ayant une atteinte arthritique. Elle est principalement observée avec *B. garinii* chez les patients présentant une atteinte neurologique, tandis que la réaction est celle d'une hyper-immunité contre *B. afzelii* avec les sérums de patients souffrant d'ACA.

## B- Chez le cheval :

La maladie clinique a été décrite chez diverses espèces animales de rente ou de compagnie : les chevaux, les chiens et les bovins surtout, mais aussi les ovins et les chats. A la différence de ce qui se passe chez l'homme, on ne retrouve pas la progression en trois phases de la maladie.

Chez le cheval, la maladie reste le plus souvent asymptomatique ou sans signe clinique évocateur, même s'il est infecté expérimentalement par un grand nombre de germes ou de façon répétée (117).

En 1988, Magnarelli observe que 30 à 40% des chevaux vivant dans des zones d'endémie présentent une sérologie positive, dont environ 9% développent des signes cliniques (105).

Plusieurs auteurs observent que seuls 10 à 15% des chevaux contaminés par des tiques porteuses de *B. burgdorferi sensu lato* vont présenter une symptomatologie détectable. En équine, la symptomatologie est tellement variable que nos confrères anglo-saxons l'appellent «The great imitator». On comprend mieux la difficulté du diagnostic clinique, car la bactérie peut se localiser à n'importe quel organe et reproduire des signes cliniques extrêmement variés et non pathognomoniques.

### 1- Temps d'incubation :

La période entre l'infection initiale et l'apparition des signes cliniques est extrêmement variable. De plus, le moment où le cheval a été contaminé est difficile à identifier du fait, entre autres, de l'inconstance des manifestations cutanées et de la présence du pelage qui rend son repérage délicat (42,88).

### 2- Symptômes et signes cliniques :

Les manifestations musculo-squelettiques, ophtalmologiques et neurologiques sont les plus fréquemment décrites chez le cheval (130). Ces signes cliniques peuvent coexister ou, au contraire, se manifester indépendamment (88).

Les manifestations cliniques sont souvent récurrentes avec des périodes de rémission, ce qui serait comparable au Syndrome Post Lyme connu chez l'homme.

Dans une étude réalisée dans le Wisconsin, région de forte endémie, sur 83 chevaux séropositifs, 47 présentent une boiterie ou une raideur, 7 présentent des articulations gonflées, 6 ont manifesté un épisode fébrile, 8 ont subi une perte de poids chronique et 10 semblent en apparente bonne santé (30).

#### a- Manifestations générales :

Une réaction fébrile transitoire est parfois observée, généralement deux à trois jours avant l'apparition d'autres symptômes (105).

La maladie peut s'accompagner d'une perte de poids chronique malgré un appétit conservé, d'anorexie, d'asthénie, de dyspnée ou de fourbure (123).

Le cheval peut présenter une raideur généralisée associée à une myosite (123, 136).

#### b- Manifestations articulaires :

Les manifestations articulaires sont les plus fréquentes et les plus caractéristiques de cette borréliose (157).

Les chevaux atteints présentent une boiterie chronique intermittente pouvant affecter un ou plusieurs membres de façon concomitante ou successive (88). Dans ces cas particulièrement aigus, le cheval peut refuser de se déplacer et même de se lever (30-52). La palpation des articulations révèle une douleur, une chaleur et un gonflement important associé très fréquemment à un œdème du membre dans son ensemble (157). Une crépitation est parfois audible à la manipulation en flexion du membre (64). Les grosses articulations comme le carpe et le jarret sont le plus souvent atteintes. En l'absence de traitement approprié, ces arthrites estropiantes peuvent durer plusieurs mois, entrecoupés de périodes de rémission (157).

Le premier cas clinique est décrit en 1985, chez un poney femelle de douze ans atteinte de polyarthrite et vivant dans la région du Wisconsin où la maladie sévissait chez l'homme (32). L'animal est examiné pour boiterie chronique, distension bilatérale des carpes et présente une opacification de la cornée de l'œil gauche.

Le carpe gauche est enflé et douloureux depuis six mois, le carpe droit depuis un mois et l'opacification de la cornée date d'une semaine. Les deux carpes sont distendus par un excès modéré de liquide synovial légèrement hémorragique, riche en lymphocytes et en plasmocytes et par un épaississement de la membrane synoviale.

Des clichés radiographiques des carpes sont effectués (Figure 11). Ils mettent en évidence de nombreux ostéophytes, dont certains sont fracturés, des signes sévères de dégénérescence articulaire et confirment l'inflammation des tissus mous.

Par la suite, Cohen et al. (43) décrivent un cas de polyarthrite associée à un œdème des membres chez un cheval séropositif issu d'un foyer d'enzootie dans le New-Jersey (Etats-Unis).

En Colombie britannique, en 1987, un cas de boiterie chronique « migratrice », changeant de membre, est décrite chez un hongre de onze ans atteint de la maladie de Lyme. La même année, à proximité, une pouliche de trois mois présente une arthrite estropiante (123).



Figure 11 : Radiographie vue latéro-médiale du carpe droit, montrant les ostéophytes. Ponette âgée de douze ans (32).

En 1993, un Appaloosa hongre âgé de vingt ans, provenant de l'East Sussex (Grande Bretagne) présente une raideur des membres postérieurs, une distension de la gaine du tendon extenseur de l'antérieur gauche et deux semaines plus tard, un engorgement du jarret droit. Deux jours après le début du traitement, il est rapporté une distension bilatérale des jarrets et des grassets. Le cheval est raide des quatre membres, présente une boiterie du postérieur droit notée 4/10 puis 8/10 après le test de flexion (24).

Une recrudescence de boiteries a été décrite dans un élevage d'Appaloosas situé dans le Wisconsin (Etats-Unis), en région d'enzootie, au moment des mises bas chez les poulinières (31).

Dans un cas clinique britannique où les signes neurologiques et oculaires sont majeurs, une distension du récessus proximal de la gaine digitale des deux antérieurs et de la gaine des tendons fléchisseurs des postérieurs est rapportée (Figure 12) mais aucune boiterie n'est mentionnée (74).



Figure 12 : Distension du recessus proximal de la gaine digitale sur l'antérieur droit - Jument de huit ans (73).

En 2002, une ponette Haflinger de quatre ans, vivant au pré en France, est présentée en consultation pour hyperthermie (40°) et un œdème du jarret avec une boiterie marquée. Deux jours avant cet incident, une boiterie modérée d'un antérieur avait été constatée (126).

A l'examen statique, le jarret postérieur gauche est chaud et une distension des synoviales articulaires est observée. Les articulations des boulets présentent des molettes articulaires, surtout le postérieur gauche ; les autres articulations sont normales. La flexion passive du jarret est sensible. Au repos, le membre postérieur gauche est posé en pince.

La palpation - pression du membre postérieur gauche en partie distale, sous le jarret, est normale. Le test à la pince des pieds postérieurs est négatif.

A l'examen dynamique, une boiterie marquée de grade 4 du membre postérieur gauche est notée.

Des clichés radiographiques du jarret (latéromédial, dorsopalmaire et latéropiantaire/méiodorsale à 30°) et du boulet postérieur gauche sont réalisés. Aucune anomalie majeure n'est visible. Une échographie de l'articulation du tarse gauche met en évidence une distension de la synoviale et la présence de fibrine.

#### c- Manifestations neurologiques :

Les signes neurologiques associés à *B. burgdorferi* sont ceux d'une encéphalite et/ou d'une méningite avec dépression, dysphagie, changement de comportement (agressivité ou irritabilité), inclinaison de la tête et paralysie faciale (123,157).

Dans un cas clinique datant de 1986, un cheval de six ans provenant de la Crosse dans le Wisconsin, région de forte endémie, est présenté en consultation pour des signes neurologiques évoluant depuis une semaine et qui évoquent une encéphalite. Le tableau clinique est composé d'une abondante sudation provenant d'une marche ininterrompue, des yeux vitreux, d'une inclinaison de la tête, d'une paralysie flasque de la queue et de dysphagie. A cause des signes nerveux et de la prévalence de la rage dans cette région, le cheval est euthanasié. *B. burgdorferi* est mise en évidence par Burgess, à partir du cerveau de ce cheval, par immunofluorescence directe (33).

Hahn et al. (74) rapportent, en 1996 en Grande-Bretagne, un cas neurologique associé à une infection par *B. burgdorferi*. Une jument non gestante âgée de 8 ans est référée pour léthargie, anorexie, hyperthermie et ataxie avec des épisodes d'hyperesthésie de la tête, depuis trois semaines. Un traitement pour une méningite est mis en place. Cinq jours plus tard, aucune amélioration n'est notée. La jument est de nouveau référée pour un second épisode d'hyperthermie (40°C), tremblements et dépression.

Le lendemain, sans traitement administré, la jument a une température normale (37,3°C), avec amélioration de l'état général mais elle est incapable de baisser la tête pour boire ou manger sur le sol. Aucune douleur n'est mise en évidence après palpation et manipulation de l'encolure.

Des examens complémentaires sont effectués, dont des clichés radiographiques de la tête et des cervicales, mais ils ne révèlent aucune

anomalie osseuse ou tissulaire. Un traitement est instauré (tétracycline) mais vingt quatre heures après, une hyperthermie (38 à 39,8°) est notée. La jument est alerte et mange normalement. La température est de nouveau normale les jours suivants.

Seize jours après son hospitalisation, la jument est de plus en plus abattue. Les antibiotiques sont retirés, car il n'y a pas de réponse satisfaisante. Deux jours après, la jument commence une marche stéréotypique dans son box en alternance avec des phases immobiles dans un coin, la tête au mur. La dépression progresse vers la stupeur et le polygone de sustentation est anormal. Le lendemain, la jument ne réagit pas et est incapable de se lever malgré ses efforts. Elle devient soudainement extrêmement excitée et incontrôlable. L'euthanasie est alors décidée.

#### d- Manifestations oculaires :

La bactérie *B. burgdorferi* est susceptible de provoquer le développement d'une uvéite, de façon récurrente probable comme c'est le cas pour les leptospiroses (43). Des études réalisées aux Etats-Unis et en Allemagne montrent l'absence de corrélation entre le taux d'anticorps et le développement d'uvéites (68,103).

Le premier cas décrit par Burgess (la ponette déjà citée pour ses troubles articulaires) présente comme principales manifestations oculaires, une uvéite bilatérale sévère, une cataracte bilatérale et une kératite ulcéreuse unilatérale à gauche. Le réflexe de clignement à la menace est diminué (32).

A l'examen ophtalmique, Burgess note un œdème généralisé de la cornée, une hyperhémie conjonctivale, une injection épisclérale, une néo-vascularisation profonde périlimbale et superficielle de la cornée, un dépôt de fibrine sur l'iris et un myosis. Une cataracte importante empêche l'examen du fond d'œil. L'examen tonométrique met en évidence une hypotension bilatérale : 12 mm Hg à gauche et 18 mm Hg à droite (Normes = 28,6 +/- 4,8 mm Hg).

Chez la même jument précédemment évoquée pour ses troubles neurologiques, Hahn et al. (74) décrivent une uvéite aiguë bilatérale apparue quelques semaines après les premiers signes de la maladie. La jument est présentée pour un blépharospasme bilatéral aigu, une photophobie et un larmoiements excessif (Figure 13).

L'examen ophtalmique révèle un léger œdème cornéen bilatéral, un hypopion et un myosis. La réponse au traitement oculaire instauré est insuffisante et sept jours plus tard, la néo-vascularisation cornéenne formant un pannus en couronne est observable sur les deux yeux ainsi qu'une augmentation de l'hypopion. Le traitement est modifié, l'hypopion régresse et les pupilles se dilatent progressivement.



Figure 13 : Jument présentant un blépharospasme bilatéral aigu, une photophobie et un épiphora (74).

#### e- Manifestations cutanées :

Elles sont probablement assez fréquentes mais passent souvent inaperçues à cause du pelage de l'animal.

Une alopecie associée à une peau écailleuse, localisée aux régions des membres où des tiques ont été observées, a été décrite chez trois séropositifs (105).

Une hypersensibilité cutanée a été également observée chez un cheval en regard de zones de contractures musculaires associées à une infection à *B.burgdorferi* (123).

Ces lésions évoquent celles de l'érythème migrant observées chez l'homme.

De larges plaques d'urticaire indurées sur les deux flancs ont été décrites par Browning et al., sur le cheval Apaloosa cité pour ses troubles articulaires (24).

Une dermatite des parties blanches des extrémités des membres a été rapportée et attribuée à *B.burgdorferi*, sans que les autres causes de dermatite n'aient pu être écartées (43).

#### f- Manifestations cardiaques :

Une seule description fait état d'un trouble cardiaque, un souffle systolique de grade II, audible à gauche, associé à une infection par *B. burgdorferi* (24).

Dans le cas clinique de la ponette vivant en France, une tachycardie (60 battements/min) accompagnée d'un souffle systolique bilatéral est décrite (126).

Des troubles de la conduction sont suspectés mais aucune description précise n'est faite à ce sujet.

#### g- Troubles de la reproduction :

Dans une étude réalisée dans un élevage du Wisconsin, Burgess a suivi les campagnes de reproduction de sept juments infectées naturellement. Trois juments ont avorté ou fait l'objet d'une résorption embryonnaire, une a mis bas d'un poulain vivant qui ne s'est jamais levé, une jument a mis bas de jumeaux qui sont morts précocement et deux ont mis bas de poulains vivants, l'un d'eux ayant été euthanasié à l'âge d'un an suite à des problèmes neurologiques (31).

L'influence de la séropositivité sur le taux de résorption embryonnaire et sur le taux de conception a été étudié par Sorensen dans un haras du Kentucky (150). Un nombre anormal de résorptions embryonnaires a été observé par rapport aux années précédentes, la résorption embryonnaire précoce est significativement plus élevée dans le groupe de juments séropositives (47% (8/17)) que dans le groupe de juments séronégatives (18% (11/61)).

La prévalence de juments séropositives est plus élevée dans le groupe de juments qui n'ont pas été gestantes à l'issue de la première saillie (22% (11/51)), que dans le groupe de juments de même âge et élevées dans les mêmes conditions mais qui sont devenues gestantes à l'issue de la première saillie et qui ont maintenu une gestation pendant au moins 60 jours (16% (8/51)). Cependant, aucun rapport de cause à effet n'a pu être démontré entre la maladie de Lyme et la résorption embryonnaire ou l'échec de conception (61,150).

### 3- Pronostic :

La maladie de Lyme chez le cheval n'est pas connue comme étant une cause de mortalité. Cependant, la gravité des manifestations cliniques et l'impotence qu'elle provoque, peuvent conduire à envisager l'euthanasie du cheval.

Le pronostic de survie dépend de l'organe concerné, de la durée et de la sévérité de l'infection, et de la rapidité de mise en place d'un traitement.

Le pronostic sportif est souvent défavorable, en particulier dans les formes articulaires, les plus nombreuses, du fait de l'altération de la locomotion associée aux arthrites laissant des séquelles irréversibles.

### 4- Lésions

D'une façon générale, les tissus infectés par *B.burgdorferi*, que ce soit la peau, les membranes synoviales, les nerfs, les méninges ou les vaisseaux sanguins, présentent une infiltration de cellules mononuclées.

Les lésions articulaires sont constituées d'un épaissement, et d'une inflammation lymphocytaire des membranes synoviales associées à une prolifération des villosités synoviales (32,74). Ces lésions d'arthrite sérofibrineuse et de synovite sont identiques à celle décrites chez l'homme atteint des formes articulaires de la maladie de Lyme (31,43). L'érosion des surfaces articulaires et la prolifération d'ostéophytes sont similaires à celles observées lors d'arthrite rhumatoïde (64).

L'autopsie de la ponette examinée par Burgess, précédemment évoquée, a révélé, en plus des lésions articulaires, une inflammation chronique du corps ciliaire et de la choroïde, des plages d'atrophie et de décollement en périphérie de la portion ventrale de la rétine, une glomérulonéphrite membranoproliférative diffuse modérée, une gastrite lymphoplasmocytaire avec fibrose, une salpingite et une endométrite diffuse sévère (32).

A l'examen post-mortem de la jument présentant d'importants signes neurologiques, des nodules dans la dure-mère sont notés et sont comparés aux nodules granulomateux rencontrés chez l'homme lors de syphilis (74). (Figure 14)

Une néphrite subaiguë et des foyers de fibrose pulmonaire ont été mis en évidence lors de l'autopsie d'un autre équidé infecté par *B.burgdorferi* (64). Des lésions de glomérulonéphrite membranoproliférative ont été décrites à d'autres reprises chez le cheval, notamment chez des poulains nés de mères infectées (43,64). L'autopsie d'un poulain de six mois a révélé une prolifération cellulaire glomérulaire, une vacuolisation de l'épithélium tubulaire du cortex et de la médulla et une nécrose avec perte des noyaux des tubules du cortex (31).

Par ailleurs, des petits foyers hémorragiques sur l'endocarde, de nombreux foyers de prolifération cellulaire dans le myocarde, une congestion diffuse du foie avec dégénérescence des hépatocytes et des follicules spléniques actifs, ont été relevés (31).

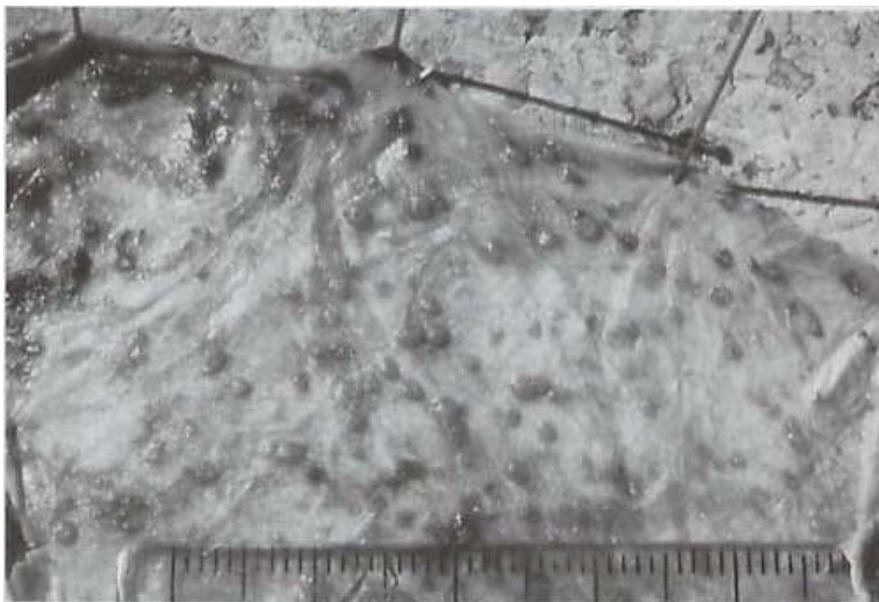


Figure 14 : Pièce de dissection de la dure-mère : de nombreux nodules méningés sont observés (74).



## IV – Pathogénie :

La pathogénie a été beaucoup étudiée, essentiellement chez l'homme, mais il subsiste encore de nombreuses zones d'ombre, notamment concernant les formes nerveuses ou le passage à la chronicité. On avance que la pathogénie pourrait résulter de mécanismes auto-immuns, en l'absence d'infection active, ce qui expliquerait la résistance de certaines formes au traitement antibiotique. D'autre part, les co-infections peuvent aggraver les lésions et prolonger la maladie (149). Chez les animaux, tout reste à découvrir, et on se fonde sur les mécanismes connus chez l'homme pour expliquer les lésions observées.

### A- Pouvoir pathogène expérimental :

De nombreuses espèces animales ont été utilisées mais leur sensibilité est variable : les infections expérimentales se font par inoculation intradermique, intraveineuse, intra péritonéale ou sous cutanée de sang ou de broyats d'organes contaminés ou bien par piqûre par un arthropode infecté. Les animaux utilisés le plus couramment sont le hamster syrien, la souris, le lapin, le singe Rhésus, le cobaye, le chien ou le rat (63, 149).

Le lapin développe lors d'infection par voie intradermique une papule érythémateuse entourée d'un bourrelet rouge foncé et contenant des spirochètes (révélés par biopsie). Le hamster irradié présente des arthrites et des signes nerveux à la suite d'une infection avec des bactéries vivantes. La souris inoculée exprime des lésions multiples (cerveau, cœur, poumons, rein, foie, rate) rappelant certaines lésions chez l'homme (63).

Les spirochètémies observées sont de très longue durée, avec des pics successifs, et la longue persistance dans les organes suggère des variations antigéniques importantes de *B. burgdorferi* (63).

Les travaux *in vitro* ont apporté également beaucoup de renseignements sur les tropismes, les sensibilités aux agents chimiques (notamment les cytokines), ou la perte de pathogénie au cours des cultures.

Des études sur la souris ont montré que la susceptibilité à l'arthrite est fonction de l'âge et du génotype : *B. burgdorferi* inoculé à l'âge de 3 jours par voie intrapéritonéale déclenche une arthrite chez les souches C3H/He, SWR, C57BL/6, SJL et BALB/c ; en revanche, si l'inoculation a lieu à 3 semaines, seules les souches C3H et SWR développent une arthrite sévère. Le taux d'anticorps IgG est plus élevé pour les souches les plus sensibles et la dissémination semble plus rapide (149).

Ces sensibilités variables amènent les auteurs à penser que les lymphocytes T jouent un rôle critique dans la pathogénie des arthrites de Lyme, d'autant que les études sur le hamster irradié montrent que la déplétion en lymphocytes CD4+ diminue de manière significative la sévérité de l'arthrite. D'autre part, il semble que le ratio Th1/Th2 influe sur le type d'infection et sa sévérité (148,149). Une réponse de type Th1 est prédominante localement au niveau articulaire, le ratio Th1/Th2 étant proportionnel à la sévérité de l'arthrite. Les cytokines produites par les

lymphocytes Th1 sont probablement impliquées dans la pathogénie de l'arthrite. Ce profil Th1/Th2 est induit par différentes molécules, notamment les cytokines IL-12 et certains cofacteurs comme B7-1 (CD80) ou B7-2 (CD86). D'autres cytokines pro-inflammatoires comme le  $\text{TNF}\alpha$ , IL-1, IL-6 ou IL-8, sont sécrétées en présence de lipoprotéines de *B. burgdorferi*.

Les macrophages jouent également un rôle important en recrutant et en activant les lymphocytes T (Figure 15). Les fibrocytes ont aussi un rôle de présentation des antigènes, de recrutement et d'activation des lymphocytes T CD4+. Cependant, les spirochètes se logeraient dans des invaginations de membrane cellulaire, ce qui les protégerait de la réponse immunitaire (65, 120,149,166). Un mécanisme similaire de mimétisme a été décrit : les bactéries s'enrouleraient avec des fragments de membranes de lymphocytes lysés, ce qui les protégerait des réponses à médiation humorale et cellulaire (55).

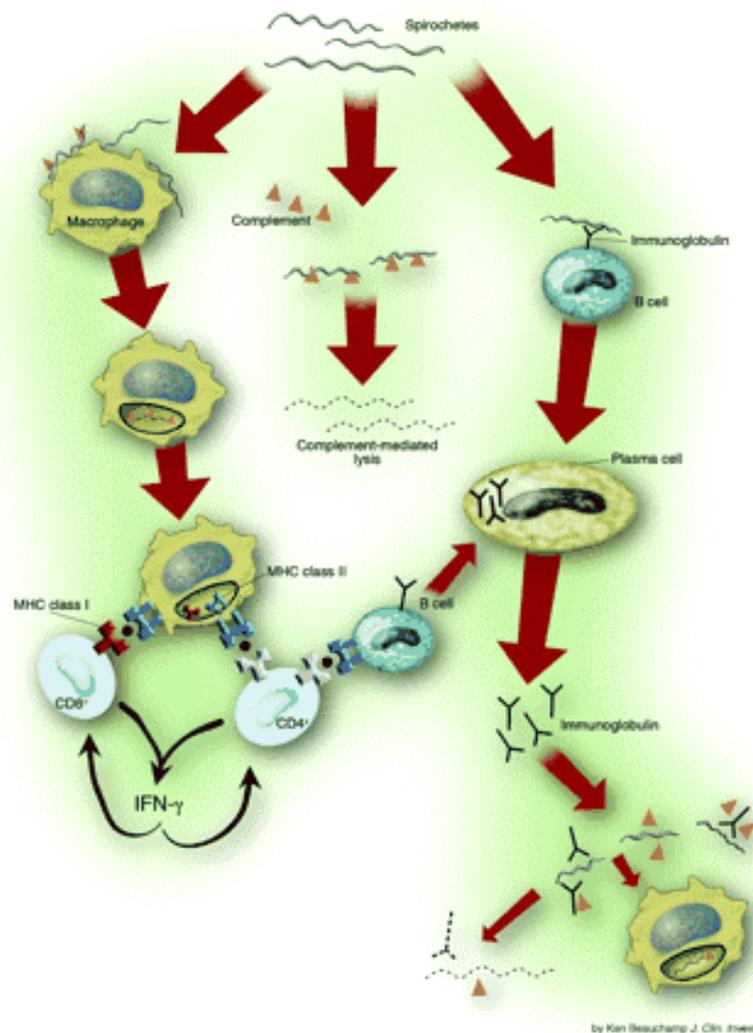


Figure 15 : Mécanismes de défenses de l'organisme mis en jeu lors d'infection par le spirochète (155)

## B- Pouvoir pathogène naturel :

Nous allons procéder à son étude de manière chronologique depuis les transformations dans l'intestin de la tique jusqu'à la réponse immunitaire déclenchée chez l'hôte.

### 1- La colonisation du vecteur :

Les spirochètes pénètrent dans la tique au cours du repas sanguin, en général 24h après le début du repas chez les larves et les nymphes. Le repas durant environ 96h en moyenne, le nombre de bactéries augmente au cours du reste du repas, par entrée continue et par multiplication au sein de l'intestin de la tique (122).

*B. burgdorferi* doit à présent survivre dans ce milieu, sans être digérée au cours du repas sanguin, résister aux écarts de température au sein de la tique (poïkilotherme) et également aux périodes où la tique ne se nourrit pas et entre en métabolisme ralenti (122).

Le mécanisme de régulation génétique de l'expression des protéines de surface semble jouer un rôle essentiel dans la survie de la bactérie et sa capacité à infecter l'hôte.

En effet, de nombreuses études ont montré que l'expression d'OspA était très importante *in vitro* et au sein de la tique, durant tout le repas sanguin, et également lorsque la tique est à jeun (69). L'agrégation des bactéries *in vitro*, et *in vivo* dans l'intestin de la tique est due à cette protéine. Elle agit comme ligand pour les cellules digestives de l'intestin de la tique. On peut supposer que cet attachement lui permet d'éviter la digestion intracellulaire par endocytose au cours du repas sanguin (3).

D'autre part, OspA se lie au plasminogène ingéré au cours du repas sanguin suivant, ce qui lui permet de traverser la barrière digestive de la tique par acquisition d'un pouvoir protéolytique extracellulaire, et de coloniser les glandes salivaires (93,120,149).

C'est l'expression d'OspA dans l'intestin de la tique qui est exploitée par le vaccin utilisé en médecine humaine contre la maladie de Lyme. En effet, la tique est contaminée au cours d'un premier repas sanguin sur un hôte infecté, puis les anticorps anti-OspA pénètrent dans l'intestin de la tique au cours du second repas sur l'hôte vacciné et empêchent la fixation des *Borrelia* sur la paroi de l'intestin, et donc l'infection de l'hôte par la bactérie via la salive de la tique.

Au sein de l'intestin de la tique, intervient un mécanisme d'adaptation de *B. burgdorferi* par le biais du complément de l'hôte. En effet, des études ont montré que certaines souches de *B. burgdorferi* s.l. différaient dans leur résistance et leur sensibilité au sérum humain (93).

Des études ont montré que la résistance est permise par la liaison de protéines de surface de la bactérie (les Erp dont OspE et OspF) et de 2 protéines de contrôle du complément de l'hôte (factor H-like protein-1/reconnectin et factor H) (92). Cette liaison permet d'empêcher la formation du complexe d'attaque membranaire, et donc de lyse de la cellule (93). *B.burgdorferi* synthétise plusieurs Erp, ce qui permet d'avoir une affinité avec le complément d'un grand nombre d'hôtes.

Ce mécanisme est un des nombreux exemples d'échappement à la réponse immune développé par *B.burgdorferi*.

D'autre part, le plasmide portant le gène OspE est issu du génome d'un bactériophage, ce qui pourrait expliquer une diversification évolutive de *B.burgdorferi* par ce biais.

Enfin, certaines bactéries du genre *Borrelia* sont sensibles au complément d'une espèce particulière et sont tuées dans l'intestin de la tique, ce qui explique une certaine spécificité d'espèce. Par exemple, seule *B.burgdorferi sensu stricto* est résistante, partiellement, au complément issu de sérum équin, ovin ou bovin. *B.garinii*, *B.burgdorferi sensu stricto* et *B.valaisiana* sont les seules résistantes au complément issu de sérum aviaire.

## 2- Le passage du vecteur à l'hôte :

La bactérie passe de la tique à l'hôte au cours du repas sanguin suivant, après avoir colonisé les glandes salivaires. La migration est déclenchée par différents facteurs chimiques, le contact direct du sang de l'hôte, et des facteurs physiques : l'augmentation de la température au cours du repas sanguin de 23 à 37°C, la baisse de pH au sein de l'intestin de la tique de 7,4 à 6,8 ou encore l'augmentation de densité cellulaire due à la multiplication active de la bactérie pendant le repas sanguin (11,69,122,128).

Ces facteurs vont diminuer la synthèse d'OspA au profit de celle d'OspC par un mécanisme encore inconnu, ce qui permet à la bactérie de migrer à travers l'épithélium digestif puis via l'hémolymphe jusqu'aux glandes salivaires. Des facteurs chimiques sécrétés au cours de la digestion dans l'intestin de la tique joueraient un rôle dans cette régulation de l'expression des gènes OspA et OspC.

Il a été avancé que la diminution de synthèse d'OspA serait liée à la place de l'opéron OspAB sur un plasmide circulaire en continuité des gènes pour la GMP synthétase et l'IMP déshydrogénase, enzymes impliquées dans le métabolisme de la guanine ; or l'intestin de la tique est un milieu riche en guanine alors que le milieu de l'hôte ne l'est pas (149) (Figure 16).

Les mécanismes de régulation de l'expression des gènes in vivo sont complexes et pour le moment assez peu connus. Le séquençage du génome a montré étonnamment peu de gènes de régulation connus chez les eubactéries. Les études réalisées sur microréseaux (puces à ADN) n'ont pas montré de preuves significatives de changements dans l'expression de ces gènes de régulation. On pense que des variations minimales dans la transcription de ces gènes entraînent via une cascade d'activation, une large

production de lipoprotéines, par exemple RpoN, une sous-unité sigma régulée par un mécanisme post-transcriptionnel, qui contrôle l'expression de RpoS, qui lui-même régule la transcription de lipoprotéines comme OspC, OspF, Mlp-8 et DbpA.

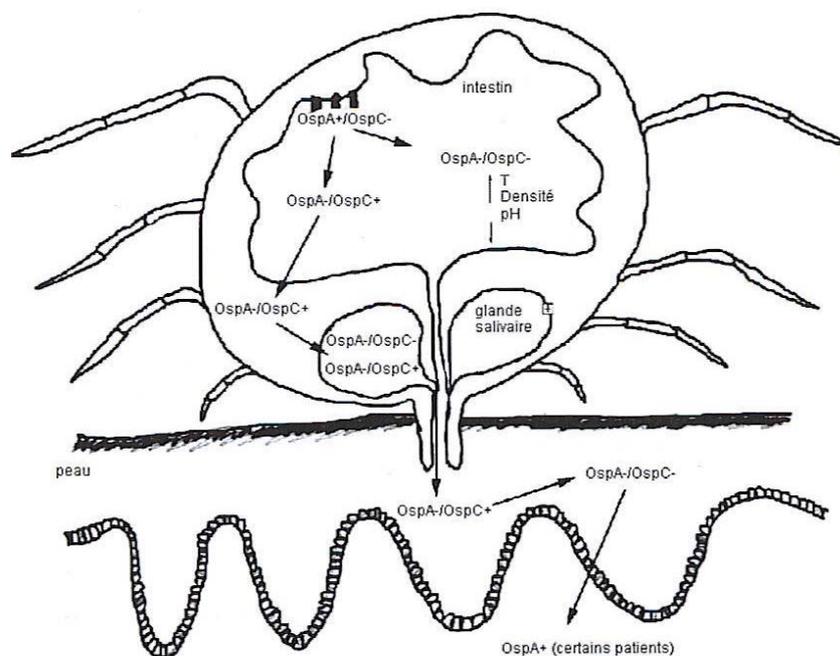


Figure 16 : Expression des protéines de surface de *B. burgdorferi* lors de l'infestation de l'hôte (3)

Chez une nymphe, la migration vers les glandes salivaires s'étale sur plusieurs jours avec une concentration maximum de *Borrelia* dans la salive 72h après le début du repas. On a montré récemment que les extraits de glandes salivaires déclenchaient la migration des Spirochètes par chimiotactisme (122,147).

C'est à partir de ce moment que les spirochètes deviennent infectieux (128). Il a été montré que la réponse immunitaire de la tique peut influencer sur le cycle de *Borrelia burgdorferi* en le favorisant ou en l'inhibant. Chez *Dermacentor variabilis* par exemple, qui ne transmet pas la bactérie, on a retrouvé dans l'hémolymphe des peptides antimicrobiens, et l'inoculation de *Borrelia* ne permet pas la survie chez cette espèce (122).

### 3- Colonisation de l'hôte :

L'inoculation par la tique permet la transmission des Spirochètes dans le derme de l'hôte. La salive de la tique est un milieu privilégié pour *B. burgdorferi* car elle contient des molécules immunomodulatrices responsables de l'inactivation du complément de l'hôte, l'inhibition de la fonction phagocytaire, la diminution de la production locale de cytokines, ce qui supprime la résistance à l'infection et l'inhibition de la coagulation. Une protéine isolée récemment de la salive d'*Ixodes scapularis*, Salp-15, a permis de diminuer la réponse des LT CD4+ (122,149).

A partir de l'inoculation, *Borrelia* reste plusieurs jours dans la peau avant de coloniser les autres organes. Elle se déplace en « nageant » au sein de la matrice extracellulaire, de manière centrifuge, ce qui explique l'apparition de l'érythème chronique migrant. Ces mouvements sont permis par une activité collagénase, et surtout par la liaison au plasminogène qui lui confère une activité protéolytique sur la matrice et lui permet de se disséminer au sein des tissus en empêchant l'immobilisation par la fibrine. OspA ainsi qu'OspB selon certaines études sont identifiés comme ligand du plasminogène (120,122,149). Le potentiel d'attachement aux composants de la matrice extracellulaire est très vaste. On a montré *in vitro* que *Borrelia burgdorferi* se lie aux protéoglycanes (héparine, héparane sulfate, dermatane sulfate), au collagène (grâce aux décorines DbpA, DbpB et BBK 32), aux glycosaminoglycanes et à la fibronectine. Ces capacités lui permettent également la dissémination par attachement aux cellules et déterminent son tropisme : l'héparane sulfate est présent sur les cellules endothéliales et gliales, le dermatane sulfate sur les cellules gliales, les intégrines  $\alpha$ IIb et  $\beta$ 3 la lient aux plaquettes, le dextrane est présent sur les globules rouges (120,149).

L'adhésion aux cellules sanguines assure le rôle important de la dissémination au sein de l'hôte, qui est très large chez *B. burgdorferi*; on remarque que les souches non pathogènes ne se lient pas aux plaquettes.

Ces phénomènes de liaison ont également un rôle dans la persistance de l'infection. En effet, un petit nombre de bactéries (de 1 à 10), persiste au site de morsure et se multiplie, ce qui entretient l'infection chronique. L'attachement aux molécules de la matrice extracellulaire permettrait de masquer la reconnaissance du spirochète par le système immunitaire (122).

### 4- Echappement à la réponse immunitaire :

Comme nous avons pu le constater, *B. burgdorferi* a développé de nombreux mécanismes d'échappement à la réponse immunitaire.

#### a- Variation antigénique : (3,120,122,128)

Un des principaux mécanismes connus est la variation antigénique des protéines VisE :

Ce mécanisme, qui était déjà connu chez d'autres *Borrelia* impliquées dans les fièvres récurrentes ou chez *Neisseria gonorrhoeae*, implique le gène Vls pour VMP-like sequence, dont le locus se trouve sur le plasmide linéaire lp28-1, ainsi que 15 copies silencieuses en amont du site. La protéine VisE est une protéine de surface de 34 kDa, comprenant 2 régions invariables et un domaine interne variable composé de 6 régions variables et de 6 régions invariables. L'étude de la structure cristalline de VisE a montré que les régions variables correspondent aux domaines exposés à la surface et donc au système immunitaire. Les recombinaisons entre les diverses copies silencieuses Vls assurent la variabilité de la séquence d'où une variation antigénique.

Il a été montré que les cascades provoquées par l'IFN $\gamma$  influent sur la recombinaison génétique de Vls et donc génèrent une population diversifiée de spirochètes échappant ainsi à la réponse immune de l'hôte. Ces observations corroborent le fait que ce phénomène ne se produise qu'*in vivo* et à plus haute fréquence chez les souris dont le système immunitaire est intact.

L'échappement au système du complément s'effectue grâce aux Erp ou OspE et OspF par liaison aux protéines H de contrôle. Il semblerait qu'un mécanisme de recombinaison intervienne également au sein de la famille mais d'autres études le contredisent.

Ces recombinaisons génétiques sont sous l'influence de différents facteurs : physiques (température, pH, densité cellulaire), chimiques (facteurs environnementaux), mais également dépendants de la pression immunitaire de l'hôte.

#### b- Immunomodulation : (120,122,148,149)

La maladie de Lyme est caractérisée cliniquement et histologiquement par des réactions inflammatoires très développées compte tenu du nombre de spirochètes impliqués. *B. burgdorferi* semble contrôler la sécrétion d'un grand nombre de cytokines impliquées dans la réponse immune, notamment le TNF $\alpha$ , l'IFN $\gamma$ , les interleukines (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12). Ces phénomènes orientent la réponse Th1/Th2 comme nous l'avons vu en étudiant le pouvoir pathogène expérimental.

*B. burgdorferi* provoque l'agrégation des monocytes et la synthèse des cytokines, induite par la liaison de lipoprotéines de surface de *Borrelia burgdorferi* avec le récepteur TLR2 (Toll-like receptor 2), ce qui déclenche une translocation nucléaire de NF- $\chi$ B. Cette réponse inflammatoire est potentialisée par le CD-14 (corécepteur du LPS).

Ces cytokines permettent l'activation des cellules endothéliales, macrophages, neutrophiles et lymphocytes B. L'IL-8 attire et active les lymphocytes, ce qui contribue à l'inflammation et aux dégâts des tissus de l'hôte. Par contre, les cytokines n'ont pas d'effet toxique sur *B. burgdorferi*, et ne modifient pas l'expression des protéines de surface.

Un autre effet local est l'immunosuppression dans la peau par inhibition de l'expression du complexe majeur d'histocompatibilité des cellules de Langerhans, notamment dans le cadre des lésions d'acrodermatite chronique atrophiante ou lors d'érythème migrant (81).

Les co-infections par d'autres pathogènes transmis par les tiques ou non, comme les *Babesia* ou *Ehrlichia* peuvent expliquer certains cas de maladie de Lyme chronique résistants aux antibiotiques.

### c- Mécanismes divers

Quelques études ont souligné des propriétés particulières de *B. burgdorferi* comme sa capacité à se passer physiologiquement de fer pour sa croissance et sa survie. Or les enzymes contenant du fer sont des cibles bien connues pour les défenses oxydatives de l'hôte contre les pathogènes (122).

Un autre moyen d'échappement est assuré par mimétisme moléculaire. On a vu précédemment que *Borrelia* se liait aux molécules de l'hôte pour assurer sa survie ; certaines protéines de membrane empêchent l'accès des anticorps à leur site de reconnaissance. C'est le cas notamment pour la protéine p66, qui est accessible en l'absence d'OspA, et détruite par les protéases ; mais si OspA protéase-résistante est exprimée, les anticorps anti-p66 sont sans effet (122).

Enfin, les formes de survie de *B. burgdorferi* comme les sphéroplast, formes cystiques ou « blebs » métaboliquement inactives pourraient être à l'origine du maintien de l'infection dans les formes chroniques, avec stimulation antigénique continue (166).

## 5- Mécanismes auto-immuns ?

La persistance de la maladie de Lyme chronique dans les cas de neuroborréliose ou de synovite chronique, l'inefficacité des traitements antibiotiques et les sérologies négatives avec signes cliniques évidents dans certains cas, ont souvent soulevé la question de mécanismes auto-immuns. Des analogies de structure entre OspA et hLFA-1 présents à la surface des leucocytes humains (CMHII) sur un motif de 9 acides aminés ont été montrées, et pourraient expliquer la formation d'auto-anticorps dans les synoviales, responsables d'une réaction lymphocytaire spécifique intra-articulaire (154).

Cependant, cette théorie a des faiblesses :

- Cette homologie n'est valable que pour *B. burgdorferi sensu stricto*, or des arthrites chroniques peuvent survenir chez d'autres espèces ;
- hLFA-1 étant distribuée dans l'ensemble de l'organisme, on ne peut expliquer la localisation articulaire ;
- Ce phénomène de mimétisme moléculaire est assez banal et insuffisant à expliquer une maladie auto-immune ;

- Cette réaction auto-immune rétrocede après synovectomie ;
- Elle s'interrompt en général au bout de 4-5 ans, ce qui n'est jamais le cas des maladies auto-immunes (148).

D'autres part, on a trouvé chez des patients atteints de neuroborréliose des anticorps dirigés contre les axones. Ces IgM sont dirigés contre la flagelline de *B. burgdorferi* et contre une protéine de choc thermique HSP60 présente dans les neurones. Ces réactions peuvent suggérer un mécanisme auto-immun comme une simple réaction auto-immune post-infectieuse (149).

Quelques études ont fait mention de chocs toxiques chez des patients atteints de Borréiiose de Lyme, par une activité super-antigène. Un super-antigène est un produit viral ou bactérien dérivé directement des marqueurs CMH classe II d'une famille de lymphocytes T, stimulant ainsi de nombreux lymphocytes T dans un contexte non spécifique. On parle aussi de facteurs activateurs des lymphocytes B chez *B. burgdorferi* (149).

## 6- Pouvoir toxique :

*B. burgdorferi* peut présenter une activité hémolytique. On lui connaît également un pouvoir neurotoxique concernant une souche : *B. burgdorferi Bbtox1*, pouvant expliquer des cas d'encéphalopathie (166). Enfin, on a mis récemment en évidence une protéase CtpA (65).

Cette étude approfondie de la pathogénie montre le pouvoir adaptatif de *B.burgdorferi*, qui repose sur : une variabilité antigénique importante qui permet d'échapper aux défenses de l'hôte, la synthèse de facteurs de la réponse immune lui assurant un contrôle de la réaction immunitaire, la possibilité de se disséminer et de se cacher (par mimétisme ou par phagocytose) au sein de l'hôte ...

De plus, la réaction immune est démesurée et provoque une partie du tableau lésionnel avec des mécanismes auto-immuns suspectés.

Ces propriétés lui confèrent une grande résistance chez l'hôte et rendent difficiles d'une part le diagnostic et d'autre part le traitement de la maladie de Lyme.



## **V – Diagnostic de la borréliose de Lyme :**

La borréliose de Lyme est une maladie dont le diagnostic repose la plupart du temps sur un ensemble clinique, épidémiologique et biologique. Le diagnostic biologique vient confirmer une suspicion mais en aucun cas affirmer un diagnostic improbable sur le plan clinique ou épidémiologique.

Chez l'homme, le diagnostic clinique est très difficile car il s'agit d'une maladie dont les manifestations cliniques sont multiples, variées et inconstantes. Les commémoratifs sont souvent importants. Toute notion de morsure de tiques doit faire soupçonner la maladie de Lyme. Le diagnostic sera fonction du stade de la maladie. L'érythème migrant est la lésion pathognomonique de la borréliose de Lyme. Le diagnostic différentiel est surtout posé par rapport aux dermatophytoses et autres lésions mycosiques cutanées, au zona et à l'érysipèle (20).

Chez le cheval, le diagnostic clinique est encore plus difficile, parfois impossible. La grande diversité de signes cliniques ou leur absence fait que la maladie est souvent sous diagnostiquée. La maladie de Lyme doit désormais intervenir dans le diagnostic différentiel des manifestations articulaires, des signes nerveux et des uvéites bilatérales. L'apparition soudaine d'une boiterie avec oligoarthritis migrante est à considérer comme un signe clinique caractéristique mais non exclusif. La borréliose de Lyme peut aussi être soupçonnée dans des problèmes chroniques, par exemple les arthrites chroniques ou une perte de poids inexplicée..., après élimination des autres causes plus évidentes.

Le recours au laboratoire s'avère donc indispensable si l'on veut confirmer un diagnostic clinique de maladie de Lyme.

### **A- Mesures de sécurité dans les laboratoires et prélèvements.**

#### **1- Mesures de sécurité :**

La possibilité de transmission directe, sans morsure d'arthropode, par l'intermédiaire des urines des hôtes naturels infectés, a été démontrée chez l'animal, jamais chez l'homme (29).

Le risque de contamination au laboratoire est donc très limité. Aucun cas n'a été déclaré jusqu'à présent. Cependant le manque de recul empêche d'exclure formellement tout risque encouru par le personnel de laboratoire.

Une pénétration du germe à travers la peau ou les muqueuses, comme c'est le cas pour les *Borrelia* des fièvres récurrentes, peut être envisagée. La manipulation de sang infecté, de cultures virulentes, d'animaux contaminés ou de tiques infectées constitue un risque potentiel non négligeable. Il convient

donc d'être prudent et de respecter un certain nombre de règles lors des manipulations de laboratoire (8).

*B. burgdorferi* peut être rangée dans le groupe 2 de la classification de la Commission des Communautés Européennes : il s'agit d'un germe possédant un pouvoir pathogène, c'est-à-dire pouvant provoquer une maladie humaine. De ce fait il peut constituer un danger pour les manipulateurs, mais il est improbable qu'il puisse contaminer la collectivité.

La maladie de Lyme est inscrite au tableau des maladies professionnelles agricoles (Décret n°88-89 du 22/01/1988. J.O. du 28/01/1988).

Il s'agit d'une maladie infectieuse dont la déclaration n'est pas obligatoire.

## 2- Collecte des prélèvements :

### a- Prélèvements bactériologiques :

Il est préférable d'effectuer les prélèvements destinés à la bactériologie avant tout traitement antibiotique bien que certains isollements aient été faits alors que le malade était déjà sous antibiothérapie.

La qualité des prélèvements entre pour une grande part dans les chances d'isolement du germe. Les prélèvements bactériologiques doivent être mis en culture en milieu approprié dans les délais les plus brefs.

**Les prélèvements de sang veineux** se font dans les conditions habituelles d'asepsie, et le sang est récolté dans un tube citraté ou mieux hépariné. La survie des *Borrelia* a été démontrée dans le sang citraté pendant 25 jours à 4°C, il est cependant souhaitable de procéder à l'ensemencement le plus rapidement possible. Les chances d'isolement sont d'autant plus grandes que le prélèvement est effectué en phase primaire de la maladie, le plus tôt possible après l'apparition des signes cliniques et quand il existe des manifestations systémiques.

**Les prélèvements cutanés** peuvent être effectués en cas d'érythème cutané migrant. On pratiquera une biopsie à la périphérie de la lésion où les germes sont les plus nombreux. Il est également possible de prélever le transsudat obtenu après le grattage au scalpel de la lésion cutanée, mais les résultats sont généralement décevants.

Des prélèvements biopsiques peuvent aussi être pratiqués sur une lésion d'acrodermatite chronique ou de lymphocytome.

**Le liquide céphalo-rachidien** est ponctionné stérilement lorsqu'il existe des manifestations neurologiques, méningées ou méningo-encéphaliques. Une partie du liquide sera mise en culture et l'autre utilisée pour une analyse sérologique.

**Le liquide synovial** en cas d'épanchement articulaire, sera recueilli stérilement sur un tube hépariné ou citraté.

**Les urines** sont recueillies stérilement et conservées à 4°C avant l'ensemencement. La culture des urines est le plus souvent négative, cependant la recherche d'anticorps y est possible.

#### b- Prélèvements pour la sérologie :

Le sang est recueilli par ponction veineuse dans un tube sec. Après rétraction du caillot, le sérum est récupéré et conservé à 4°C ou à -20°C si le délai avant l'étude risque d'être plus long.

Deux prélèvements à environ 15 jours d'intervalle sont toujours souhaitables.

En cas d'antibiothérapie, la réponse sérologique risque d'être perturbée ; il est alors recommandé de répéter les analyses.

Une fiche de renseignements cliniques et épidémiologiques accompagne toute demande d'examen, permettant une meilleure interprétation des résultats.

## B- Signes biologiques et histologiques non spécifiques.

### 1- Analyse sanguine :

Les tests hématologiques et biochimiques ne révèlent généralement aucune anomalie que ce soit en médecine humaine ou vétérinaire.

Les paramètres classiques d'un processus inflammatoire peuvent être augmentés mais ne constituent pas un élément diagnostique spécifique. La vitesse de sédimentation peut être élevée. Une augmentation des globulines sériques, en particulier des  $\beta_2$  et des  $\gamma$  globulines est mise en évidence par l'électrophorèse des protéines. Une augmentation du fibrinogène est aussi rapportée (26).

On peut également noter une leucocytose avec neutrophilie (26, 32, 74, 126). Sont parfois observées quelques atteintes hépatiques cytolytiques discrètes avec augmentation des transaminases hépatiques, ALAT et ASAT. Une étude a décrit cette augmentation chez deux poneys sur six infectés expérimentalement (43).

Lors d'arthrites, des cryoglobulines sont souvent présentes (9).

Les tests des facteurs rhumatoïdes ou des anticorps antinucléaires sont souvent négatifs (70).

Ces modifications ne sont pas systématiques ni spécifiques.

### 2- Analyse du liquide céphalo-rachidien :

Chez l'homme, dans les cas de neuroborréliose aiguë, on observe une pléiocytose puis une hyperleucocytose modérée à prédominance mononucléée. Le LCR présente un aspect clair. La concentration protéique est généralement augmentée: 0,7 g/l (N = 0,2 à 0,5 g/l avec une moyenne de 0,35 g/l). La production d'IgG ou d'IgM intrathécale peut également aider au diagnostic.

Pour les cas chroniques, on trouve très fréquemment la production d'anticorps intrathécale. C'est un des meilleurs critères de différenciation de la sclérose en plaque. Par contre, les cas de polyneuropathie chronique présentent des analyses de LCR normales.

### 3- Analyse du liquide synovial :

Chez l'homme, l'analyse montre une augmentation de la lignée blanche comprise entre 500 et 110 000 cellules par  $\text{mm}^3$ , en moyenne  $25000/\text{mm}^3$  ( $N < 200/\text{mm}^3$ ). La concentration protéique se situe entre 30 et 80 g/l ( $N = 15$  à 30 g/l).

Chez le cheval, les leucocytes et plus particulièrement les granulocytes polynucléaires, sont également en plus grand nombre : 500 à  $110000/\text{mm}^3$  (122). Les taux de protéines et de fibrine sont augmentés. La concentration en glucose du liquide synovial est normale ou légèrement diminuée (43). Le liquide synovial est légèrement hémorragique (123).

### 4- Histologie :

Chez l'homme, l'érythème migrant est en général non spécifique, avec une infiltration périvasculaire par des lymphocytes ou des plasmocytes. On l'utilise dans les cas atypiques pour différencier d'autres affections dont l'histologie est plus caractéristique. Le lymphocytome borrélien est dominé par une infiltration lymphocytaire du derme, avec parfois des plasmocytes, macrophages, éosinophiles. Il est parfois difficile de le différencier d'une lésion de maladie de Hodgkin. L'acrodermatite chronique atrophiante est caractérisée par une infiltration lymphocytaire du derme et du tissu sous-cutané. Son histologie n'est pas caractéristique mais peut aider au diagnostic (81).

Chez le cheval, d'une façon générale, les tissus infectés par *B. burgdorferi* (examen direct et/ou PCR positif) sont le plus souvent : la peau, les nœuds lymphatiques pré-scapulaires, les muscles, les vaisseaux sanguins et les membranes synoviales. Ils présentent également une infiltration de cellules mononucléées.



Figure 17 : Coupe histologique de la membrane synoviale du carpe de la ponette (32) montrant une inflammation lymphocytaire des membranes synoviales associée à une prolifération des villosités synoviales.

## C- Diagnostic biologique spécifique :

Au laboratoire, la maladie de Lyme peut être confirmée par l'isolement ou la détection de l'agent étiologique, *B.burgdorferi* (diagnostic biologique direct), ou par des titres significatifs d'anticorps spécifiques anti-spirochètes (diagnostic biologique indirect).

### 1- Méthodes directes :

Elles sont beaucoup moins utilisées que le diagnostic indirect : c'est pourtant le seul diagnostic de certitude. Malgré la complexité de fabrication et d'utilisation des milieux de culture et leur très faible rendement, l'isolement doit quand même être tenté.

#### a- Examen direct :

Le diagnostic direct consiste en l'observation ou en la démonstration de la présence *Borrelia* dans les liquides pathologiques (sang (non coagulé), liquide synovial, liquide céphalo-rachidien, urine, colostrum), les organes internes (foie, rate, moelle osseuse, œil) ou superficiels (peau, surtout chez l'homme).

Le choix des prélèvements dépend des circonstances et des manifestations cliniques.

L'observation directe est utilisée pour contrôler les cultures ou détecter les spirochètes dans les tiques.

#### - Examen en microscopie à fond noir et au contraste de phase.

Les *Borrelia* sont irrégulièrement enroulées, les spires sont nettement visibles à l'objectif x25. Elles se déplacent lentement dans le champ et sont animées de lents mouvements de rotation. Leurs extrémités sont droites. Comparativement, les leptospires et les tréponèmes ont des spires serrées invisibles ; les leptospires ont des extrémités respectivement recourbées en microscopie optique et effilées.

#### - La coloration de Gram :

Bien que les *Borrelia* soient Gram négatif, cette coloration manque de sensibilité et n'est pas utilisée en pratique.

#### - La coloration de Giemsa :

Elle donne de bons résultats ; les *Borrelia* apparaissent en violet sur fond rose.

#### - L'imprégnation argentique : (Figure 18)

On l'utilise pour mettre en évidence des spirochètes dans les prélèvements biopsiques. La bactérie a été observée, avec une telle technique, sur une coupe histologique de la chambre antérieure de l'œil d'une ponette (32).

- La coloration argentique modifiée de Bosma-Steiner :

Elle consiste, après avoir fixé les tissus par le formol, à les traiter par l'amylase avant l'immersion dans le nitrate d'argent. Cette technique augmenterait la sensibilité de détection histologique en offrant un meilleur contraste entre les spirochètes et le fond des préparations.

La coloration est une méthode rapide mais la lecture est délicate (faux positifs) et la sensibilité mauvaise (faible inoculum) (85).

La recherche de *Borrelia* dans les produits pathologiques est possible par des techniques d'immunofluorescence directe.

En 1986-87, Burgess et al. effectuent les premiers diagnostics de maladie de Lyme en mettant en évidence par immunofluorescence *B.burgdorferi* sur un prélèvement de la chambre antérieure des yeux après euthanasie de l'animal (32) et à partir du cerveau d'un cheval qui présentait des troubles nerveux évoquant une encéphalite (33).



Figure 18 : *B.burgdorferi* par immunofluorescence sur le prélèvement de la chambre antérieure de l'œil gauche d'une ponette (32).

Les différentes techniques de mise en évidence de *Borrelia* par examen direct dans les produits pathologiques donne des résultats très variables selon les auteurs.

Il faut retenir que d'une façon générale, les *Borrelia* sont rarement observées dans les tissus et, quand elles sont présentes, elles le sont en petit nombre. Sur les biopsies cutanées, les germes sont le plus souvent observés à la périphérie des lésions. L'observation de *Borrelia* dans le sang ou le LCR est rare, de même qu'à partir de biopsie synoviale.

b- Culture :

*B.burgdorferi* est très difficile à cultiver et ce sont les laboratoires spécialisés qui s'en chargent.

L'isolement de la bactérie est possible mais délicat et peut demander plusieurs semaines. Les essais d'isolement de *B. burgdorferi* ne sont donc pas fréquents. Les *Borrelia* ont des besoins nutritifs complexes, ce qui rend leur culture *in vitro* délicate. Ces bactéries ne sont jamais retrouvées libres dans le milieu extérieur. Le milieu de culture employé pour les *Borrelia* est le milieu BSK II (12).

Le milieu BSK II, plus complexe que les milieux pour les cultures de cellules, permet la croissance à partir d'une seule bactérie.

La culture des spirochètes s'effectue en aérobiose à la température de 30° à 37°C. Les trois premiers jours, il faut surveiller l'absence de contamination par des bactéries à croissance rapide.

Après une semaine, on examine la culture toutes les 24 à 48 heures, l'apparition d'un jaunissement progressif laisse soupçonner la présence de spirochètes.

Le temps de génération est de 6 à 12 heures et il permet d'obtenir en 5 à 7 jours  $2 \cdot 10^8$  bactéries/ml.

Les bactéries étant de faible vitalité, les cultures doivent être poursuivies pendant deux mois, avec observation et repiquage hebdomadaire.

Les cultures sont utilisées dans les cas atypiques, ou quand la suspicion clinique est trop forte mais la sérologie négative (pour un patient immunodéficient par exemple).

Chez l'homme, la culture à partir de biopsies cutanées d'EMC ou d'ACA permet la caractérisation de *Borrelia* pour respectivement 80% et 60% des cas. A la phase secondaire, l'isolement à partir du LCR ou du liquide articulaire est beaucoup plus rare, voire exceptionnel (19).

De même chez le cheval, des cultures à partir de biopsies au site de morsure (39) ou de prélèvement sanguin (30) ont permis d'isoler et d'étudier la bactérie.

### c- Polymerase Chain Reaction (PCR) :

L'amplification génique *in vitro* par PCR est un outil très puissant qui permet la détection de quantité extrêmement faible d'ADN de *B. burgdorferi*. Depuis quelques années, des méthodes d'amplification génique *in vitro* par PCR ont été appliquées à la détection de *B. burgdorferi* dans différents prélèvements humains : sang, urine, biopsie cutanée, liquide articulaire, biopsie synoviale et liquide céphalo-rachidien.

Les cibles utilisées sont : les gènes *OspA* et *OspB*, *p60*, *fla*, des séquences chromosomiques clonées au hasard, une séquence située sur un plasmide conservé de 30 kb, les gènes ribosomiaux ou encore l'espace intergénique entre les gènes ribosomiaux *rrf* et *rrl*. La PCR permet l'identification précise du germe grâce à ces amorces spécifiques de chacune des espèces de *B. burgdorferi* (128).

Les différentes études réalisées sur biopsies d'ECM montrent une sensibilité de la PCR équivalente ou supérieure à celle de la culture (60 à 80%), tout en permettant de s'affranchir des contaminations dues à la flore cutanée et de fournir une réponse rapide.

Les résultats sont d'autant plus encourageants que la PCR est effectuée sur des biopsies fraîchement prélevées plutôt que sur des biopsies paraffinées.

Les résultats encourageants obtenus avec ces méthodes d'amplification génique *in vitro* ne doivent pas faire oublier les différents problèmes pouvant être rencontrés : faux positifs par réamplification d'ADN précédemment amplifié ou suite à une contamination entre échantillons, faux négatifs dus à une quantité d'ADN cible inférieure au seuil de la méthode (environ 10 bactéries en général) ou à la présence d'inhibiteurs dans le prélèvement (5% des échantillons humains en moyenne). Pour ces raisons, des précautions et des contrôles très stricts doivent être mis en place à chacune des étapes afin de garantir la fiabilité des résultats obtenus.

Manion et al. (111) trouvent chez un groupe de chevaux présentant des signes cliniques, à l'aide de la PCR, une plus grande incidence de spirochétémie (53%) et de spirochéturie (20%) que chez les chevaux de la même région en bonne santé (5% et 0% respectivement). La PCR pourrait être une aide précieuse pour différencier les chevaux affectés cliniquement de ceux exposés à *B.burgdorferi* mais présentant une pathologie ayant une étiologie différente (108).

L'identification de *B.burgdorferi* par culture classique ou par amplification génique à partir de sang, d'urine, de liquide synovial ou cérébrospinal (LCR), permet d'établir le diagnostic de certitude.

Il existe cependant des risques de faux négatifs : en effet, la recherche dans le sang n'est valable que lors de phase aiguë (phase de bactériémie) ou de symptômes systémiques. Le liquide synovial est souvent négatif, même lors d'arthrite à *Borrelia*, car ces bactéries sont plus particulièrement attirées par le tissu synovial (affinité tissulaire). Le LCR n'est valable que lors de neuroborréliose.

## 2- Diagnostic indirect :

Le diagnostic biologique de la borréliose de Lyme reste actuellement essentiellement sérologique. C'est la seule aide de laboratoire disponible de façon courante.

Les taux les plus élevés d'Ig M sont observés au stade d'ECM et les plus élevés en Ig G au stade d'arthrite.

Au stade initial d'érythème chronique migrant localisé, l'homme développe dans près de 50% des cas des Ig M dans un délai de 1 à 3 semaines après le début de la maladie (1). Ces IgM sont principalement dirigées contre la protéine Osp C et la flagelline. Habituellement, la synthèse d'IgM est maximale après 6 à 8 semaines puis diminue après 3 mois et peut mettre plus d'un an à disparaître après traitement (82). Néanmoins, elle peut se maintenir ou réapparaître dans certaines formes chroniques de la maladie.

La synthèse d'IgG est détectable au bout de 1 à 3 mois et peut persister des années, même après la guérison.

La sérologie est négative dans la moitié des cas au stade d'ECM et ne permet donc pas de réfuter le diagnostic. Une deuxième sérologie sera, si besoin, réalisée 3 à 4 semaines plus tard et comparée au sérum précédent, dans le même laboratoire.

La sérologie peut aussi rester négative ou se négativer rapidement si le traitement antibiotique a été précoce ou en cas d'immuns complexes spécifiques de *B. burgdorferi* (145).

L'interprétation de résultats positifs doit être réalisée avec précaution, en tenant toujours compte des données cliniques. En effet, la présence d'IgM ne signe pas obligatoirement une infection aiguë et leur absence ne correspond pas nécessairement à une «cicatrice» sérologique. Ainsi, dans les atteintes neurologiques ou articulaires, seuls des taux élevés d'IgG sont habituellement observés (85).

Chez les chevaux aussi, la réponse immunitaire à médiation humorale contre *B. burgdorferi* répond par une séquence de production des différentes classes d'immunoglobulines. Les IgM pourraient être détectées pendant la phase aiguë de l'infection (123). La réponse est généralement de courte durée chez le cheval (35). Par contre la persistance du taux d'IgM peut parfois se produire tout au long de la maladie, comme c'est le cas chez l'homme et le chien, même après un traitement antibiotique. Des IgG dirigés contre 6 déterminants antigéniques ont été individualisés, chez le cheval, en utilisant une technique de Western blot. Dans cette espèce, une diminution des taux d'IgG a été observée après un traitement antibiotique réussi (123).

Tous les résultats doivent être interprétés en conjonction avec les symptômes cliniques de la maladie et les données épidémiologiques car le problème majeur posé par le diagnostic indirect est qu'il ne permet pas, en l'absence de manifestations cliniques, de signaler l'état réel d'infection de l'animal. La durée de persistance des anticorps chez le cheval est inconnue. Les titres sérologiques peuvent fluctuer de façon importante en fonction du temps chez un même individu. D'autre part, la persistance de titres élevés en anticorps peut correspondre à une réinfection due à de nouvelles morsures de tiques plutôt qu'à une infection persistante, particulièrement en zone d'enzootie.

#### a- Techniques sérologiques :

##### Immunofluorescence indirecte : I.F.I.

L'immunofluorescence a été l'une des premières méthodes disponibles sur le marché.

Le principe de cette méthode consiste à rechercher les anticorps dans le sérum, dans le LCR et éventuellement dans le liquide articulaire. L'antigène provient d'une souche de *B. burgdorferi* cultivée en milieu BSK II pendant 5 à 7 jours. En France, comme aux USA, la souche B31 est la plus utilisée (115).

Les seuils de positivité varient de  $1/64^{\text{ème}}$  à  $1/256^{\text{ème}}$  selon les laboratoires. Les titres significatifs pour les IgG et Ig totales dans le sérum et le liquide articulaire sont de  $1/256^{\text{ème}}$ , de  $1/32^{\text{ème}}$  pour les IgM sériques, et de  $1/4^{\text{ème}}$  pour le LCR quelque soit l'isotype (5). On peut augmenter la spécificité du test IFI par une étape préalable d'absorption par un antigène voisin (*Treponema reiteri*) afin de diminuer les réactions fluorescentes non spécifiques (135).

L'IFI est une technique de routine, peu coûteuse, très bien adaptée pour les petites séries. Son inconvénient majeur est lié à une subjectivité dans la lecture des lames, surtout pour celles des IgM qui sont très délicates. De plus,

Dzierzecka et al. évoquent, après deux études menées sur différents tests sérologiques chez le cheval, la possibilité de faux positifs en IFI (59).

Cette technique a permis de nombreux diagnostics de maladie de Lyme chez le cheval. Burgess et al. ont mis en évidence par immunofluorescence indirecte, des anticorps anti-*B.burgdorferi* dans le liquide synovial et le sérum d'une ponette présentant des troubles articulaires (32) et dans le LCR d'un cheval présentant des troubles nerveux évoquant une encéphalite (33).

#### ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.

La méthode ELISA est actuellement la plus utilisée pour réaliser le diagnostic de la maladie. Cette technique utilise soit un antigène soluble (*Borrelia* traitées par ultrasons), soit un antigène figuré (*Borrelia* inactivées par pénicilline et streptomycine). Cette technique, très reproductible, est plus sensible et plus spécifique que l'immunofluorescence indirecte (44,59). La méthode ELISA est adaptée à la réalisation de très grandes séries, elle est objective et la lecture des Anticorps est automatisée.

L'hétérogénéité des 3 espèces de *B.burgdorferi* semble sans grande influence sur les résultats obtenus avec des tests ELISA utilisant les antigènes cellulaires complets (80).

Le seuil de positivité des IgG se situe aux alentours de 1/200<sup>ème</sup> ou 1/256<sup>ème</sup> selon la dilution (115-118).

Des tests ELISA permettent la détection spécifique des IgM. La présence d'IgM indique un processus actif de la maladie correspondant à la primo-infection ou à une phase de récurrence impossible à différencier d'une réinfection (104).

Plusieurs auteurs ont procédé à la modification de l'antigène par purification ou par clonage utilisant des fractions antigéniques enrichies en flagelline (41 kD) et en antigènes d'enveloppe afin de détecter les IgM et les IgG dirigées contre la flagelline et les Osp (106).

L'utilisation d'OspC comme antigène en ELISA pour la détection des IgM au cours de la phase précoce de la maladie montre une sensibilité de 46% et une spécificité de 98%.

Grâce à l'utilisation de l'OspC, Coyle et al. (46) ont mis en évidence des IgM dans le LCR chez la majorité des patients présentant une neuroborréliose. La sérologie peut être négative dans le sérum et positive uniquement dans le LCR, d'où l'intérêt de réaliser simultanément les deux sérologies. Bien que des faux positifs aient été décrits au cours des méningites syphilitiques et tuberculeuses, la spécificité de la sérologie dans le LCR est meilleure que dans le sérum.

Chez le cheval, la technique ELISA a été adaptée et développée par Magnarelli (104). En effet, une étude menée par Madigan (103), dénonce le manque de fiabilité des tests ELISA du commerce. Concernant les équidés, les tests ELISA développés et utilisés chez l'homme et le chien auraient peu de valeur en médecine équine.

En règle générale, la séropositivité se manifeste tardivement après la morsure infectante par la tique. Dans la littérature, on trouve des délais de 5 à 8 semaines.

La séropositivité sans signe clinique patent a peu de valeur car de nombreux herbivores sont séropositifs sans présenter le moindre signe clinique. Deux prélèvements de sérum sont à faire à 15-21 jours d'intervalle.

#### L'hémagglutination passive :

C'est une méthode qualitative de dépistage dans laquelle les hématies sont revêtues d'un complexe antigénique issu des composants cellulaires de *B. burgdorferi*. Elle est considérée comme un peu moins spécifique que l'ELISA (115).

#### L'immunocapture :

Cette technique permet de détecter les IgM dirigées contre l'antigène flagellaire biotinylé. Ce test est plus sensible et plus spécifique au début de la maladie ou lors de la neuroborréliose. L'emploi de cet antigène évite les interférences du facteur rhumatoïde (75).

#### Western-blot : (Figure 19)

Cette technique permet d'analyser de façon qualitative la réponse des anticorps (Ac) vis-à-vis des différentes protéines de *B. burgdorferi*. Les différentes protéines sont préalablement séparées par électrophorèse selon leur poids moléculaire et transférées sur feuille de nitrocellulose.

C'est une méthode non standardisée, ni dans la préparation des antigènes, ni dans la méthode de lecture, ni dans les critères d'interprétation et peu utilisée en routine. L'interprétation du Western-blot est compliquée par l'hétérogénéité antigénique des différentes souches européennes.

Le Western-blot permet de confirmer l'existence d'une sérologie positive ou douteuse en méthode quantitative (43,44).

La première bande qui apparaît en Western-blot correspond à l'Anticorps dirigé contre la flagelline (P41), suivie un peu plus tard par d'autres bandes.

Certaines bandes sont communes à différentes espèces bactériennes et sont responsables des réactions croisées observées dans les méthodes quantitatives de dépistage. D'autres sont plus spécifiques de *B. burgdorferi*.

L'interprétation des bandes obtenues en Western-blot est très délicate, plusieurs auteurs ont proposé des critères de positivité (62).

Dressler et al. (57) en 1993, proposent au moins cinq bandes parmi les dix plus fréquentes en IgG après les premières semaines de l'infection : 18, 21, OspC :23-25, 28, 30, 39, 41, 45, 58, 66 et 93 kD.

Engstrom et al. (62) en 1995, proposent deux bandes parmi les trois IgM les plus communes dans la phase précoce de la maladie : 24, 39 et 41 kD.

A l'heure actuelle ces deux dernières études sont à la base d'un consensus aux USA pour l'interprétation du Western-blot. Ces critères ne sont pas applicables en Europe en raison du polymorphisme des souches (79).

Une étude a établi des critères d'interprétation pour le Western-blot vis-à-vis des souches européennes telles que *B. afzelii* et *B. garinii* (79).

Cette étude propose :

- pour *B.afzelii* : au moins deux bandes pour les IgG parmi les plus fréquentes : 14, 17, 21, OspC, 30, 39, 43, 58 et 83/100 kD et au moins 1 bande pour les IgM parmi 17, OspC, 39 et une bande large en 41.
- pour *B. garinii* : au moins 1 bande pour les IgG parmi 17b, 21, OspC, 30, 39, 83/100 et au moins 1 bande pour les IgM parmi OspC, 39 ou une bande large en 41.

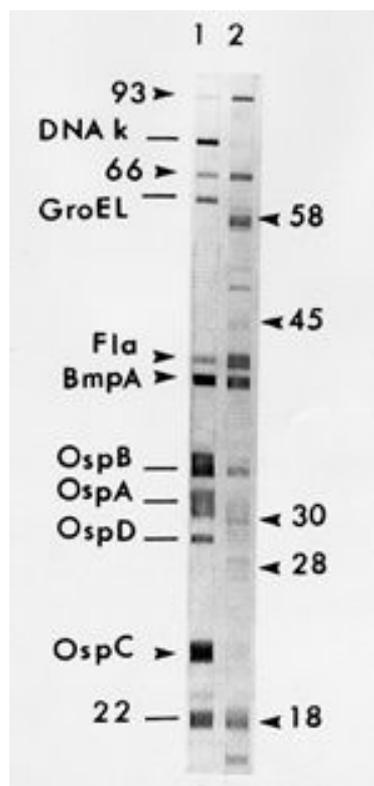


Figure 19 : Résultats d'un Western-blot chez l'homme (36).

1 : Electrophorèse d'une solution d'antigènes de *B. burgdorferi* B31

2 : Electrophorèse d'un sérum humain ayant 10 antigènes marqués dans les critères de positivité.

Chez le cheval, les résultats de Western blot de sérums de poneys infectés expérimentalement par *B.burgdorferi*, montrent des bandes dans les régions p83, p65, p60, p41 et p39. D'après Chang et al. qui ont réalisés cette étude, la présence de ces bandes permet de diagnostiquer la maladie de Lyme chez le cheval (39).

Beaucoup d'autres bandes peuvent être présentes mais ne sont pas spécifiques. Les bandes spécifiques Osp A sont manquantes.

Dans les formes précoces, le test Western blot présente une sensibilité et une spécificité supérieures aux techniques d'IFI ou d'ELISA (71).

En 2002, Muller montre chez des chevaux en Autriche, que la primo-infection avec *B.burgdorferi* a lieu lors de la première année. Les réinfections sont caractérisées par l'apparition de bandes additionnelles. Les chevaux exposés de façon continue aux tiques présentent des Western blot avec des bandes constantes tandis que chez les chevaux non exposés, le nombre de bandes décroît (117).

#### b- Définition des qualités d'une méthode de sérologie :

##### La spécificité :

La spécificité est la probabilité d'avoir une réponse négative chez un sujet sain.

$$\text{Spécificité} = \frac{\text{vrais négatifs}}{\text{ensembles des sujets sains}}$$

Plus le seuil de positivité sera élevé, meilleure sera la spécificité : moins de faux positifs.

La spécificité est à peu près similaire pour les deux méthodes les plus utilisées que sont l'ELISA et l'IFI. Leur spécificité sont respectivement de 93,5% et de 92% (99).

##### La sensibilité :

La sensibilité est la probabilité d'avoir une réponse positive alors que le sujet est malade.

$$\text{Sensibilité} = \frac{\text{vrais positifs}}{(\text{vrais positifs} + \text{faux négatifs})}$$

Un seuil de positivité assez bas permet d'avoir une meilleure sensibilité en dépistant le maximum de sujets infectés mais recrutera des faux positifs.

##### La fiabilité :

Une étude comparative a été faite par Lindenmayer (99) où 128 sérums de chiens ont été testés par les trois techniques suivantes : l'ELISA, l'IFI et le Western blot.

Les résultats du Western blot ont été pris comme référence et comparés à ceux de l'ELISA et de l'IFI. 85% des chiens positifs en Western blot le sont par la méthode ELISA, alors que 67% le sont par l'IFI. L'ELISA semble donc plus sensible que l'IFI pour la détection des chiens positifs.

Sur les 62 sérums négatifs en Western blot, 58 l'étaient également en ELISA et en IFI. La spécificité de ces deux tests par rapport au Western blot est identique : 94%.

Le Western blot paraît donc être la technique sérologique la plus fiable et constitue une bonne approche sérologique de confirmation de la maladie de Lyme.

#### La reproductibilité :

Greene et al. (70) ont fait tester 60 sérums de chiens par 10 laboratoires américains. Les résultats obtenus ont montré une concordance totale de tous les laboratoires pour seulement 32 des 60 sérums soit 53%. Les autres sérums étaient sujets à des interprétations controversées. Sur 60 échantillons testés, il a été compté en moyenne 5 résultats discordants par laboratoire.

Cette étude montre qu'il n'existe aucune procédure définie en ce qui concerne la sérologie. L'antigène utilisé, les réactifs ou le temps d'incubation peuvent varier de façon sensible le résultat d'un laboratoire à l'autre. D'où la nécessité d'une standardisation des différentes méthodes sérologiques afin d'éviter tous résultats discordants.

#### c- Les réactions croisées.

Quelque soit la technique utilisée, elles peuvent donner des résultats difficiles à interpréter : faux positifs ou douteux en ELISA ou en IFI, bandes non spécifiques en Western blot.

Ces réactions croisées peuvent être dues à l'existence d'épitopes communs à *B. burgdorferi* et à de nombreuses espèces bactériennes.

En médecine humaine, des faux positifs sont rencontrés dans diverses pathologies comme la mononucléose infectieuse, le SIDA, les herpès *viridae*, les rickettsies, la tuberculose. Ils sont également observés lors de la recherche des IgM surtout dans la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé (5-135).

Par exemple, l'antigène flagellaire de 41 kD est proche de la flagelline de *Treponema pallidum* et la protéine de 60 kD est une protéine commune à un grand nombre de bactéries ou bien encore les protéines de choc thermique dont le poids moléculaire varie de 66 à 73 kD. C'est pourquoi, seules les réactions en Western blot sont considérées comme spécifiques.

Ce sont surtout les sérums de syphilis qui donnent lieu à un grand nombre de réactions croisées. Inversement aucun sérum de borréliose de Lyme ne positive un test VDRL mais quelques-uns sont retrouvés positifs en FTA Abs (Fluorescent Treponemal Antibody absorption). Une sérologie de Lyme ne pourra être prise en considération que si la sérologie syphilitique est négative (115-135).

En médecine équine, une étude menée par Carter en Angleterre, a montré que les sérums positifs avec *B.burgdorferi* ne réagissaient pas avec *Leptospira* en utilisant une technique Western blot (35).

Pour diminuer l'incidence des réactions croisées et améliorer la spécificité des tests sérologiques, différents procédés ont été proposés tel que la préadsorption des sérums par les tréponèmes en ELISA.

Bien que des réactions croisées interviennent entre *Treponema pallidum* et *B.burgdorferi* chez l'homme, *Treponema pallidum* n'est pas connu pour infecter les chevaux (43,44).

De plus, en 2000, Magnarelli montre malgré le risque de réaction croisée, que des analyses en ELISA avec des antigènes recombinants permettent de séparer les chevaux présentant une borréliose de ceux présentant une erlichiose. Le dépistage en ELISA ou IFI puis la confirmation par Western blot est une bonne procédure pour compléter le diagnostic clinique de chacune des maladies (109).

## D-Diagnostic différentiel :

### 1- Chez l'homme:

Le diagnostic clinique est le plus souvent insuffisant pour établir le diagnostic de certitude de la maladie de Lyme, et le diagnostic différentiel est très vaste, de par le tableau clinique polymorphe pouvant toucher de nombreux organes.

Parmi les plus fréquents, on trouve l'encéphalite à tiques, l'ehrlichiose, les chlamydioses, la sclérose en plaques, la maladie d'Alzheimer, comme diagnostics différentiels de la neuroborréliose.

Le lupus érythémateux, le syndrome de Reiters, la myocardite ou la méningite virale font également partie du diagnostic différentiel.

Toutes les causes d'arthrite doivent être considérées dans les suspicions d'arthrite de Lyme (148).

Seul le diagnostic de laboratoire peut confirmer ou infirmer l'hypothèse de maladie de Lyme, en s'intégrant dans une démarche diagnostique organisée.

## 2- Chez le cheval :

Chez le cheval, la symptomatologie de la maladie de Lyme n'est, en général, pas assez évocatrice pour permettre un diagnostic de certitude. La maladie est très souvent sous diagnostiquée du fait de la grande variété des signes cliniques (123).

La borréliose de Lyme doit intervenir dans le diagnostic différentiel des manifestations articulaires, les affections nerveuses et les uvéites bilatérales.

Les affections articulaires intervenant dans le diagnostic différentiel des troubles articulaires sont :

- les maladies articulaires dégénératives
- les arthrites traumatiques
- les arthrites infectieuses
- les ostéomyélites
- les néoplasies

Les manifestations arthritiques sont toutefois les plus fréquentes lors de borréliose. Un accès de boiterie sans historique de traumatisme peut évoquer une maladie de Lyme.

Le diagnostic différentiel des affections nerveuses comporte, en plus de la maladie de Lyme :

- les myélites à protozoaires,
- le syndrome de la queue de cheval,
- les nématodes en migration dans le canal médullaire,
- les encéphalites à Herpès virus HEV1
- les myéloencéphalites dégénératives,
- l'anémie infectieuse des équidés,
- les ostéomyélites des corps vertébraux
- les lymphosarcomes du système nerveux,
- les compressions médullaires,
- les traumatismes.

Les autres affections intervenant dans le diagnostic différentiel des uvéites bilatérales sont (103,123):

- l'onchocercose,
- la leptospirose,
- la brucellose,

- la toxoplasmose,
- l'hypersensibilité aux streptocoques,
- l'hypersensibilité aux strongles,
- l'uvéite idiopathique.

## E- Diagnostic épidémiologique chez le cheval :

L'anamnèse évoque généralement un cheval vivant ou ayant séjourné dans une zone d'enzootie et parfois l'exposition à une morsure de tique, même ancienne (167). Cependant, du fait d'une période d'incubation souvent longue, le cheval malade risque de ne plus se trouver dans la région où il a été contaminé.

Dans le cas clinique décrit par Hahn et al., un séjour de 18 mois est mentionné, deux ans avant l'apparition des signes cliniques, à proximité d'un élevage de cervidés (74).

L'association des commémoratifs et des signes cliniques doit permettre d'inclure la borréliose de Lyme dans le diagnostic différentiel.

## F- Diagnostic thérapeutique :

Une réponse positive au traitement antibiotique peut être aussi une bonne indication de suspicion de la maladie de Lyme, mais sans toutefois permettre de confirmer le diagnostic avec certitude.

Dans les vingt quatre heures qui suivent le début du traitement une amélioration avec régression de la douleur et de la boiterie est souvent observée. Cependant, lors de certaines manifestations, faisant intervenir un mécanisme supposé à médiation immunitaire, la réponse aux antibiotiques est longue, voir absente.

La récurrence d'épisodes de la maladie peut correspondre à l'inefficacité du traitement instauré ou à une réinfection, particulièrement en zone d'enzootie .

La baisse du taux d'anticorps (principalement IgG) après traitement est également un critère diagnostique (elle peut être aussi retenue comme indicateur). La cinétique d'apparition des anticorps lors de borréliose est assez particulière, puisque les IgG ne sont détectables que plusieurs semaines après le début de l'infection. Néanmoins, lors d'arthrite clinique, il semble que le taux global d'anticorps soit toujours significatif (128). Ceci peut expliquer en partie les lacunes actuelles des tests sérologiques qui ne sont pas tous spécifiquement dirigés vers la détection d'Ig précoces de type M. Selon Magnarelli et al., le taux d'anticorps anti-*B.burgdorferi* est un mauvais témoin de l'efficacité d'un traitement puisque même après un traitement réussi, les IgG peuvent persister plusieurs années dans l'organisme (105).



## VI- Traitement.

### A- Bases rationnelles du traitement de la maladie de Lyme :

A l'heure actuelle, les antibiotiques constituent la seule possibilité thérapeutique réelle.

L'antibiothérapie doit être appliquée de façon précoce, rationnelle et optimale, car le résultat final en dépend. Donc dès le diagnostic posé, un traitement efficace doit être instauré.

Chez les animaux, on utilise les mêmes antibiotiques qu'en médecine humaine.

En règle générale, l'efficacité *in vivo* d'un antibiotique vis-à-vis d'un germe infectieux, dépend des facteurs suivants :

- L'activité *in vitro* de l'antibiotique vis-à-vis de la bactérie
- La pénétration de l'antibiotique jusqu'au site infecté : la peau, les articulations et le SNC
- La capacité de l'antibiotique à exprimer son activité au site de l'infection
- L'état de réceptivité de la bactérie à l'action de l'antibiotique (métabolisme)

Ce sont les deux premiers paramètres qui peuvent être contrôlés le plus facilement par le choix raisonné de la molécule par le prescripteur.

Parmi les classes d'antibiotiques présentant une activité *in vitro* sur *Borrelia*, on retiendra principalement les  $\beta$ -lactames, les macrolides et les tétracyclines.

Les tableaux I et II donnent les informations essentielles en ce qui concernent l'activité des antibiotiques *in vitro* et leur capacité à pénétrer dans les territoires infectés.

Les propriétés pharmacocinétiques de ces antibiotiques sont décrites dans le tableau II.

Les résultats thérapeutiques obtenus au cours d'études randomisées chez l'homme, sont présentés dans le tableau III, l'absence d'indication ne signifie pas que le produit est inactif, mais peut simplement refléter le fait qu'il n'y a pas d'étude clinique disponible à ce jour.

**Tableau I : Activité des principales classes d'antibiotiques vis-à-vis de *B.burgdorferi* (36).**

Classe pharmacologique	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)
<b>β-lactames</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>pénicillines</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• pénicilline G</li> <li>• amoxicilline</li> </ul> </li> <li>• <b>céphalosporines</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2ème génération (céfuroxime)</li> <li>• 3ème génération <ul style="list-style-type: none"> <li>• ceftriaxone</li> <li>• cefotaxime</li> </ul> </li> <li>• 4ème génération (céfipime)</li> </ul> </li> <li>• <b>Pénèmes</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• imipénem</li> <li>• méropénem</li> </ul> </li> </ul>	 0,5-0,8 0,25-1,0  0,06-0,25 0,06-0,25 1,0  0,06-1,0 0,25	 12,5-25,6 0,8-3,2  1,0-2,0  0,08-0,016   
<b>Macrolides et streptogramines</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• érythromycine</li> <li>• clarithromycine</li> <li>• roxithromycine</li> <li>• azithromycine</li> </ul>	0,03-0,12 0,015-0,12 0,015-0,12 0,015-0,13	0,08-0,16  0,03-0,25 0,02-0,04
<b>Tétracyclines</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• tétracycline</li> <li>• minocycline</li> <li>• doxycycline</li> </ul>	0,12-1,0 0,12-0,25 0,25-0,2	0,8-3,2 1,35-5,43 1,6-6,4
<b>Phénicolés</b> (chloramphénicol)	1,0-3,0	
<b>Fluoroquinolones</b>	1,0-8,0	

**Les aminoglycosides (gentamicine,..) les ansamycines (rifampicine, ...) et les sulfamides (même combinés aux inhibiteurs de la THF-réductase [cotrimoxazole, ...] sont INACTIFS**

**Tableau II : Propriétés pharmacocinétiques des antibiotiques recommandés (36).**

Antibiotique	Dose (mg) et voie	Pic sérique (µg/ml)	t 1/2 (h)	Concentrations tissulaires				
				peau et tissus mous	articulations os liquide	cerveau LCR tissu		
<b>1. β-lactames</b>								
pénicilline G	3000 (iv)	60	0.5	>CMB	< CMB	>CMB	*	
amoxicilline	500 (po)	10	1	>CMB		>CMB	*	
céfuroxime	500 (po)	10	1.3	>CMB	>CMB	>CMB		
ceftriaxone	1000 (iv)	150	8	>CMB	>CMB	>CMB	>CMB	
céfotaxime	1000 (iv)	80	1.2	>CMB	>CMB	>CMB		
imipénem	500 (im)	6	1	>CMB			*	
-----								
* concentration CMB uniquement en cas d'inflammation des méninges.								
.....								
<b>2. Macrolides</b>								
érythromycine	250 (po)	1.5	2	>CMB			<CMB	<CMB
clarithromyc.	500 (po)	2.7	3.5	>CMB			<CMB	<CMB
roxithromyc.	150 (po)	5.4	13	>CMB		>CMB	<CMB	
azithromyc.	500 (po)	0.4	14	>CMB	>CMB			= CMB
.....								
<b>3. Tétracyclines</b>								
tétracycline	250 (po)	2.2	10	>CMB	>CMB		<CMB	
doxycycline	100 (po)	2.5	10	>CMB	>CMB		= CMB	

**Tableau III : Sites d'action préférentiels des antibiotiques utilisés (36).**

Antibiotiques	Site d'action		
	Peau et tissus mous	Articulations	SNC
<b><math>\beta</math>-lactames</b>			
Pénicilline G		+/-	+/- à +++
Pénicilline V	+ à +++	+/-	
Amoxicilline	++ à +++		
Cefuroxime	+ à +++		
Ceftriaxone	+++	+++	+++
Cefotaxime		+++	++
<b>Macrolides</b>			
Erythromycine	+/-		
Azithromycine	++		
<b>Tétracyclines</b>			
Tétracycline	++		
Doxycycline	+ à +++	+	+++

## 1- Les $\beta$ -lactames :

Les pénicillines et céphalosporines de 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> générations sont actives à des concentrations variables suivant l'antibiotique (tableau II).

L'activité des céphalosporines de 4<sup>ème</sup> génération est médiocre. La CMB de la pénicilline est 100 fois supérieure à sa CMI, ce qui impliquera l'utilisation de doses élevées. D'une façon générale, l'activité d'un  $\beta$ -lactame perdure aussi longtemps que la concentration de l'antibiotique au contact de la bactérie demeure supérieure à la CMI ou sa CMB.

Etant donnée la durée de vie relativement courte des  $\beta$ -lactames, le clinicien veillera donc à administrer des doses répétées : toutes les 8 heures ou même toutes les 6 heures, sauf pour la ceftriaxone.

L'atout important des  $\beta$ -lactames est leur bonne diffusion dans les tissus : peau, tissus mous, articulations, liquide céphalorachidien ; cela leur permet d'atteindre des concentrations thérapeutiques dans tous les territoires infectés ; cependant les pénicillines ne passent la barrière hémato-encéphalique qu'en cas d'inflammation des méninges.

Ces antibiotiques sont très bien tolérés, mis à part le cas de réactions allergiques rares mais graves.

Les  $\beta$ -lactames actives sur *Borrelia* peuvent donc convenir à toutes les formes de la maladie de Lyme à condition qu'elles soient administrées de façon adéquate (dose et fréquence).

## 2- Les macrolides :

Les macrolides et les tétracyclines ne pénètrent que faiblement dans le système nerveux central où leurs concentrations demeurent souvent inférieures ou à peine égales à la concentration minimale inhibitrice. Par contre, ils atteignent les concentrations thérapeutiques dans la peau et les tissus mous.

La forte concentration intracellulaire des macrolides récents comme l'azithromycine pourrait constituer un atout précieux si l'hypothèse d'une implication de formes intracellulaires de *Borrelia* dans la persistance de l'infection devait se confirmer.

Les macrolides présentent le désavantage de donner lieu à une intolérance digestive. Les macrolides comme l'érythromycine, la roxithromycine et la clarithromycine mais pas l'azithromycine, sont à l'origine aussi d'interactions médicamenteuses par inhibition du métabolisme de nombreux médicaments biotransformés dans le foie.

L'érythromycine, par sa capacité à inhiber le cytochrome P450, est connue pour entraîner une augmentation des taux sériques d'autres médicaments, conduisant dans certains cas à des risques d'intoxication non négligeables, par exemple avec la théophylline, la digoxine. Ces interactions sont moindres ou même inexistantes avec les nouveaux macrolides comme l'azithromycine.

Ils sont sans doute utilisables pour toutes les formes non neurologiques de borréliose, quoique l'efficacité clinique n'en ait pas toujours été confirmée à ce jour. La demi-vie tissulaire particulièrement longue de l'azithromycine, qui autorise des cures courtes, pourrait favoriser une bonne compliance qui est essentielle afin de protéger efficacement contre la dissémination de *Borrelia*.

### 3- Les tétracyclines :

Vis-à-vis de *Borrelia*, les tétracyclines présentent *in vitro* une certaine activité mais à des concentrations 10 fois supérieures à celles observées pour les macrolides et les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération.

La doxycycline et la minocycline présentent une bonne résorption par voie orale, mais leurs concentrations sériques demeurent inférieures aux CMB. Ce sont des antibiotiques bactériostatiques.

La demi-vie de ces molécules à l'exception des tétracyclines de 1<sup>ère</sup> génération permet des administrations bi-, voire même unquotidiennes.

Les tétracyclines passent mal la barrière hémato-méningée et seule la doxycycline est susceptible d'atteindre des concentrations efficaces dans le parenchyme cérébral.

Les tétracyclines se lient de façon irréversible aux os et aux dents, et sont donc contre-indiquées chez les jeunes sujets. Elles peuvent aussi entraîner des réactions de photosensibilité, ce qui peut constituer un handicap majeur pour des produits destinés à traiter une infection estivale.

Ces antibiotiques présentent aussi des interactions médicamenteuses. Il s'agit principalement d'une diminution de leur résorption par les antiacides et d'une augmentation de leur métabolisme par les inducteurs du métabolisme hépatique (phénytoïne, barbiturique, carbamazépine).

En bref, la pénétration dans le liquide céphalo-rachidien des tétracyclines limite leur usage aux formes non neurologiques de borréliose. Les effets indésirables de ces antibiotiques, leurs interactions médicamenteuses et leur contre-indication font que leur usage devrait rester assez limité et se faire sous surveillance adéquate. Elles peuvent cependant représenter une alternative intéressante dans le cas de difficultés à mettre en œuvre un traitement aux  $\beta$ -lactames ou en cas de suspicion de moindre sensibilité à ces molécules ou aux macrolides.

## B- Attitudes cliniques :

### 1- chez l'homme :

Le choix de l'antibiotique dépend essentiellement du stade de l'infection et du type de traitement.

Au stade 1 : des études cliniques contrôlées ont montré que lors du traitement dans l'atteinte cutanée, une antibiothérapie par voie orale est suffisante et efficace avec les molécules suivantes :

-  $\beta$ -lactames : Amoxicilline et Céfuroxime-axétil en cure de 21 jours.

Chez l'enfant et la femme enceinte, on privilégie l'amoxicilline per os à raison de 50mg/kg/j en 3 prises quotidiennes pendant 15 à 21 jours.

Le Céfuroxime-axétil peut être administré à une dose de 500 mg, 2 fois par jour. Pour les patients ne présentant qu'un érythème chronique migrant, une thérapie orale pendant 10 jours est suffisante.

- Macrolides : Les nouveaux dérivés à demi-vie prolongée permettent des administrations bi-, voire unquotidienne : l'Azithromycine par exemple pourrait être recommandée à dose unquotidienne de 500mg/jour pendant 14 à 21 jours (165).

- Tétracyclines : La doxycycline est la molécule de cette famille qui présente le moins d'effets secondaires. Elle nécessite une administration biquotidienne de 100 mg pendant 15 jours (16). La durée pourrait être abaissée à 10 jours selon une étude récente (165).

Au stade 2 : Ce stade correspond à la dissémination des spirochètes, et notamment les signes articulaires. On peut envisager un traitement identique au stade 1 mais prolongé pendant 30 jours. En cas de non rémission ou aggravation des symptômes, on utilise de la pénicilline ou une céphalosporine 3<sup>ème</sup> génération par voie parentérale, intraveineuse de préférence.

Plusieurs schémas ont été proposés dans le traitement des arthrites (148,165):

la ceftriaxone 2g/jour en IV pendant 15 à 21 jours ;

ou céfotaxime 1 g/j en 3 prises quotidiennes pendant 15 à 21 jours ;

ou la pénicilline G : 20 millions d'unités IV 14 à 21 jours ;

ou amoxicilline 4 × 500 mg/jour + probénécide 4 × 500 mg pendant 30 jours. Le probénécide (Bénévide®) est un antigoutteux pouvant être utilisé comme adjuvant de la pénicillinothérapie pour prolonger la pénicillinémie (16).

Au stade 3 : Les formes neurologiques réclament elles aussi l'administration parentérale d'une céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération ou de pénicilline G selon les mêmes modalités que pour l'atteinte articulaire (16). La bonne pénétration dans le système nerveux central joue un rôle essentiel, ce qui explique le choix souvent exercé en faveur de la ceftriaxome ou du céfotaxime.

En raison du risque qu'elles font courir, les formes cardiaques ou oculaires seront traitées par une antibiothérapie similaire à celles des formes neurologiques (165).

Le traitement des formes chroniques reste quant à lui difficile et demande l'administration prolongée d'antibiotiques sur 6 mois à un an. Une étude menée par le NIAID (National Institute of Allergy and Infectious Diseases) a montré que l'administration d'antibiotiques sur de longues durées pour les cas chroniques n'apportait aucune amélioration aux patients (91).

Des cas réfractaires au traitement, ou avec rémission puis rechutes périodiques sont observés, pour lesquels il est souvent utile d'évaluer les compétences immunitaires ou les co-infections possibles. On observe également des symptômes arthritiques ou fibromyalgiques post Lyme, ou encore des problèmes neurologiques (perte de mémoire, fatigue, baisse de concentration), pour lesquels aucune explication ni thérapeutique ne sont connues (91,148,154).

Des mécanismes de résistance ou d'échappement aux antibiotiques ont été découverts chez *B. burgdorferi*. Elle produit par exemple une  $\beta$ -lactamase qui peut expliquer certains échecs de traitement par la pénicilline ou les céphalosporines. Cependant, ce système enzymatique semble être dépassé par des doses élevées d'antibiotiques, par des perfusions continues, ou des formes dépôt (benzathine pénicilline). L'enveloppement intracellulaire de la bactérie, que nous avons évoqué à propos de la pathogénie, la protège également de l'action des antibiotiques. On a mis en évidence l'existence d'une couche S de glycoprotéines qui empêcherait le passage des antibiotiques. Enfin, certaines souches s'avèrent insensibles à l'action de certaines familles d'antibiotiques ; *Borrelia burgdorferi* peut passer de manière réversible sous une forme dite cystique ou forme L, dépourvue de paroi, et donc insensible à l'action de certains antibiotiques.

Une thérapeutique adjuvante peut être mise en place. On peut préconiser l'utilisation d'anti-inflammatoires stéroïdiens, mais dont l'efficacité n'est pas prouvée, ou encore des injections de corticoïdes intra-articulaires (148). Dans le cas des arthrites de Lyme, une synovectomie sous arthroscopie peut être envisagée.

Les traitements prolongés peuvent provoquer des infections par les levures, qui seront gérées par des traitements locaux (nystatine, antiseptiques...). D'autre part, la gestion de la récupération et la réhabilitation ne doivent pas être négligées pour les formes chroniques (anti-dépresseurs, kinésithérapie, surveillance nutritionnelle et compléments alimentaires).

## 2- Chez le cheval :

Le traitement de la maladie de Lyme repose également sur l'antibiothérapie qui pourra être associée aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (123).

Pendant de longues années, aucune étude clinique n'a été menée pour apprécier l'efficacité thérapeutique d'un traitement antibiotique de la maladie de Lyme chez le cheval. En pratique, la pénicilline procaine et/ou la benzathine pénicilline sont souvent utilisées en première intention et recommandées à la dose de 30.000 à 45.000 UI/kg/jour : une injection intramusculaire par jour pendant trois semaines (123). Lors de manifestations nerveuses de la maladie de Lyme, la ceftriaxone, la pénicilline G et l'oxytétracycline (6 à 12 mg/kg/jour durant trois semaines) par voie intraveineuse sont utilisées (103,123). Bien qu'efficace, le coût élevé de la ceftriaxone limite son utilisation en médecine vétérinaire.

En 2000, Chang et al. (39) réalisent une étude comparative sur l'efficacité thérapeutique de trois molécules antibiotiques : tétracycline (6,6 mg/kg IV toutes les 12 heures), doxycycline (10 mg/kg par voie orale toutes les 12 heures) et ceftiofur (2,2 mg/kg IM, toutes les 12 heures) respectivement sur trois lots de poneys infectés expérimentalement par *B.burgdorferi*. Les traitements ont duré 3 semaines. Des sérologies sont effectuées toutes les 3 semaines jusqu'à l'euthanasie des poneys, quatre mois après l'arrêt du traitement.

Tous les poneys traités à l'aide de la tétracycline ont une baisse progressive du taux d'anticorps jusqu'au dernier titrage. Les cultures et PCR effectuées sur ce lot, se sont révélées négatives.

Les lots traités par doxycycline et ceftiofur présentent des réponses sérologiques variables et des cultures positives sont observées. Certains poneys de ces deux lots ont présenté une baisse caractéristique d'anticorps durant le traitement puis de nouveau une augmentation à l'arrêt de la thérapie.

L'étude a donc conclu à la supériorité d'efficacité de la tétracycline IV par rapport à l'administration orale de doxycycline ou de ceftiofur en IM. Les plus fortes concentrations tissulaires sont obtenues avec la tétracycline. La biodisponibilité de la doxycycline est plus faible lorsqu'elle est administrée par voie orale. La doxycycline et le ceftiofur inhibent la croissance de *B.burgdorferi* mais ne l'éradiquent pas de l'organisme.

Ainsi depuis cette étude, les deux molécules le plus souvent utilisées sont la tétracycline et la doxycycline.

Selon Divers, la tétracycline (6,6mg/kg par voie intraveineuse stricte une fois par jour) est utilisée avec beaucoup de succès dans les cas où le cheval présente de la fièvre, des œdèmes des membres et de la raideur. Les chevaux présentant des signes plus typiques de la maladie de Lyme (boiterie intermittente, raideur, hyperesthésie...), sont plus souvent traités avec la doxycycline administrée par voie orale (5 à 10 mg/kg toutes les 12 heures)

pendant un mois (50). L'absence de diarrhée doit être étroitement surveillée chez les chevaux traités par doxycycline.

Il faut rappeler que la doxycycline utilisée par voie intraveineuse, provoque, à faible dose (0,3mg/kg), des anomalies cardiaques avec modifications de l'électrocardiogramme, des fasciculations musculaires et un collapsus. A plus forte dose (3mg/kg), elle peut entraîner la mort (103).

Il est recommandé d'associer les deux traitements et de commencer la tétracycline une semaine avant la doxycycline, pour obtenir une réponse clinique rapide. La tétracycline possède un effet anti-inflammatoire immédiat indépendamment de l'action antibiotique.

Le traitement antibiotique est d'autant plus efficace qu'il a été instauré tôt avant que des dommages débilissants apparaissent, pour prévenir des complications dramatiques qui peuvent survenir rapidement.

La durée du traitement est guidée par la réponse clinique et est habituellement de 10 à 30 jours. Il doit être prolongé s'il est instauré tardivement. Selon certains auteurs, un changement d'antibiotiques est à conseiller si aucune amélioration n'est observée après une dizaine de jours.

De plus, l'application locale d'antibiotique au point de morsure est recommandée, à condition d'intervenir dans les deux à trois premiers jours, avec des doses convenables et de renouveler au moins trois fois les applications (158).

Des réactions de type réaction de Jarish-Herxheimer, associées à l'antibiothérapie chez l'homme, n'ont pas été décrites chez le cheval. Leur pathogénie est inconnue mais la lyse brutale des bactéries avec libération d'endotoxines est suspectée. Ces réactions peuvent être prévenues par un court traitement à base de corticoïdes (123).

Un traitement anti-inflammatoire non stéroïdiens par voie générale, associé au traitement antibiotique, est recommandé pour améliorer le confort et le rétablissement de l'animal même s'il masque l'évolution des signes cliniques et empêche la surveillance de la température. La phénylbutazone est généralement utilisée, particulièrement lorsque le cheval est atteint de fourbure (100,123,132).

Un protecteur de la flore intestinale et des compléments chondro-protecteurs peuvent être conseillés en traitements complémentaires.

Le traitement de l'uvéite causée par *B.burgdorferi* n'est pas différent des autres uvéites, et doit inclure, en plus du traitement antibiotique, un anti-inflammatoire non stéroïdien par voie systémique (flunixin ou kétoprofène IV), un corticostéroïde et de l'atropine en application locale.

## VII – Prophylaxie.

### A- Prophylaxie médicale.

#### 1- La vaccination :

##### a- Chez l'homme :

Peu de temps après l'identification de *B. burgdorferi* comme étant l'agent causal de la maladie de Lyme, il apparût qu'une immunisation passive serait protectrice contre cette infection. Des études chez animal ont rapidement démontré que l'immunisation par un vaccin inactivé était efficace. Mais le développement d'un tel vaccin chez l'homme posa vite le problème du potentiel réactogène, c'est-à-dire d'une réponse immune inappropriée. Pour ces raisons, le développement d'un vaccin recombinant s'est imposé.

Les diverses protéines de surface furent les meilleures candidates pour leur capacité à induire une réponse immune protectrice. OspA se révéla la plus immunogène (78).

Aux USA, l'OspA des souches de *B. burgdorferi* possède une certaine homogénéité justifiant la fabrication d'un vaccin OspA monovalent, alors qu'en Europe, une formule vaccinale plus complexe est nécessaire pour obtenir une meilleure protection. Ceci est dû à un plus haut niveau d'hétérogénéité des molécules d'OspA parmi les isolats européens de *B. burgdorferi* et à l'inaptitude d'un vaccin monovalent à conférer une protection croisée complète (149).

Les premiers travaux de recherche effectués sur un vaccin recombinant sont intéressants de par leurs résultats.

Les études préliminaires d'un vaccin recombinant OspA pour usage humain ont montré qu'il est efficace chez des souris mises au contact de tiques collectées dans des zones où la maladie est endémique. Environ 40% des tiques sont porteuses des spirochètes *B. burgdorferi*.

Les résultats révèlent que l'infection n'apparut chez aucune des souris vaccinées et que 60% des souris non vaccinées deviennent infectées (78).

Deux vaccins monovalents furent testés aux USA :

- Le LYMERix® réalisé par les laboratoires Smithkline Beecham où l'OspA est absorbée sur de l'hydroxyde d'aluminium.
- L'Imulyme® élaboré par les laboratoires Pasteur Mérieux Connaught (PMC) ne contenant pas d'adjuvant.

Seul le LYMERix® a obtenu en décembre 1998 de la Food and Drug Administration (FDA), la licence d'autorisation de mise sur le marché américain (AMM) (156).

Ce vaccin OspA est unique dans le fait qu'il protège l'hôte mammifère de l'infection en éliminant le spirochète du vecteur, mais il ne peut guérir une infection installée. En effet les spirochètes expriment OspA uniquement dans la tique mais pas quand elle est transmise chez un hôte vertébré (150-156).

Ce vaccin a été retiré du marché en février 2002, faute de résultat commercial (1,49 millions de doses vendues) (65) et plusieurs inconvénients majeurs limitaient son utilisation :

- l'immunité n'est acquise qu'à partir de trois injections (Jo, J30 et J60). D'autre part, le vaccin est inutilisable chez les enfants de moins de 15 ans (36) ;
- Il n'est que partiellement efficace en Europe car les protéines OspA sont antigéniquement très différentes en fonction de l'espèce considérée ; les infections à *B.garinii* et *B.afzelii* ne sont pas couvertes par le vaccin ;
- La suspicion d'un processus auto-immun impliqué dans les arthrites de Lyme qui serait lié à la protéine OspA limite son utilisation ; cependant, l'étude comparative avec vaccination ou placebo montre que le développement de l'arthrite ne diffère pas significativement (81).

Les personnes ayant déjà été touchées par l'arthrite de Lyme gardent un taux d'anticorps suffisamment élevé pour ne pas nécessiter de vaccination. Par contre, les patients ayant eu un érythème migrant, en zone d'endémie, ou les personnes exposées ou à risques (forestiers par exemple), sont potentiellement des candidats à la vaccination (81).

Un nouveau vaccin est actuellement à l'étude, utilisant la protéine OspC qui est exprimée chez l'hôte directement, et qui déclencherait une réponse immune protectrice chez les animaux vis-à-vis de toutes les souches de *B.burgdorferi sensu lato* (143).

#### b- Chez le cheval

Actuellement, les seuls vaccins disponibles sont destinés à l'espèce canine (51).

Au début des années 90, le vaccin, *Borrelia burgdorferi* Bacterim, initialement développé chez le chien, chez qui l'efficacité était prouvée, a fait l'objet d'études chez le cheval aux laboratoires Fort Dodge. L'innocuité a été testée sur deux douzaines de chevaux. Le problème majeur rencontré était l'absence de modèle expérimental de la maladie de Lyme chez le cheval pour tester son efficacité (88).

A la fin des années 90, un essai de vaccination a été réalisé grâce à un vaccin recombinant exprimant la protéine OspA de *B. burgdorferi sensu stricto* (rOspA) (38).

L'étude s'est déroulée à l'aide de poneys âgés de 1 an. Le vaccin recombinant (100g) a été administré à un lot de 8 poneys «naïfs» à J1, J20 et J82. Un lot de quatre poneys non vaccinés est le lot témoin. Trente jours après la dernière injection, les deux lots de poneys sont mis en contact de tiques infectées de *B. burgdorferi*, pendant 7 jours. Après cette période, les poneys sont placés dans une zone saine (sans tique) pendant quatre mois.

Une biopsie de peau, proche du lieu de la morsure de tique, a été effectuée sur chaque poney et mise en culture. Aucune *B. burgdorferi* n'a été isolée chez les poneys vaccinés. En revanche, trois des quatre cultures issues de poneys non vaccinés ont été positives.

Un Western blot est réalisé trois semaines après la première vaccination et montre une bande anticorps OspA (32 kDa). Cette bande se densifie après la deuxième vaccination. Durant la période de l'étude, aucune bande caractéristique de l'infection à *B. burgdorferi* chez le cheval (P83, P65, P60, P41, P39) n'est apparue.

Tous les poneys vaccinés ont développé un taux d'anticorps significatif. Ce titrage diminue progressivement après la dernière vaccination.

En fait, l'action du vaccin est identique à celle décrite chez l'homme, l'immunité induit la synthèse d'anticorps qui, s'ils sont en quantité suffisante, permettent de tuer les borrelies dans l'intestin de la tique avant leur migration vers les glandes salivaires.

L'étude n'a pas conclu sur la fréquence d'administration du vaccin pour pouvoir maintenir une protection

L'existence de plusieurs souches différentes de *Borrelia* rend beaucoup plus délicate une éventuelle approche vaccinale en Europe.

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de vaccin commercialisé contre la borreliose de Lyme chez le cheval.

## 2- L'antibiothérapie prophylactique :

A la suite d'une morsure de tique, il est inutile de procéder à un traitement antibiotique préventif comme il a pu être suggéré auparavant, sauf dans le cas particulier de personnes sensibles : les très jeunes enfants, les femmes enceintes... ; ou dans les zones d'endémie (63,128,148). Une étude comparative avec placebo a montré que l'utilisation d'antibiotiques n'a aucun intérêt en prophylaxie à la suite d'une morsure de tique (112).

Une thérapie empirique pour une piqûre de tique doit être considérée seulement dans les zones d'endémies (78).

## B- Prophylaxie sanitaire :

La prophylaxie sanitaire, difficile à mettre en œuvre, comporte la destruction des vecteurs, soit fixés sur le cheval, soit dans l'environnement, et la limitation des populations de réservoirs sauvages (157).

L'isolement des chevaux suspects d'être atteints de la maladie de Lyme n'est pas nécessaire (103).

### 1- Lutte contre les vecteurs :

Dans le milieu, elle pose des problèmes écologiques, de par l'abondance et la répartition large des tiques dans des milieux difficiles d'accès. L'épandage d'acaricide dans les pâturages (chlorpyrifos à 600 g/ha) donne de bons résultats, mais on s'expose à des risques de résistance. A proximité des jardins et des pâtures, on peut effectuer un débroussaillage, une tonte régulière de la pelouse dans les jardins, un ramassage des feuilles, mais l'effet est limité. L'exposition au risque peut être limitée en évitant le pâturage durant les saisons le plus à risque.

La lutte contre les tiques peut s'effectuer les réservoirs ou les animaux domestiques. L'accès aux écuries par d'autres animaux domestiques, chien et chats en particulier, susceptibles d'héberger des tiques, doit être limité voire interdit, à moins qu'ils ne soient protégés.

La dispersion d'appâts pour les rongeurs dans des boîtes dont les parois sont imprégnées d'acaricides a été essayée. Ce système est peu onéreux et particulièrement efficace. Les souris provenant d'un lieu traité ne sont porteuses que d'un maximum d'une tique, en moyenne, contre trente à soixante quinze par souris non traitée (88).

Des cotons imbibés d'acaricides (perméthrine) dont les rongeurs se servent pour réaliser leur nid, ont été également dispersés. Cependant, ces techniques ont leurs limites, notamment un coût élevé, une faible rémanence et des conséquences sur l'environnement. Sur les cervidés, l'utilisation de topiques comme les pyréthrinoïdes, ou de traitements systémiques comme les avermectines est en cours d'étude.

La lutte contre les réservoirs (rongeurs et cervidés) est irréalisable, une simple limitation d'effectifs restant inefficace.

### 2- Les répulsifs :

La protection des chevaux contre les tiques est difficile. L'utilisation de substances destinées à détruire ou repousser les tiques sur le cheval est possible mais leur durée d'action est souvent courte. Des applications répétées sont nécessaires, notamment à cause de la sudation chez les chevaux au travail et après de fortes pluies pour les chevaux au pâturage (123).

Peu de produits «anti-parasitaires externes» efficaces contre les tiques possèdent une AMM pour les chevaux.

### a- Antiparasitaires traditionnels (51):

#### - Organochlorés :

Lindane Véticide®, il faut appliquer le produit pur au pinceau, exclusivement sur le parasite.

#### - Organophosphorés et Carbamates :

Dimpylate ou Diazinon (Dimpygal®) : utilisé chez le cheval en pulvérisations.

Phoxim (Sebacil®) : débarrasse les animaux de leurs parasites externes, rapidement et complètement grâce à sa double activité par contact et par effet vapeur. Il a une action rémanente de plusieurs semaines. Il s'utilise en bain ou aspersion.

Carbaryl (Poudre insecticide vétérinaire Vétoquinol®)

### b- Antiparasitaires modernes : Pyréthrine et Pyréthrinoïdes

On désigne sous le nom de pyréthrine un ensemble de principes actifs extraits de la poudre issue des capitules floraux d'une plante, le chrysanthème insecticide (famille des Composées).

Les pyréthrinoïdes sont des analogues de synthèse : cyperméthrine, deltaméthrine, perméthrine...

Ces substances sont caractérisées par une activité insecticide immédiate, à faible dose (« effet choc » ou « knock down ») et une toxicité beaucoup plus faible pour les homéothermes que pour la plupart des espèces animales présentes dans l'environnement. Les pyréthrinoïdes sont le traitement de choix contre les tiques.

Le Repel X® composé de pyréthrine et de perméthrine, est un insectifuge et répulsif donnant une protection immédiate et d'une durée de moyenne de 48 heures. Ce produit convient pour les chevaux au travail.

Pour les chevaux vivant au pré, il est conseillé d'employer le Tri-Tec 14®. Ce produit à base de cyperméthrine et de pyréthrine, est efficace durant sept jours. Il est cependant conseillé de renouveler l'application après une forte pluie.

Les antiparasitaires doivent être complémentaires aux autres méthodes de prévention.

## 3- L'inspection visuelle :

Une méthode essentielle de protection est tout simplement l'inspection visuelle du corps après que le cheval ait été dans une zone endémique de la borréliose de Lyme.

Des études ont montré que la tique doit être attachée depuis 24 à 72 heures pour que *B. burgdorferi* soit transmis à l'hôte (78). Le temps de transmission

dépendrait de l'espèce de la tique. En effet, les tiques européennes semblent avoir le délai avant la transmission le plus court (152).

Ainsi, plus tôt la tique sera retirée, moins de chance elle aura de transmettre *B.burgdorferi* d'où l'intérêt d'un pansage fréquent et minutieux (123). La tique accrochée doit être saisie, aussi près de la peau que possible à l'aide de pince incurvée prévue à cet usage (Tire-Tic®, Crochet O'Tom®) ou à l'aide de pinces à épiler. Si les doigts sont utilisés, ils doivent être protégés avec du tissu, une serviette en papier ou des gants.



Figure 20 : Crochets Tire-Tic®

La tique ne doit pas être pressée ni écrasée sinon elle expulse sa salive, sa lymphe ou des matières digestives contenant des bactéries infectieuses. De plus, elle ne doit pas être secouée ou tordue au point de casser les pièces buccales ou le collier.

L'endroit de la morsure doit être lavé avec du savon et de l'eau après avoir enlevé la tique (78).

Une fois retirée, la tique doit être tuée par immersion dans l'alcool. Si les pièces buccales sont restées dans la peau, il peut en résulter une irritation chronique durant des semaines à des mois et une possible infection secondaire.

Ces mesures simples et pratiques devraient être mieux appliquées et connues car elles constituent les meilleures défenses contre la transmission de la maladie de Lyme.

Jefferson (86) a noté que le vaccin n'est pas une prévention de première intention pour la maladie de Lyme. La prévention des piqûres de tiques est beaucoup plus importante. Tandis que des mesures de prévention personnelle ont été présentées comme étant la pierre angulaire de la prévention contre la maladie de Lyme, l'incidence de la maladie continue à croître. Hayes et al. (77) suggèrent que, soit cette intervention n'est pas efficace soit que trop peu d'individus l'appliquent pour qu'elle devienne efficace malgré certaines études contradictoires (144).

## Conclusion

Au terme de ce travail, si un seul mot doit être retenu pour définir la borréliose de Lyme, c'est celui de la **diversité**.

En effet, nous avons pu constater que la diversité de cette maladie se manifeste tant en ce qui concerne la multiplicité des espèces de *B. burgdorferi*, que la symptomatologie clinique, l'épidémiologie ou encore les méthodes de diagnostic.

Bien que la prévalence de la maladie de Lyme chez le cheval soit faible dans notre pays, les tableaux cliniques compatibles avec ses manifestations sont fréquents. L'importance économique de la maladie de Lyme, chez le cheval, est difficile à évaluer. Ceci est dû à la méconnaissance de cette affection par les praticiens, qui fait qu'elle n'est pas souvent diagnostiquée d'une part, et à l'absence de données concernant sa prévalence d'autre part. D'une façon générale, les pertes économiques comprennent les coûts du diagnostic et du traitement, qui peuvent être lourds, ainsi que l'immobilisation du cheval malade. La maladie de Lyme prête encore plus à conséquence dans l'espèce équine, utilisée en majeure partie pour ses qualités athlétiques, du fait de la prépondérance des manifestations articulaires. En effet, certaines lésions irréversibles peuvent compromettre la carrière sportive d'un cheval. L'impotence associée à certaines formes peut même conduire à envisager l'euthanasie du cheval.

Le vétérinaire praticien équin se doit désormais, d'inclure la borréliose de Lyme dans le diagnostic différentiel de boiteries associées à des symptômes systémiques et une exposition aux morsures de tiques. Outre une prise de conscience diagnostique, une bonne compréhension des caractéristiques cliniques et une interprétation raisonnée des tests sérologiques sont nécessaires pour reconnaître la maladie.

Cette vigilance doit d'autant plus s'exercer que la maladie de Lyme est une zoonose.

La maladie de Lyme apparaît donc comme un défi diagnostique pour le vétérinaire praticien équin et comme un problème de santé publique.

Actuellement, la maladie de Lyme entraîne un nombre considérable de travaux aussi bien en médecine humaine que vétérinaire. Ces recherches portent à la fois sur la génétique et la taxonomie de la bactérie, la physiopathologie de la maladie, les techniques de diagnostic, la prophylaxie avec en particulier, la conception d'un vaccin.

Le développement du modèle expérimental chez le cheval va permettre les recherches vers une meilleure connaissance de la pathogénie et de la réaction immunitaire induite par *B. burgdorferi*. Ces recherches devraient permettre la mise au point de méthodes diagnostiques fiables, l'instauration de traitements plus efficaces et le développement de vaccins plus performants.

Malgré la diversité et la richesse des connaissances, la borréliose de Lyme reste une maladie émergente encore méconnue.

# **BIBLIOGRAPHIE**



- 1 - AGUERO-ROSENFELD ME, NOWAKOWSKI J, BITTKER S, COOPER D, NADELMAN RB, WORMSER GP. Evolution of the serologic response to *Borrelia burgdorferi* in treated patients with culture confirmed erythema migrans. *J. Clin. Microbiol.*, 1996, **34**, 1-9.
- 2 - ALCALAY M, DEBLAIS F. La maladie de Lyme. *Rev. Prat.*, 1995, **44**, 1611-1619.
- 3 - ANGUITA J, HEDRICK MN, FIKRIG E. Adaptation of *Borrelia burgdorferi* in the tick and the mammalian host. *FEMS Microbiol.Rev.*, 2003, **27**, 493-504.
- 4 - AOKI SK, HOLLAND P. Lyme disease – another transfusion risk ? *Transfusion*, 1989, **29**, 646-650.
- 5 - ASSOUS MV. Le diagnostic biologique de la borréliose de Lyme en 1993. *Technique et biologie*, 1994, **1**, 7-20.
- 6 - ASSOUS M, POSTIC D, PAUL G, NAVOT P, BARANTON G. Western blot analysis of sera from Lyme borreliosis patients according to the genomic species of the *Borrelia* strain used as antigen. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1993, **12**, 261-268.
- 7 - BARANTON G, ASSOUS M, POSTIC D. Trois espèces bactériennes associées à la borréliose de Lyme : Conséquences cliniques et diagnostiques. *Bull. Acad. Natle. Med.*, 1992, **176**, 1075-1086.
- 8 - BARANTON G, POSTIC D. *Méthodes de laboratoire : Leptospirose – Borréliose de Lyme*. Collection : Commission des laboratoires de références et d'expertise, 2<sup>ème</sup> Ed. Institut Pasteur, 2000, 135p.
- 9 - BARANTON G, EDLINGER C, MAZZONELLI J, DUFRESNE Y. La borréliose dite de Lyme, maladie «nouvelle» identifiée depuis près de 80 ans. *Med. Mal. Inf.*, 1986, **12**, 747-755.
- 10 - 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 VS 461 associated with Lyme borreliosis. *Intern. Journ. Systematic Bacteriol.*, 1992, **42**, 378-383.
- 11 - BARANTON G, SEINOST G, THEODORE G, POSTIC D, DYKHUIZEN D. Distinct levels of genetic diversity of *Borrelia burgdorferi* are associated with different aspects of pathogenicity. *Res.Microbiol.*, 2001, **152**, 149-156.
- 12 - BARBOUR AG. Cultivation of *Borrelia* : a historical review. *Zbt. Bakt. Hyg.*, 1986, **A263**, 11-14.
- 13 - BARBOUR AG. Plasmid analysis of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease agent. *J. Clin. Microbiol.*, 1988, **26**, 475-478.
- 14 - BARBOUR AG, HAYES SF. Biology of *Borrelia* species. *Microbiol. Rev.*, 1986, **50**, 381-400.
- 15 - BARIL C, RICHAUD C, BARANTON G, SAINT-GIRONS I. Linear chromosome of *Borrelia burgdorferi*. *Res. Microbiol.*, 1989, **150**, 507-516.
- 16 - BELAICH S. La maladie de Lyme. *Press. Med.*, 1995, **24**, 81-87.
- 17 - BELLET-EDIMO OR. *Importance de la transmission trans-stadiale et de la transmission transovarienne du spirochète B.burgdorferi (Spirochaetales : Spirochaetae) chez la tique Ixodes ricinus (Acari : Ixodidae) dans l'épidémiologie de la borréliose de Lyme*, PhD Thesis, University of Neuchatel, Neuchâtel, Switerland, 1997.
- 18 - BERNARD WV, COHEN D, BOSLER E et al. Serologic survey for *B.burgdorferi* antibody in horses refered to a mid-Atlantic veterinary teaching hospital. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1990, **196**, 1255-1258.

- 19 - BERTHOLOM C. Actualités sur les infections transmises par les tiques. *Option bio*, 1998, **215**, 2-5.
- 20 - BIGAIGNON G. Aspects cliniques de la borréliose de Lyme. *Ann.I. P.*, 1993, **4**, 270-273
- 21 - BOURDEAU PJ. Les tiques d'importance vétérinaire et médicale. *Le point vét.*, 1993, **151**, 13-41.
- 22 - BOURDEAU PJ. Mites and Ticks. In : ROBINSON NE. *Current therapy in equine medicine 5*, Philadelphia : WB Saunders, 2003, 187-190.
- 23 - BOUREE P. La maladie de Lyme. In : *Maladies infectieuses*, Ed. Techn. EMC., 1990, R10, 8039-8045.
- 24 - BROWNING A, CARTER SD, BARNES A, MAY C, BENETT D. Lameness associated with *Borrelia burgdorferi* infection in the horse. *Vet. Rec.*, 1993, **132**, 610-611.
- 25 - BRZONOVA I, WOLLENBERG A, PRINZ JC. Acrodermatis chronica atrophicans affecting all four limbs in an 11-year-old girl. *Br.J.Dermatol.*, 2002, **147**, 375-378.
- 26 - BURGDORFER W, BARBOUR AG, HAYES SF et al. : Lyme disease - A tick-borne spirochetosis ?. *Science*, 1982, **216**, 1317-1319.
- 27 - BURGDORFER W, HAYES SF, CORWIN D. Pathophysiology of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* in Ixodid ticks. *Rev. Infect. Dis.*, 1989, **11**, 1442-1450.
- 28 - BURGDORFER W, SCHAWN TG. *Borrelia*. In : *Manual of clinical microbiology*. Ed. BALOWS A., HAUSLER Jr WJ, HERRMANN KL, ISENBERG HD, SHADOMY HJ. ASM Press, Washington D.C., 1991, 560-566.
- 29 - BURGESS EC. Experimental inoculation of dogs with *Borrelia burgdorferi*. *Zbt. Bakt. Hyg.*, 1986, **A263**, 49-54.
- 30 - BURGESS EC. *Borrelia burgdorferi* in Wisconsin horses and cows. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1988, **539**, 235-243.
- 31 - BURGESS EC, GENDRON-FITZPATRICK A, MATTISON M. Foal mortality associated with natural infection of pregnant mares with *Borrelia burgdorferi*. In : *Equine infectious disease V* : proceedings of the fifth international conference, 1988, V, 217-220.
- 32 - BURGESS EC, GILLETTE D, PICKETT JP. Arthritis and panuveitis as manifestations of *Borrelia burgdorferi* infection in a Wisconsin pony. *JAVMA*, 1986b, **189**, 1340-1342.
- 33 - BURGESS E, MATTISON M. Encephalitis associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a horse. *J. Amer. Vet. Med. Assn.*, 1987, **191** (11), 1457-1458.
- 34 - CANICA MM, NATO F, DU MERLE L, MAZIE JC, BARANTON G, POSTIC D. Monoclonal antibodies for identification of *Borrelia afzelii*. sp. nov. associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. *Scand. J. Infect. Dis.*, 1993, **25**, 441-448.
- 35 - CARTER SD et al. *Borrelia burgdorferi* infection in UK horses, *Eq. Vet. J.*, 1994, **26**, 187-190.
- 36 - CDC Division of Vector-Borne Infectious Diseases :Lyme disease : Epidemiology. En ligne [<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/lymeepi.htm>] (Consulté le 22 Novembre 2004)
- 37 - CHANG Y, McDONOUGH SP, CHANG C et al. Human granulocytic ehrlichiosis agent infection in a pony vaccinated with a *Borrelia burgdorferi* recombinant OspA vaccine and challenged by exposure to naturally infected ticks. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2000, **7**, 68-71

- 38 - CHANG Y, NOVOSOL V, McDONOUGH SP et al. Vaccination against Lyme disease with recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface protein A (rOspA) in horses. *Vaccine*, 1999, **18**, 540-548.
- 39 - CHANG Y, NOVOSOL V, McDONOUGH SP et al. Experimental infection of ponies with *Borrelia burgdorferi* by exposure to Ixodid ticks. *Vet. Pathol.*, 2000, **37**, 68-76.
- 40 - CHOW CC, EVANS Jr AS, NOONAN-TOLY CM, WHITE D, JOHNSON GS, MARKS SJ et al. Lyme disease trends – Dutchess County, New York, 1992-2000. *Mount Sinai J.Med.*, 2003, **70**, 207-213.
- 41- CHRISTMANN D. Réseau de surveillance de la maladie de Lyme en Alsace. *Bull.Info.IVS*, 2002 (Nov.), n°4.
- 42 - COHEN ND. Borreliosis (Lyme disease) in horses. *Eq. Vet. Educ.*, 1996, **8** (4), 213-215.
- 43 - COHEN N, COHEN D. Borreliosis in horses : a comparative review. *The compendium*, 1990, **12**, 1149-1458.
- 44 - COHEN N, HECK FC, HEIM B et al. Seroprevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in a population of horses in central Texas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1992, **201**, 1030-1034.
- 45 - COLEMAN JL, BENACH JL, BECK G, HABICHT GS. Isolation of the outer envelope from *Borrelia burgdorferi*. *Zbl. Bakt. Hyg.*, 1986, **A263**, 123-126.
- 46 - COYLE PK. *Borrelia burgdorferi* infection : clinical diagnostic techniques. *Immunological Investigations*, 1997, **26**, 117-128.
- 47 - DESHAYES F, SCHMITT M. Résultats intermédiaires de la surveillance de la maladie de Lyme en Alsace. *Bull. Info. IVS*, 2002 (Juil.), n°3.
- 48 - Direction Générale de la Protection de la Santé, babésiose et maladie de lyme concomitantes en Ontario. *Relevé des maladies transmissibles au Canada*. Volume **24-12**, 15 juin 1998.
- 49 - DHÔTE R, ASSOUS MV. Borréliose de Lyme. *Le concours médical*, 2001, **123-27**, 1789-1793.
- 50 - DIVERS TJ, CHANG YF. Equine Lyme disease : A review of experimental disease production, treatment efficacy, and vaccine protection. *AAEP proceedings*, 2003, **49**, 391-393.
- 51 - DMV, 12<sup>ème</sup> éd., Maisons-Alfort. Ed. Point Vét., 2003, 1760p.
- 52 - DOBY JM, CHEVRIER S, COUATARMANAC'H A. Spirochétose à tiques par *Borrelia burgdorferi* chez le cheval en Bretagne. Résultats d'une enquête sérologique portant sur 400 chevaux. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 1987, **5**, 285-298.
- 53 - DOBY JM, BETREMIENS C, LAMBERT MC, LORVELEC O, ROLLAND C, COSTIL C. Les micro-mammifères forestiers réservoirs de germes pour *Borrelia burgdorferi* agent de la borréliose de Lyme ? *Rev. Med. Vet.*, 1991, **142**, 737-742.
- 54 - DOBY JM, BETREMIENS C, ROLLAND C, BARRAT J. Les grands mammifères forestiers, réservoirs de germes pour *Borrelia burgdorferi* agent de la maladie de Lyme ? Recherche des anticorps chez 543 cervidés et suidés. *Rev. Med. Vet.*, 1991, **167**, 55-61.
- 55 - DORWARD DW, FISCHER ER. Lymphocyte invasion and host-cell membrane cloaking protects *B.burgdorferi* from complement-mediated killing. In : *97th general meeting of the american society for microbiology*, 1997 (May 4-8), Miami Beach, FL, Washington, DC, ASM Press, 1997, D-133.
- 56 - DOURNON E, ASSOUS H, FOURCADE C. La maladie de Lyme en France (à propos de 272 cas). *Bull. Epidémiol. Hebd.*, 1987, **15**, 7-69.

- 57 - DRESSLER F, WHALEN JA, REINHARDT BN, STEERE AC. Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease. *J. Infect. Dis.*, 1993, **167**, 392-400.
- 58 - DUPUIS M. Les multiples manifestations neurologiques des infections à *Borrelia burgdorferi*. *Rev. Neurol.* (Paris), 1988, **144**, 765-775.
- 59 - DZIERZECKA M, KITA J. The use of chosen serological diagnostic methods in Lyme disease in horses. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2002, **5** (2), 71-84
- 60 - EDELMAN R, PALMER K, RUSS K, SECREST H, BECKER A. Safety and immunogenicity of recombinant Bacille Calmette-Guérin (rBCG) expressing *Borrelia burgdorferi* outer surface protein A (OspA) lipoprotein in adult volunteers : a candidate Lyme disease vaccine. *Vaccine*, 1998, **17**, 904-914.
- 61 - EISNER RJ, MEIRS DA et al. Lack of correlation between exposure to Lyme disease (*Borrelia burgdorferi*) and pregnancy loss in mares. *J. Eq. Vet. Sc.*, 1994, **14** (2), 102-105.
- 62 - ENGSTROM SM, SHOOP E, JOHNSON RC. Immunoblot interpretation criteria for serodiagnosis of early Lyme disease. *J. Clin. Microbiol.*, 1995, **33**, 419-427.
- 63 - EUZEBY JP. *Borrelia burgdorferi* et la maladie de Lyme chez les animaux : Revue générale. *Rev. Med. Vet.*, 1989, **140**, 371-388.
- 64 - FIVAZ BH, BOTHA P, CAIRNS LM. A putative outbreak of equine Lyme borreliosis in Natal. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 1990, **61**, 128-129.
- 65 - FRANZ JK, KRAUSE A. Lyme disease (Lyme borreliosis). *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, 2003, **17**, 241-264.
- 66 - FRASER CM et al. Genomic sequence of a Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature*, 1997, **390**, 580-586.
- 67 - GASSMAN GS, JACOB E, DEUTZMANN R, GOBEL U. Analysis of the *Borrelia burgdorferi* GeHo fla gene and antigenic characterization of its gene product. *J. Bacteriol.*, 1991, **173**, 1452-1460.
- 68 - GERHARDS H, WOLLANKE B. Antibody titers against *Borrelia* in horses in serum and in eyes and occurrence of equine recurrent uveitis. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.*, 1996, **109** (8), 273-278.
- 69 - GILMORE RD Jr., MBOW ML, STEVENSON B. Analysis of *Borrelia burgdorferi* gene expression during life cycle phases of the tick vector *Ixodes scapularis*. *Microb. Inf.*, 2001, **3**, 799-808.
- 70 - GREENE RT, HIRSCH DA, ROTTMAN PL, GERIG TM. Interlaboratory comparison of titers of antibody to *Borrelia burgdorferi* and evaluation of a commercial assay using canine sera. *J. Clin. Microbiol.*, 1991, **29**, 16-20.
- 71 - GRODZICKI RL, STEERE AC. Comparison of immunoblotting and indirect enzyme linked immunosorbent assay using different antigen preparations for diagnosing early Lyme disease. *J. Infect. Dis.*, 1988, **15**, 790-797.
- 72 - GYLFE A, BERGSTROM S, LUNDSTROM J, OLSEN B. Reactivation of *Borrelia* infection in birds. *Nature*, 2000, **403**, 724-725.
- 73 - HABICHT G, BECK G, BENACH J. Lyme disease. *Sci. Am.*, 1987, **257** (1), 78-83.
- 74 - HAHN CN, MAYHEW IG et al. A possible case of Lyme borreliosis in a horse in the UK. *Eq. Vet. J.*, 1996, **28** (1), 84-88.

- 75 - HANSEN K, PII K, LEBECH A. Improved immunoglobulin M serodiagnosis in Lyme borreliosis by using a  $\mu$ -capture enzyme-linked immunosorbent assay with biotinylated *Borrelia burgdorferi* flagella. *J. Clin. Microbiol.*, 1991, **29**, 166-173.
- 76 - HARVEY WT, SALVATO P. « Lyme disease » : ancient engine of an unrecognised borreliosis pandemic ? *Med. Hypoth.*, 2003, **60**, 742-759.
- 77 - HAYES EB, MAUPIN GO, MOUNT GA, PIESMAN J. Assessing the prevention effectiveness of local Lyme disease control. *J. Public Health Manage Pract.*, 1999, **5**, 84-92.
- 78 - HAYNEY MS, GRUNSKA MM, BOH LE. Lyme disease prevention and vaccine prophylaxis. *Ann. Pharmacol.*, 1999, **33**, 723-729.
- 79 - HAUSER U, LEHNERT G, LOBENTANZER R, WILSKA B. Interpretation criteria for standardized Western-blot for three european species of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, **35**, 1433-1444.
- 80 - HAUSER U, LEHNERT G, WILSKA B. Validity of interpretation criteria for standardized Western-blot (immunoblots) for serodiagnosis of Lyme borreliosis based on sera collected throughout Europe. *J. Clin. Microbiol.*, 1999, **37**, 2241-2247.
- 81 - HENGGE UR, TANNAPFEL A, TYRING SK, ERBEL R., ARENDT G, RUZICKA T. Lyme disease. *Lancet Inf. Dis.*, 2003, **3**, 489-500.
- 82 - HILTON E, TRAMONTANO A, DeVOTI J, SOOD SK. Temporal study of immunoglobulin M seroreactivity to *Borrelia burgdorferi* in patients treated for Lyme Borreliosis. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, **35**, 774-776.
- 83 - HUMAIR PF, GERN L. The wild hidden face of Lyme borreliosis in Europe. *Microb. Inf.*, 2000, **2**, 915-922.
- 84 - JAULHAC B, MONTEIL H. Actualités du diagnostic microbiologique des infections à *Borrelia burgdorferi*. *La lettre de l'infectiologue*, 1997, **3**, 87-93.
- 85 - JAULHAC B, PIEMONT Y, MONTEIL H. Diagnostic biologique des infections à *Borrelia burgdorferi*. *Méd. Mal. Infect.*, 1998, **28**, 373-375.
- 86 - JEFFERSON T. Pediatricians alerted to five new vaccines. *JAMA*, 1999, **281**, 1973-1975.
- 87 - JOHNSON RC, SCHMID GP, HYDE FW, STEIGERWALT AG, BRENNER DJ. *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1984, **34**, 496-497.
- 88 - JONES WE. Lyme disease. *Eq. Vet. Data*, 1990, **11**, 346-347.
- 89 - KAUFMANN P, GOURREAU JM, JONCOUR G, BOULOUIS HJ. Ehrlichiose, borréliose de Lyme et staphylococcie. *Bull. GTV*, 2003 (sept.), **21**, 72
- 90 - KAWABATA H, MARUZAWA T, YANAGIHARA Y. Genomic analysis of *Borrelia japonica* sp. nov. isolated from Ixodes ovatus in Japan. *Microbiol. Immunol.*, 1993, **37**, 843-848.
- 91 - KLEMPNER MS et al. Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. *N. England J. Med.*, 2001 (July 12), **345**, 85-92.
- 92 - KRAICZY P et al. Mechanism of complement resistance of pathogenic *Borrelia burgdorferi* isolates. *Int. Immunol. pharmacol.*, 2001, **1**, 393-401.
- 93 - KURTENBACH K, DE MICHELIS S, ETTI S, SCHAFFER SM, SEWELL HS, BRADE V, KRAICZY P. Host association of *Borrelia burgdorferi sensu lato* – the key role of host complement. *Trends Microbiol.*, 2002, **10**, 74-79.

- 94 - LANE RS, PIESMAN J, BURGDORFER W. Lyme borreliosis : relation of its causative agent to its vectors and hosts in North America and Europe. *Ann. Rev. Entomol.*, 1991, **36**, 587-609.
- 95 - LAM TT, NGUYEN TPK, MONTGOMERY RR, KANTOR FS, FIKRIG E, FLAVELL RA. Outer surface proteins E and F of *Borrelia burgdorferi*, the agent of Lyme disease. *Inf. Immun.*, 1994, **62**, 290-298.
- 96 - LAMBERT D. Borréliose de Lyme. *Rev. Prat.*, 1996, **46**, 1611-1615.
- 97 - LECLERCQ M. A propos de l'épidémiologie de la maladie de Lyme. *Rev. Med. de Liège*, 1988, XLIII.
- 98 - LIEBISCH G et al. Isolation of *Ixodes ricinus* transmitted *Borrelia afzelii* from a horse in Germany. Proceedings of the 18th International Conf. of WAAVP, 2001, Stresa, Italy.
- 99 - LINDENMAYER J, WEBER M, BRYANT J, MARQUEZ E, ONDERDONK A. Comparaison of indirect immunofluorescence antibody assay, enzyme-linked immunosorbent assay and Westernimmunoblot for the diagnosis of Lyme disease dogs. *J. Clin. Microbiol.*, 1990, **28**, 92-96.
- 100 - LISCHER CJ, LEUTENEGGER CM, BRAUN U, LUTZ H. Diagnosis of Lyme disease in two cows by the detection of *Borrelia burgdorferi* DNA. *Vet.Rec.*, 2000, **146**, 497-499.
- 101 - MCGINLEY-SMITH DE, TSAO SS. Dermatoses from ticks. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2003, **49**, 363-392.
- 102 - Mc LEAN RG, UBICO SR, NORTON HCA, ENGSTROM SM, JOHNSON RC. Isolation and characterisation of *Borrelia burgdorferi* from blood of a bird captured in the Saint Croix River Valley. *Journ. Clin. Microbiol.*, 1993, **31**, 2038-2043.
- 103 - MADIGAN JE. Lyme disease in horses. *Vet. Clin. North. Am. Eq. Pract.*, 1993, 429-434.
- 104 - MAGNARELLI LA, ANDERSON JF. Class-specific and polyvalent ELISA for detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in equids. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, 1989, **195**, 1365-1368.
- 105 - MAGNARELLI L, ANDERSON J, SHAW E, POST J, POLKA F. Borreliosis in equid in northeastern united states. *Am. J. Vet. Res.*, 1988, **49** (3), 359-362.
- 106 - MAGNARELLI LA, FIKRIG E, PADULAN SJ, ANDERSON JF, FLAVELL RA. Use of recombinant antigens of *Borrelia burgdorferi* in serologic tests for diagnosis of Lyme Borreliosis. *J. Clin. Microbiol.*, 1996, **34**, 237-240.
- 107- MAGNARELLI LA, FLAVELL RA et al. Serologic diagnosis of canine and equine borreliosis : use of recombinant antigens in enzyme-linked immunosorbent assays. *J.Clin.Microbiol.*, 1997, **35** (1), 169-173
- 108 - MAGNARELLI LA, FREIER JE, ANDERSON JF. Experimental infection of mosquitoes with *Borrelia burgdorferi* the etiologic agent of Lyme disease. *Journ. Inf. Dis.*, 1987, **156**, 694-695.
- 109 - MAGNARELLI LA, IDJO JW et al. Serologic confirmation of *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi* infections in horses from the northeastern United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2000, **217** (7), 1045-1050.
- 110 - MALONEY EM, LINDENMAYER JL. Seroprevalence and clinical signs of Lyme disease in Cape Cod horses, *Eq. Pract.*, 1992, **14**, 15-19.
- 111 - MANION TB, BUSHMICH SL, et al. Suspected clinical Lyme disease in horses : Serological and antigen testing differences between clinically ill and clinically normal horses from an endemic region. *J. Eq. Vet. Sc.*, 2001, **21** (5), 231-236.

- 112 - MARASPIN V, LOTRIC-FURLAIN S, STRLE F. Developpement of erythema migrans in spite of treatment with antibiotics after a tick bite. *Wien. Klin. Wochenschr.*, 2002, **114**, 616-619.
- 113 - MARCELIS L, MARNEFFE P et al. Horse reservoir for *Borrelia burgdorferi*. *Lancet*, 1987, **1**, 977.
- 114 - MARCUS LC, PATTERSON MM et al. Antibodies to *Borrelia burgdorferi* in New England horses : serologic survey. *Am. Vet. Res.*, 1985, **46**, 2570-2571.
- 115 - MONTEIL H, JAULHAC B, PIEMONT Y. La maladie de Lyme et infections à *B. burgdorferi* en Europe. *Ann. Biol. Clin.*, 1989, **47**, 428-437.
- 116 - Morbidity and mortality weekly report (MMWR), 2002, **51**, 29-31, n°2 (18 janv.)
- 117 - MULLER I, KHANAKAH G et al. Horses and *Borrelia* : immunoblot patterns with five *Borrelia burgdorferi sensu lato* strains and sera from horses of various stud farms in Austria and from the Spanish Riding School in Vienna. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2002, **291**(33), 80-87.
- 118 - NAGGIAR C, BOURLIOUX P. Borréliose de Lyme : données actuelles. *Feuillet de biologie*, 1992, **33**, 27-35.
- 119 - NOCTON JJ, DRESSLER F, RUTLEDGE BJ, RYS PN, PERSING DH, STEERE AC. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA by polymerase chain reaction in synovial fluid from patients with Lyme arthritis. *N. Engl. J. Med.*, 1994, **330**, 229-234.
- 120 - NORDSTRAND A, BARBOUR A, BERGSTROM S. *Borrelia* pathogenesis research in the post-genomic and post-vaccine era. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2000, **3**, 86-92.
- 121 - NORIS SJ, CARTER CJ, HOWELL JK, BARBOUR AG. Low-passage-associated proteins of *Borrelia burgdorferi* B31 : characterization and molecular cloning of Osp D, a surface exposed plasmid encoded lipoprotein. *Infect. Immun.*, 1992, **60**, 4662-4669.
- 122 - PAL U, FIKRIG E. Adaptation of *Borrelia burgdorferi* in the vector and vertebrate host. *Microb. Inf.*, 2003, **5**, 659-666.
- 123 - PARKER JL, WHITE KK. Lyme borreliosis in cattle and horses : a review of the litterature. *Cornell Vet.*, 1992, **82**, 253-274.
- 124 - PEREZ-EID C, RODHAIN F. Epidémiologie de la borréliose de Lyme. Conséquences en matière de prévention. *Ann. Inst. Pasteur- Actualités*, 1993, **4**, 256-269.
- 125 - PEREIZ-EID C. Epidémiologie de la maladie de Lyme en France. *Le concours médical*, 1998, **120**, 1889.
- 126 - PORTIER K, FORTIER G et al. Suspicion de maladie de Lyme chez un poney. *Prat. Vet. Eq.*, 2002, **34** (134), 59-65.
- 127 - POSTIC D, ASSOUS MV, GRIMONT PAD, BARANTON G. Diversity of *Borrelia burgdorferi sensu lato* evidenced by restriction fragment length polymorphism of rrf (5S) rrl (23S) intergenic spacer amplicons. *Int. J. Syst. Bact.*, 1994, **44**, 743-752.
- 128 - POSTIC D, BARANTON G. *Borrelia*. In : *Précis de bactériologie clinique*, Ed.ESKA Paris, 2000, 1521-1531.
- 129 - POSTIC D, MARTI RAS N, LANE RS, HENDSON M, BARANTON G. Expanded diversity among Californian *Borrelia* isolates and description of *Borrelia bissettii sp. nov.* (formerly *Borrelia* group DN 127). *J. Clin. Microbiol.*, 1998, **36**, 3497- 3504.

- 130 - PURSER JE, NORRIS SJ. Correlation between plasmid content and infectivity in *Borrelia burgdorferi*. In : *Proc.Nat.Acad. Sci. (USA)*, 2000 (Déc.5), 97, 13865-13870.
- 131 - QUINN PJ, CARTER ME, MARKEY BK, CARTER GR. The spirochaetes. In : *Clinical veterinary microbiology*, Wolfe Publishing, Londres, 1994,292-303.
- 132 - RADOSTITS OM, GAY CC, BLOOD DC, HINCHCLIFF KW. Borreliosis (Lyme borreliosis, lyme disease), In : *Veterinary medicine – A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*, 9th Ed., London : WB.SAUNDERS Company Ltd, 2000, 994-996.
- 133 - RAGNAUD JM, MORLAT P, BUISSON M, FERRER X, ORGOGOZO JM, JULIEN J et al. Manifestations neurologiques de la maladie de Lyme (à propos de 25 cas). *Rev. Med. Intern.*, 1995, **16**, 487-494.
- 134 - RAGON B, HANSLIK T, LETRILLIART L. Maladie de Lyme en France : 5500 nouveaux cas par an diagnostiqués en médecine générale. *Quot. Méd.*, 2000, **6792**, (Jeudi 2 Nov.), 8.
- 135 - RAOULT D. : Diagnostic biologique de la maladie de Lyme. Intérêt du Western-blot. *Med. Mal. Infect.*, 1990, **20**, 163-164.
- 136 - REES DH, AXFORD JS. Lyme disease : a rare but clinical important disease in the UK. *Eq. Vet. J.*, 1994, **26** (3), 175-177.
- 137 - RODHAIN F, PEREZ-EID C, BARANTON G, ALONSO JM. Aperçu de l'historique de nos connaissances sur les spirochètes. *Ann. Inst. Past.*, 1993, **4**, 243-246.
- 138 - RODHAIN F, PEREZ-EID C. Maladie de Lyme : épidémiologie. *Rev. Prat.*, 1989, **39**, 1291-1293.
- 139 - RUEL M. Borréliose de Lyme. *Ann. Méd. Intern.*, 1993, **144**, 117-126.
- 140 - RUEL M, DOURNON E. La maladie de Lyme. *Ann. Med. Intern.*, 1988, **139**, 555-574.
- 141 - RUEL M, ARZOUNI JP, TAILAME G, POSTIC D, FREYSS G, RAOULT D et al. Recherche de maladie de Lyme dans les paralysies faciales. Une étude multicentrique française. *Presse Med.*, 1994, **23**, 742-746.
- 142 - SAMUELS DS, MARCONI RT, GARON CF. Variation in the size of the Osp A containing linear plasmid, but not the linear chromosome, among the three *Borrelia* species associated with Lyme disease. *J. Gen. Microbiol.*, 1993, **139**, 2145-2149.
- 143 - SCHEIBLHOFER S, WEISS R, DURNBURGER H, MOSTBOCK S, BREITENBACH M, LIVEY I et al. A DNA vaccine encoding the outer surface protein C from *Borrelia burgdorferi* is able to induce protective immune responses. *Microb.Inf.*, 2003, **5**, 939-946.
- 144 - SCHOFIELD D., PARENTI D. Lyme disease vaccine. *JAMA*, 2000, **283**, 199.
- 145 - SCHUTZER SE, COYLE PK, BELMAN AL, GOLIGHTLY MG, DRULLE J. Sequestration of antibody to *Borrelia burgdorferi* in immune complexes in seronegative Lyme disease. *Lancet*, 1990, **335**, 312-315.
- 146 - SCHWARTZ JJ, GAZUMYAN A, SCHWARTZ I. rNA gene organization in the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *J. Bacteriol.*, 1992, **174**, 37-57.
- 147 - SHIH CM, CHAO LL, YU CP. Chemotactic migration of the lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*) to salivary gland extracts of vector ticks. *Am.J.Trop.Med.Hyg.*, 2002, **66**, 616-621.
- 148 - SIBILIA J, JAULHAC B, LIMBACH FX. Les manifestations rhumatologiques de la borréliose de lyme. *Rev.Méd.Int.*, 2002, **23**, 378-385.

- 149 - SIGAL LH. Lyme borreliosis : Interactions of *B.burgdorferi* sensu lato with human (and other mammalian) hosts. *Bull.Inst.Pasteur*, Paris, 1998, **96**, 189-206.
- 150 - SIMON MM, BAUER Y, ZHONG W, HOFMANN H, WALLICH R. Lyme disease : pathogenesis and vaccine development. *Zentralbl bakteriol.*, 1999, **289**, 690-695.
- 151 - SORENSEN K, NEELY DP et al. Lyme disease antibodies in thoroughbred broodmares correlation to early pregnancy failure. *J. Eq. Vet. Sc.*, 1990, **10**, 166-168.
- 152 - STANEK G, KAHL O. Chemoprophylaxis for Lyme borreliosis ? *Zentralbl Bakteriologie*, 1999, **289**, 655-665.
- 153 - STEERE AC, MALAWISTA SE, SNYDMAN DR, SHOPE RE, ANDIMAN WA, ROSS MR et al. Lyme arthritis : an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. *Arthritis Rheum.*, 1977b, **20**, 7-17.
- 154 - STEERE AC, GROSS D, MEYER AL, HUBER BT. Autoimmune mechanisms in antibiotic treatment-resistant Lyme arthritis. *J.Autoimmun.*, 2001, **16**, 263-268.
- 155 - STEERE AC, COBURN J, GLICKSTEIN L. The emergence of Lyme disease. *J. Clin. Invest.*, 2004, **113**, 1093 - 1101.
- 156 - THANASSI WT, SCHOEN RT. The Lyme disease vaccine :conception, development and implementation. *Ann. Intern. Med.*, 2000, **132**, 661-668.
- 157 - TRAP D. La maladie de Lyme : Une cause d'arthrite et de boiterie souvent mal connue chez les chevaux. *Prat. Vet. Eq.*, 1990, **3**, 49-51.
- 158 - TRAP D. Aspects cliniques, épidémiologiques, diagnostiques et moyens de lutte dans la maladie de Lyme chez les animaux domestiques. *GTV*, 1996, **2**, 55-59.
- 159 - VANDAM AP, KUIPER H, VOS K, WIDJOJOKUSUMO A, DE JONGH BM, SPANJAARD L et al. Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Clin. Inf. Dis.*, 1993, **17**, 708-717.
- 160 - VEYSSIER P. Manifestations cliniques de la maladie de Lyme. *Rev. Prat.*, 1989, **39**, 1294-1299.
- 161 - VOLKMAN D.J., LUFT B.J., GOREVIC P.D., SCHULTZ J., PADOVANO L. Characterization of an immunoreactive 93 KDa core protein of *Borrelia burgdorferi* with a human IgG monoclonal antibody. *J. Immunol.*, 1991, **146**, 3177-3182.
- 162 - WEBER K, BURGDORFERI W. Aspects of Lyme borreliosis. Springer-verlag, Berlin, 1993.
- 163 - WILSKE B, PREAC-MURSIC V, GOBEL UB, GRAF B, JAURIS S et al. An OspA serotyping system for *Borrelia burgdorferi* based on reactivity with monoclonal antibodies and OspA sequence analysis. *J. Clin. Microbiol.*, 1993, **31**, 340-350.
- 164 - WILSKE B, PREAC-MURSIC V, JAURIS S, HOFMANN A, PRADEL I, SOUTSCHEK E et al. Immunological and molecular polymorphisms of OspC, an immunodominant major outer surface protein of *Borrelia burgdorferi*. *Infect. Immun.*, 1993, **61**, 2182-2191.
- 165 - WORMSER GP, RAMANATHAN R, NOWAKOWSKI J, MCKENNA D, HOLMGREN D, VISINTAINER P et al. Duration of antibiotic therapy for early Lyme Disease. A randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Ann.Int.Med.*, 2003, **138**, 697-704.
- 166 - ZAJKOWSKA JM, HERMANOWSKA-SZPAKOWICZ T. New aspects of the pathogenesis of Lyme disease. *Przegląd epidemiol*, 2002, **56**, suppl.1, 57-67.
- 166 - ZELTZMANN P. La maladie de Lyme. *Action vétérinaire*, 1992, **1250**, 14-17.

