

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERNAIRE-ALGER

**PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE**

LA BORRELIOSE DE LYME CHEZ LE CHEVAL

Présenté par :

ROUINA ABDELAZIZ

SAIFI HAMZA

BOUCHARMA SEIF EDDINE

Soutenu le 03/06/1015

Membres de jury:

- Promoteur : AZZAG, N: Maitre de conférences classe A
- Président : GHALMI, F :Maitre de conférences classe A
- Examineur : DERDOUR, S :Maitre assistante classe A
- Examineur : TENAH,N :Maitre de conférences classe A

Année universitaire : 2014/2015

Remerciements

Nous tenons à remercier notre promotrice le Dr Azzag
Qui nous a fait l'honneur de diriger et corriger ce travail.
Qu'elle trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre
profond respect

On adresse nos remerciements au commandement de la Garde
Républicaine et plus particulièrement à Mr Boumehdiou.

Nos remerciements à Madame Bazizi Ratiba professeur à l'Ecole
Nationale Supérieure Vétérinaire pour son aide, sa disponibilité, son
soutien et sa gentillesse.

On adresse également nos remerciements aux membres jury qui
nous ont fait l'honneur d'avoir accepté d'évaluer ce modeste travail.

Un immense merci à tous ceux et celles qui ont contribué à la
réalisation de ce travail.

Dédicaces

A mes parents, pour votre précieux soutien, vos encouragements, vos conseils... mille merci.

Ames deux chers frères Mohamed et Badr

Ames deux chères sœurs Lamia et Safa

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur de réussite et de santé

A tous les membres de ma familles petits et grands veuillez trouvez dans ce travail l'expression de mon affection

A mes chers ami(e)s en témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de

tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur et de réussite

A tous ceux et celles qui nous ont aidé à réaliser ce travail

Rouina Abdelaziz

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail aux êtres les plus chers

A mes parents

A mon frère et mes sœurs

A tous mes ami(e)s

Seifeddine Boucherma

Dédicaces

je dédie ce travail à ma famille:

A ma merveilleuse mère qui a cru en moi et m'a toujours guidée et encouragée à aller de l'avant et persévérer dans mes études.

A la mémoire de mon défunt père qui restera toujours présent dans mon cœur

A mes frères : Mehdi et Kamel et ma sœur : Aida.

A celle qui était à mes côtés et a su comment m'apporter son soutien, ma chère Khalida.

A mes amis ROUINA ABDELAZIZ ET SEIF EDDINE BOUCHARMA qui m'ont beaucoup aidé durant ces années d'études et surtout dans ce travail.

A Dr.AZZAG notre promotrice et à tous les professeurs qui ont contribué a notre formation.

Enfin à mes proches et tous mes ami(e)s.

Hamza Saifi

Liste des abréviations

AC: anticorps

ADN: Acide Désoxyribo-Nucléique

AMM: autorisation de mise sur le marché

BSK: Barbour-Stonner-Kelly

ECM: érythème chronique migrant

ELISA: Enzyme like Immuno-Sorbent Assay

I : Ixodes

IFI : immunofluorescence indirecte

IgG: immunoglobuline de type G

IL: interleukine

KDa: killo Dalton

LCR : liquide céphalo rachidien

LPS: lipopolysaccharide

M: Mètre

Mm : Micro mètre

P.B.S: phosphate buffred saline

PCR : polymerasechainreaction

PH: potential d'hydrogène

Th: lymphocyte T helper

TNF alpha: tumor necrosis factor alpha

UI: Unité international

SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
Historique.....	2

CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DE LA MALADIE DE LYME	4
I.1. Espèces infectées.....	4
I.2. Le vecteur.....	4
I.2.1. Classification et habitat	4
I.2.2. Le cycle évolutif du vecteur	5
I.3. Répartition géographique de la maladie de Lyme et du vecteur	6
I.4. Importance.....	7
I.4.1. Importance chez l'Homme (voir tableau).....	7
I.4.2. Importance chez le cheval	7
I.5. Saisonnalité	8
II. ETUDE DE L'AGENT PATHOGENE <i>BORRELIA BORRELIA BURGDORFERI SENSU LATO</i> 8	
II.1. Taxonomie.....	8
II.2. L'organisation génomique.....	9
II.3. La morphologie	10
II.4. La structure	10
II.4.1. La couche amorphe	10
II.4.2. L'enveloppe externe	10
II.4.3. L'appareil locomoteur	11
II.4.4. Le cylindre protoplasmique.....	11
II.5. Facteurs de virulence	11

II.5.1. Les protéines de surface (outer surface protein)	11
II.5.1.1. La protéine de l'enveloppe externe OspA	11
II.5.1.2. la Protéine OspB	12
II.5.1.3. La protéine OspC	12
La protéine OspD	12
II.5.2. La flagelline.....	12
II.5.3. La protéine p39.....	12
II.5.4. Le LPS like	13
II.6. Culture et métabolisme.....	13
III. LA PATHOGENIE.....	13
III.1. Pouvoir pathogène expérimental	14
III.2. Pouvoir pathogène naturel	15
IV. ETUDE CLINIQUE DE LA MALADIE DE LYME	16
IV.1. Signes cliniques chez le cheval	16
IV.1.1. Boiterie	16
IV.1.2. Signes neurologiques : méningo-encéphalite	17
IV.1.3. Signes ophtalmologiques : uvéite	17
IV.2. Signes cliniques chez l'Homme	18
V. LE DIAGNOSTIC.....	19
V.1. Le diagnostic biologique	19
V.1.1. les prélèvements pour la recherche bactériologique	20
V.1.2. prélèvements pour la sérologie	20
V.1.3. Recherche de <i>Borrelia</i> par les méthodes directes	20
V.1.3.1. L'examen direct.....	20
V.1.3.3. L'immunofluorescence directe	20

V.1.3.4. Les techniques de coloration	21
V.1.3.5. La recherche de <i>Borrelia</i> par culture	21
V.1.3.5.1. Le milieu BSK II	21
V.1.3.5.2. Mise en culture de divers prélèvements.....	22
V.1.3.6. L'amplification génique La PCR Polymerase Chain Reaction.....	22
V.1.4. Les méthodes indirectes.....	22
V.1.4.1. L'immunofluorescence indirecte.....	22
V.1.4.2. ELISA	23
V.1.4.3. Western-blot.....	23
V.2. Le diagnostic clinique	24
V.3. Diagnostic épidémiologique	24
V.4. Diagnostic différentiel	24
VI. LE TRAITEMENT ET LA PROPHYLAXIE	25
VI.1. Le traitement	25
VI.2. La prophylaxie.....	26
VI.2.1. La prophylaxie médicale	26
VI.2.1.1. La vaccination	26
VI.2.2. prophylaxie sanitaire.....	26
VI.2.2.1. La lutte contre les tiques.....	26
VI.2.2.2. Utilisation des antiparasitaire.....	26
VI.2.2.3. L'inspection visuelle.....	27

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET MÉTHODE

I. SELECTION DE LA ZONE GEOGRAPHIQUE	29
II. IDENTIFICATION DES ANIMAUX ET DES PRELEVEMENTS	29

V.1.3.2. L'examen en microscopie à fond noir.....	20
II.1. Identification des animaux	29
II.2. Les prélèvements	29
III ANALYSE DES PRELEVEMENTS PAR IFI (IMMUNOFLUOROSCENCE INDIRECTE)....	30
III.1. Principe et avantage de l'IFI.....	30
III.2. Matériels utilisés.....	30

CHAPITRE 3 : RESULTATS

I. DESCRIPTION DE LA POPULATION EQUINE ETUDIEE.....	38
II. SEROPREVALENCE POUR BORRELIA BURGENDORFERI SENSU LATO	38
III. LA SEROPREVALENCE SELON L'AGE DES CHEVAUX.....	38
IV. LA SEROPREVALENCE SELON LA RACE DES CHEVAUX.....	39

CHAPITRE 4 : DISCUSSION

DISCUSSION	42
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	44
BIBLIOGRPHIE.....	46

Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Nombre de cas annuel de la borreliose de Lyme chez l'Homme dans certains pays.....</i>	<i>7</i>
<i>Tableau 2: exemple de la prévalence de la maladie de Lyme chez le cheval dans certains pays</i>	<i>7</i>
<i>Tableau 3: Comparaison des Formes cliniques de la maladie de Lyme chez l'homme et le cheval</i>	<i>19</i>
<i>Tableau 4: diagnostic différentiel de la maladie de Lyme</i>	<i>25</i>
<i>Tableau 5: Barème de lecture des lames de Borrelia burgdorferi sensu lato.....</i>	<i>35</i>
<i>Tableau 6: Interprétation des résultats de la lame N° 1 de borrelia burgdorferi sensu lato selon le barème</i>	<i>36</i>
<i>Tableau 7: Classification des chevaux selon l'âge t la race.....</i>	<i>38</i>
<i>Tableau 8: La séroprévalence selon l'âge des chevaux</i>	<i>39</i>
<i>Tableau 9: La séroprévalence selon la race des chevaux</i>	<i>39</i>

Liste des figures

<i>Figure 1 : cycle de développement d’Ixodes d’après.....</i>	<i>5</i>
<i>Figure 2 : Distribution globale des vecteurs et de la maladie</i>	<i>6</i>
<i>Figure 3:nombre de cas annuels confirmés aux USA sur la période 2001-201.....</i>	<i>8</i>
<i>Figure 4:taxonomie de borrelia</i>	<i>9</i>
<i>Figure 5:morphologie d’un spirochète.....</i>	<i>10</i>
<i>Figure 6: schéma représentant le cylindre protoplasmique</i>	<i>11</i>
<i>Figure 7: Expression des protéines de surface de B.burgdorferi lors de l’infestation de l’hôte</i>	<i>16</i>
<i>Figure 8 : cheval présentant un épiphora</i>	<i>17</i>
<i>Figure 9: l’érythème chronique migrant (ECM)</i>	<i>18</i>
<i>Figure 10: B. burgdorferi en immunofluorescence indirecte positive.</i>	<i>23</i>
<i>Figure 11: tire tique</i>	<i>27</i>
<i>Figure 12 : tubes eppendorfs remplis de sérums de chevaux</i>	<i>29</i>
<i>Figure 13: Schéma illustrant le principe de la technique d’immunofluorescence indirecte</i>	<i>30</i>
<i>Figure 14: tubes en verre (5ml)</i>	<i>31</i>
<i>Figure 15:flacon de PBS (phosphate buffer saline)</i>	<i>31</i>
<i>Figure 16: deux pipettes.....</i>	<i>32</i>
<i>Figure 17: Verrerie propre rincée à l’eau distillée et agitateur magnétique.</i>	<i>32</i>
<i>Figure 18: la lame de borrelia burgdorferi sensu lato</i>	<i>33</i>
<i>Figure 19: conjugué anticoprs anti Ig équin</i>	<i>33</i>
<i>Figure 20: Vortexer les sérums (après décongélation) dilués dans le PBS.....</i>	<i>34</i>
<i>Figure 21:Lamelles utilisées pour le montage des lames</i>	<i>34</i>
<i>Figure 22: le liquide de montage</i>	<i>34</i>

INTRODUCTION GENERALE

La maladie de Lyme, également appelée la borréliose de Lyme est une zoonose causée par un spirochète nommé *borrelia burgdorferi*. Il s'agit d'une maladie dont l'agent bactérien se transmet naturellement à l'animal et à l'homme par le biais d'un vecteur (arthropodes hématophages).

En plus de l'homme, cette maladie touche de nombreuses espèces d'animaux domestiques, présentant ainsi la première maladie à vecteur de l'hémisphère nord.

Cette maladie est caractérisée par son extrême diversité à la fois épidémiologique, clinique et diagnostique. En ce qui concerne le cheval, cette affection est le plus souvent méconnue et sous diagnostiquée. Le cheval peut être porteur de la bactérie mais sans développer de signes cliniques.

On la qualifie souvent de maladie ré-émergente, et ceci est dû d'un côté au réchauffement climatique, le retour à la nature et l'extension des zones forestières. D'un autre côté les modifications ayant subi l'agent pathogène ainsi que son vecteur.

Par le biais de cette étude bibliographique, nous allons dans un premier lieu présenter la maladie de Lyme chez le cheval par une synthèse bibliographique. Dans un ordre chronologique nous nous intéresserons à travers les différents chapitres à l'étude épidémiologique de la maladie, l'étude de l'agent pathogène et sa pathogénie, les aspects cliniques de la maladie ainsi que son diagnostic et enfin le traitement et la prévention.

Dans un second lieu, nous exposerons notre étude expérimentale qui a pour but la détermination du statut sérologique d'une population de chevaux de la garde républicaine vis-à-vis de *borrelia burgdorferi sensu lato*.

HISTORIQUE

Alfred Buchwald décrit à Breslau (1883) un cas d'atrophie cutanée diffuse idiopathique, appelée acrodermatitis chronica atrophicans par Rille (1898) et redécrite ensuite par Herxheimer et Hartmann (1902). En suède, Aphzelius (1910) observe une lésion dermatologique en anneau survenue après une piqûre de tique. Lipschutz (1914), en Autriche, revoit la même lésion et introduit le terme "erythema chronicum migrans", en raison de l'évolution assez longue (7mois) de cette manifestation constatée chez un de ses patients.

La description de la première manifestation neurologique après morsure de tique est due à Garin et Bujadoux(1922) mais il s'agit en fait d'une méningo-radiculite, appelée à tort par ces auteurs paralysie à tique. Bannwarth, en Autriche (1941), donne une description approfondie d'un syndrome survenant après morsure de tique, pouvant être précédé d'un érythème, associant une méningite lymphocytaire, des atteintes radiculaires douloureuses et des paralysies des nerfs crâniens. Ce syndrome est actuellement connu sous le nom de syndrome de Garin-Bujadoux-Bannwarth.

Lenhoff(1948) observe des spirochètes dans différentes lésions dermatologiques dans "l'Erythema chronicum migrans" en particulier Binder et al (1955) prouvent la transmission humaine de la maladie en transplantant sur eux-mêmes une biopsie cutanée effectuée à la périphérie d'un "Erythema chronicum migrans" présenté par un patient. En une à trois semaines se développent des lésions typiques qui disparaissent après traitement par la pénicilline.

Aux Etats-Unis, le premier cas d'érythème chronique migrant est décrit par Scrimenti (1970). Pour les Américains, l'histoire de cette maladie débute avec l'entêtement de deux mères de famille habitant la petite ville de Lyme, confrontées à une épidémie d'arthrite, survenue chez des membres de leur famille mais aussi chez leurs voisins.

Elles refusèrent le diagnostic d'arthrite chronique juvénile porté par les médecins et s'adressèrent, en Novembre 1975, l'une au département de santé de l'état du Connecticut, l'autre au département de rhumatologie de l'université de Yale. Ces démarches aboutissent à la réalisation d'une enquête rétrospective de Sterne et al (1977), portant sur 51 résidents (39 enfants et 12 adultes), qui est à l'origine de la description des signes articulaires de la maladie de l'individualisation d'une entité clinique particulière, l'arthrite de Lyme. La notion d'érythème chronique migrant est retrouvée chez 25 % des patients. Une seconde enquête, prospective cette fois, démontre l'origine commune de la lésion cutanée et des manifestations articulaires. La transmission de la maladie par la tique *Ixodes dammini* est établie lors d'une enquête épidémiologique menée dans 12 communes situées de part et d'autre de la rivière Connecticut. Les résidents affectés par la maladie vivent en milieu rural ou dans des quartiers boisés, travaillent, jouent ou se promènent près des bosquets, dans les champs ou les marécages où les tiques sont abondantes. L'étude montre une incidence de la maladie 30 fois

supérieure chez les résidents de la rive est par rapport à la rive ouest. Parallèlement, l'enquête acarologique menée par Wallis et al. (1978) montre une différence similaire dans la distribution des tiques.

L'agent responsable de la maladie de Lyme restait toutefois inconnu, malgré les multiples enquêtes sérologiques effectuées, jusqu'à ce que Burgdorfer et al isolent des spirochètes de l'intestin d'*I. dammini*. Cette bactérie est cultivée sur milieu de Kelly modifié.

Frappés par les similitudes épidémiologiques entre la maladie de Lyme américaine et l'érythème chronique migrant européen, Burgdorfer et al (1983) recherchent la bactérie chez *Ixodes ricinus*, la tique incriminée dans l'érythème chronique migrant.

L'étude réalisée en Suisse dans le canton de Berne a permis de trouver dans l'intestin d'*I. ricinus* des spirochètes qui répondaient fortement en immunofluorescence à des anticorps dirigés contre les spirochètes isolés d'*I. dammini*. Les spirochètes isolés d'*I. dammini* cultivés sur milieu BSK, étaient morphologiquement identiques à ceux isolés d'*I. ricinus*. L'érythème chronique migrant en Europe et la maladie de Lyme aux Etats-Unis étaient donc l'expression d'un même processus infectieux. Johnson et al. (1984) ont donc créé une nouvelle espèce de *Borrelia* qu'ils dédient à Burgdorfer, *Borrelia Burgdorferi*, pour désigner les spirochètes ainsi isolés, qui ne portaient pas de nom spécifique ni même générique.

I ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DE LA MALADIE DE LYME

I.1. Espèces infectées

La maladie de Lyme est présente chez l'Homme et les mammifères domestiques, surtout le chien, les équidés, les ruminants et rarement le chat. (EUZEBY.1989).

La borréliose touche théoriquement toutes les races de chevaux. Les races rustiques, sont les plus atteintes car elles sont presque souvent en contact avec le vecteur (tiques) (CARTER et al.,1994). Il ne semble pas y avoir de prédisposition de sexe, mais le pourcentage des sujets séropositifs augmente avec l'âge. (MALONEY et LINDENMAYER .1992).

D'autres espèces peuvent être porteuses de l'agent pathogène mais sans développer des signes cliniques (porteurs asymptomatiques).

I.2. Le vecteur

I.2.1. Classification et habitat

Les tiques sont les principaux vecteurs de la maladie de Lyme. Ce sont des ectoparasites obligatoires, se nourrissant du sang des vertébrés, plus particulièrement de celui des mammifères(hématophages), oiseaux et reptiles. Ce sont des *arachnides* qui appartiennent à l'ordre des *Acarions*. Actuellement, 896 espèces de tiques sont regroupées en trois familles: *Ixodidae* (ou tiques dures, 702 espèces), *Argasidae* (ou tiques molles, 193 espèces) et *Nuttalliellidae* (1 espèce) (GUGLIELMONE et al. 2010). La famille des *Ixodidae* est la plus importante au vu du nombre d'espèces comprises et de leur importance médicale et vétérinaire (OLIVER. 1989).

Vu que l'*Ixodes* est une tique exophile, le sol représente son biotope de repos, elle y passe donc une longue période de son cycle de développement. C'est là (dans la litière composée par les feuilles en décomposition) que l'on retrouve les œufs et les larves. Le milieu de vie des tiques doit répondre à deux conditions indispensables à leur survie :

L'hygrométrie doit être supérieure à 80% dans les périodes les plus sèches de l'année.

D'autre part, le milieu doit être riche en hôtes potentiels pour les trois stades de développement.

En gros, on retrouve la tique principalement dans les forêts qui offrent une végétation couvrante, dans les fourrés, les arbustes, les sous-bois, les chemins creux, en bordure de pâturage ou encore dans les pâtures où elles se nourrissent sur le bétail.

I.2.2. Le cycle évolutif du vecteur

Les *Ixodes* se développent selon 3 stades : larve, nymphe et adulte. Leur cycle est triphasique: à chaque stade il y a repas de sang sur un hôte distinct du stade précédent, et cela pendant plusieurs jours consécutifs. Les larves et les nymphes sont capables de parasiter une large gamme de vertébrés tandis qu'il est plus fréquent de trouver les adultes sur les grands mammifères en particulier les cervidés (PEREZ-EID 2007).

Bien qu'il existe une transmission trans-ovarienne (de l'adulte à la larve) de certains spirochètes, cela ne survient pas avec les espèces du complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* (RADOLF et al. 2012). Les larves ne sont jamais infectées lorsqu'elles éclosent (elles ne sont donc pas responsables de la transmission de la maladie). *Borrelia burgdorferi sensu lato* est acquise par la tique après un repas de sang sur un hôte réservoir infecté, et est conservée au cours des mues et des repas de sang suivants. Sa transmission est donc trans-stadiale. Ce sont les nymphes infectées qui perpétuent le cycle de transmission de la bactérie pour les générations de larves suivantes lors de leur repas en inoculant le spirochète à un hôte compétent (rongeurs, oiseaux) qui devient réservoir de la maladie. Les tiques adultes ne jouent pas un rôle important dans la transmission de l'infection car elles se nourrissent principalement sur les cervidés, hôtes non compétents pour *Borrelia burgdorferi sensu lato* (ils ne permettent pas son développement au sein de leur organisme, Cependant, les cervidés sont importants dans l'entretien des populations d'*Ixodes* car les tiques adultes se reproduisent sur eux. L'homme, comme les animaux domestiques, constitue un cul-de-sac épidémiologique car il ne participe pas au maintien de l'infection (Savey et Dufour 2004).

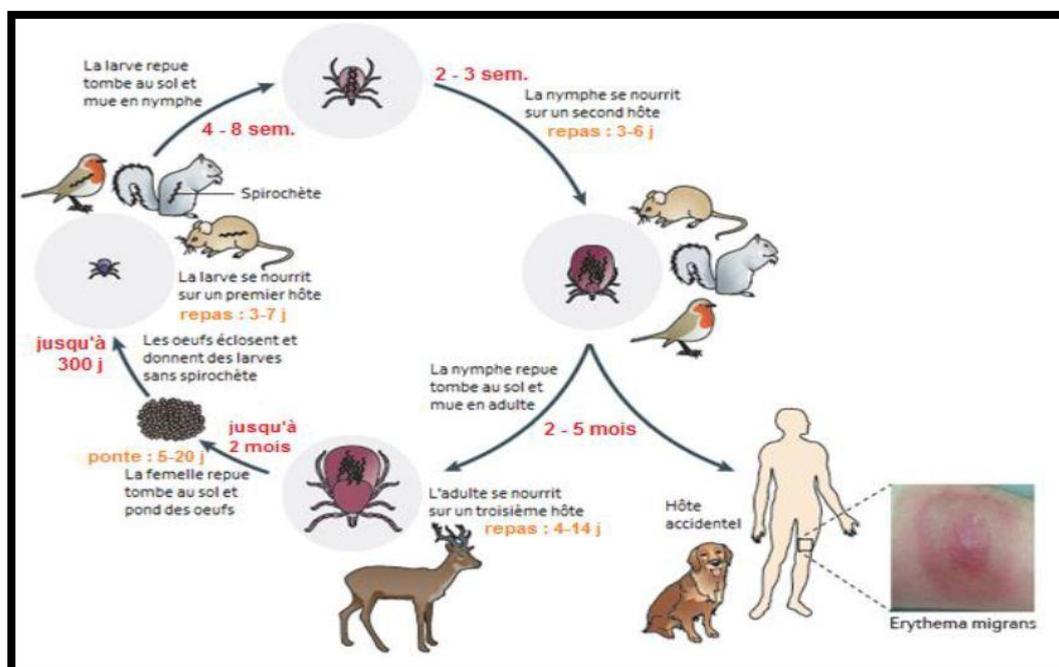


Figure 1 : cycle de développement d'*Ixodes* d'après (RADOLF et al. 2012)

I.3. Répartition géographique de la maladie de Lyme et du vecteur

La répartition des cas de maladie de Lyme dans le monde est en relation étroite avec la localisation géographique des tiques du genre *Ixodes* (figure 2), responsables vecteurs du spirochète, et se limite à l'hémisphère nord. En effet le climat tempéré pose les limites en latitude et en altitude à la distribution géographique du vecteur *Ixodes* (existence des conditions et milieux de vie favorables), donc de la maladie. En Amérique, la maladie est endémique dans certaines régions tempérées des Etats-Unis et du Canada, et est transmise par *Ixodes scapularis*. Par contre en Europe, la maladie est transmise par *Ixodes ricinus* et est présente dans toute l'Europe continentale avec une fréquence particulièrement élevée dans le sud de la Scandinavie, en dessous d'une latitude de 65° Nord en Suède, les Pays-Bas, l'Allemagne et les Pays de l'Est (LINDGREN et JAENSON. 2006). Aujourd'hui Les tiques sont capables de survivre jusqu'à des altitudes de 1300 m comme cela a été montré dans les Alpes italiennes (RIZZOLI et al ., 2002). Enfin, des populations d'*Ixodes* existent en Afrique du Nord et au Proche-Orient (GRAY et al ., 2002).

Dans d'autres continents

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, plus particulièrement 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.

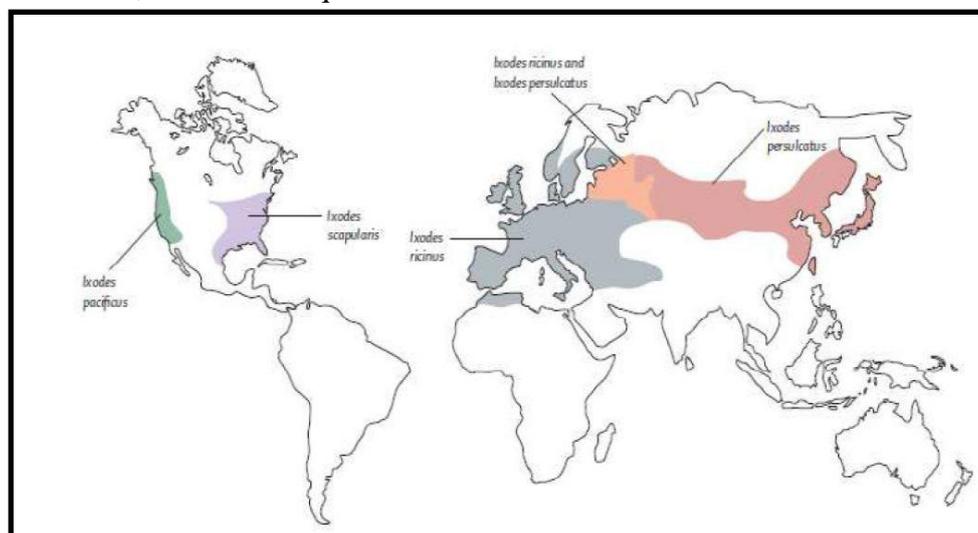


Figure 2 : Distribution globale des vecteurs et de la maladie (STANEK et al., 2012)

I.4. Importance

La borréliose de Lyme représente la première maladie vectorielle de l'hémisphère nord. Plusieurs études ont été établies sur, car il existe de nombreuses zones inconnues concernant notamment sa prévalence, tant chez l'homme que chez l'animal.

I.4.1. Importance chez l'Homme (voir tableau)

Tableau 1 : Nombre de cas annuel de la borreliose de Lyme chez l'Homme dans certains pays

	États-unis	Europe	France	Royaume Uni
Nombre de cas annuel	16000	50000	5500	3000
Références	Center For Disease Control 2004	SIBILIA et al.,2002	SIBILIA et al.,2002	SIBILIA et al.,2002

I.4.2. Importance chez le cheval

L'épidémiologie de la maladie de Lyme est basée essentiellement sur des analyses sérologiques. Ces prévalences concernent plus une population atteinte mais une population exposée. (voir tableau).

Tableau 2: exemple de la prévalence de la maladie de Lyme chez le cheval dans certains pays

Pays	Nombre totale des chevaux	Nombre De chevaux infectés	Pourcentage	Diagnostic	Références
USA (Wisconsin)	190	118	62,10%	TEST SEROLOGIQUE	BURGES et al.,1988
USA(New York Et Connecticut)	705	92	13,08%	TEST SEROLOGIQUE	TRAP D.,1990
Allemagne	1492	715	47,9%	TEST SEROLOGIQUE	LIEBISCH G et al.,2001
France (Bretagne)	400	146	36,5%	TEST SEROLOGIQUE	DOBY et al.,1987

I.5 Saisonnalité

Le caractère saisonnier de la maladie est semblable entre l'Europe et les Etats-Unis (GRAY et al. 2002). Un pic d'incidence est clairement établi entre mai et octobre, mais des cas sont déclarés toute l'année donc, il faut prendre en compte la période d'apparition des symptômes et le délai du diagnostic. Ce pic d'incidence correspond d'un côté à la période d'activité favorable dans le cycle biologique des tiques avec notamment des températures plus clémentes et d'un autre côté la période vacancière estivale, propice à la visite d'aires rurales (notamment forestières) infestées (LINDGREN et JAENSON. 2006).

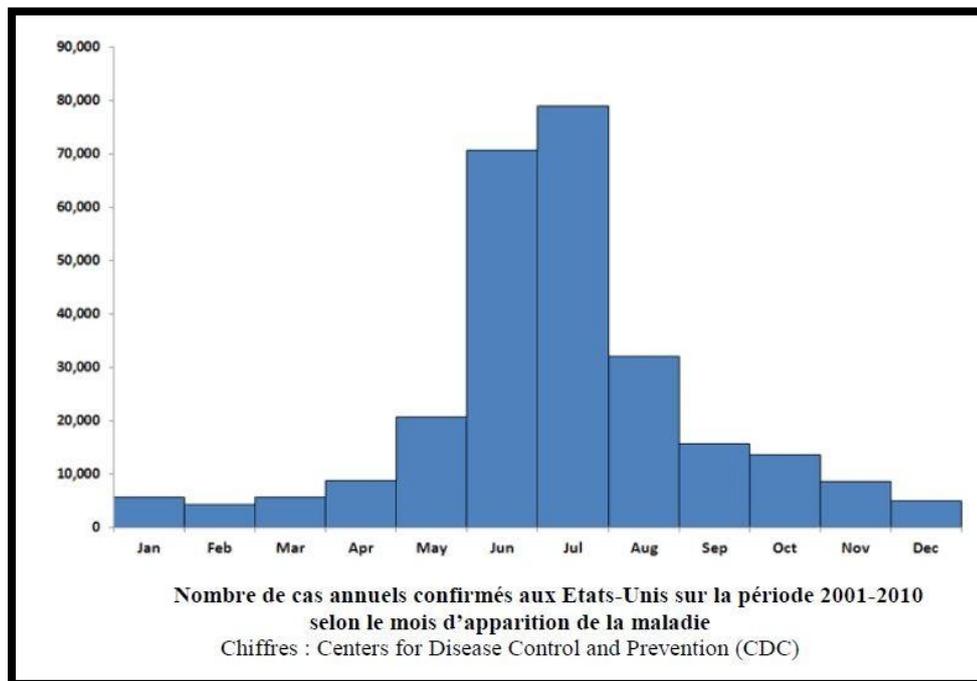


Figure 3: nombre de cas annuels confirmés aux USA sur la période 2001-2010 (CDC.2012)

II ETUDE DE L'AGENT PATHOGENE BORRELIA *borreliaburgdorferi sensu lato*

II.1. Taxonomie

L'agent pathogène de la maladie de Lyme est une bactérie du genre *Borrelia*. Elle appartient à l'ordre des *Spirochaetales* caractérisé par leur morphologie hélicoïdale et leur organe locomoteur interne. (PILLOT et al., 1989). Les Spirochètes sont divisés en deux grandes familles : les *Spirochaetaceae* et les *Leptospiraceae* ; elles même divisées en 6 genres dont 4 appartiennent à la famille des *Spirochaetaceae* : les genres *Spirochaeta*, *Critispira*, *Treponema* et *Borrelia* et deux appartiennent à la famille des *Leptospiraceae*: les genres *Leptospira* et *Leptonema*. (GARRITY et al., 2004)

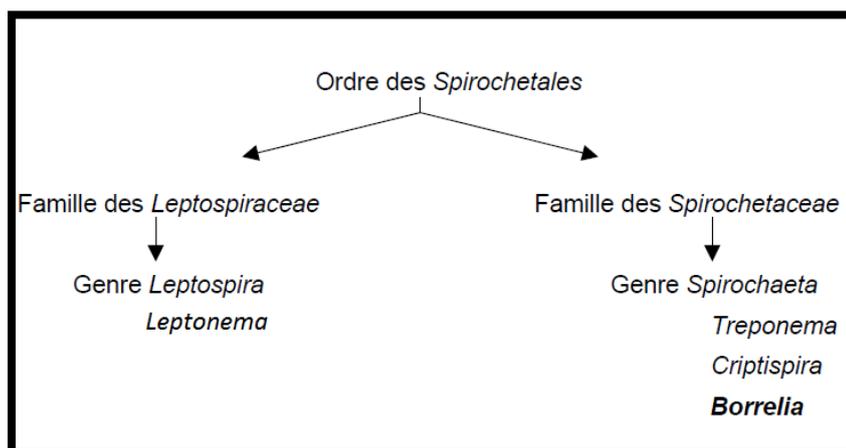


Figure 4:taxonomie de borrelia

Le genre *borrelia* est également divisé en 3 groupes d'organismes, parmi ces 3 groupes on a le complexe *B. burgdorferi sensu lato* qui lui-même comporte au moins 19 génoespèces :

B. burgdorferi sensu stricto (Johnson et al. 1984), *B. afzelii*(Canica et al. 1993), *B.garinii*(Baranton et al. 1992), *B. valaisiana*(Wang et al. 1997), *B. lusitaniae*(Le Flèche et al. 1997), *B. japonica*(Kawabata et al. 1993), *B. andersonii* (Marconi et al. 1995), *B. bissetii*(Postic et al. 1998), *B. tanukii*et *B. turdi*(Fukunaga et al. 1996), *B. sinica*(Masuzawa et al. 2001), *B. spielmani*(Richter et al. 2006), *B. bavariensis*(Margos et al. 2009),*B. finlandensis*(Casjens et al. 2011), *B. yangtze*(Chu et al. 2008), *B. americana* (Rudenko et al. 2009), *B. californiensis*(Postic et al. 2007), *B.carolinensis*(Rudenko et al.2011) et *B. kurtenbachii*(Margos et al. 2010).

II.2. L'organisation génomique

- Le génome est composé d'un chromosome linéaire d'une longueur de 910'725 pb.
- De 12 plasmides linéaires (361'364 pb) et 9 plasmides circulaires (249'330 pb)représentant au total un génome de 1,52 Mpb.ce qui représente le nombre le plus élevé de matériel génétique extra chromosomal du monde bactérien.

II.3. La morphologie

Borrelia burgdorferi présente la structure caractéristique des spirochètes à savoir qu'elle est hélicoïdale. De plus, c'est une bactérie mince, elle mesure de 4 à 30 µm de longueur et 0,2 à 0,4 µm de diamètre, et très surtout mobile.(EUZEBY.1989et KEITA.1994). Les spires sont peu serrées (de 4 à 8 tours d'amplitude variant de 1,5 à 4,6 µm) et semblent orientées vers la gauche.

Borrelia burgdorferi représente l'une des quatre espèces du genre d'intérêt médical et vétérinaire.(EUZEBY.1989)

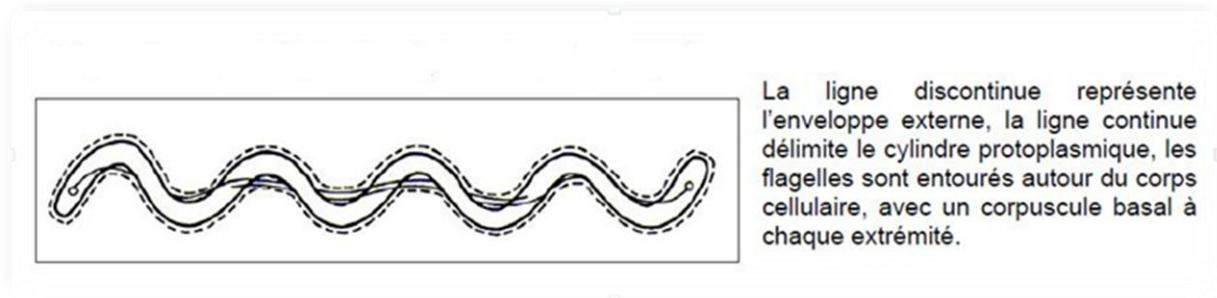


Figure 5:morphologie d'un spirochète (KELLY et al., 1984)

II.4. La structure

De l'extérieur vers l'intérieur on trouve :

II.4.1. La couche amorphe

Elle est composée d'hydrates de carbone et peut-être facilement éliminée par simple lavage au tampon PBS.(EUZEBY.1989)

II.4.2. L'enveloppe externe

Sa structure présente une apparenté avec celle des bactéries à GRAM négatif. Elle est constituée de plusieurs et représente alors 16,5 % du poids sec de la bactérie.

Elle est composée de :

- 46 à 50% de protéines, 33 à 51% de lipides, 3 à 4% d'hydrates de carbone.

Des protéines majeures ayant un rôle antigénique et immunogène sont associées à l'enveloppe externe. On les appelle Osp (pour Outer Surface Protein), les principales étant OspA et OspB. Mais d'autres présentent un intérêt pour expliquer la pathogénie ou le diagnostic, comme par exemple OspC ou Osp 17.(EUZEBY.1989)

II.4.3. L'appareil locomoteur

Il est formé de flagelles, implantés à chaque extrémité du corps de la bactérie sur un corpuscule basal. Ces flagelles cheminent le long de l'axe cellulaire entre le cylindre protoplasmique et l'enveloppe externe en direction de l'extrémité opposée si bien qu'ils se chevauchent au centre de la cellule.

Leur nombre varie de 14 à 22 suivant les souches et les origines géographiques.

Leur composition chimique est proche de ceux des autres bactéries mais différent de ceux des tréponèmes par l'absence d'une enveloppe. (EUZEBY .1989)

II.4.4. Le cylindre protoplasmique

Il est limité par une membrane plasmique, elle-même associée à un peptidoglycane sur sa surface externe qui lui confère une certaine rigidité.

A l'intérieur il est constitué du cytoplasme, de l'appareil nucléaire et des plasmides. (EUZEBY .1989)

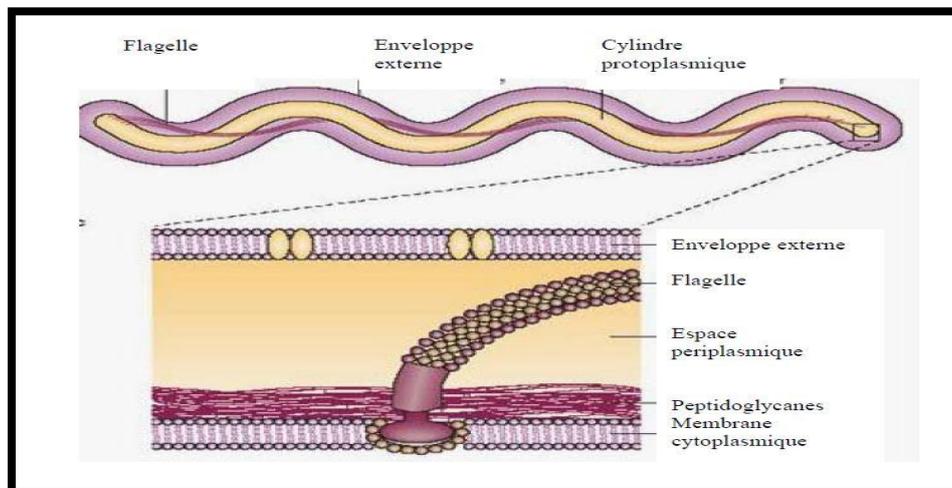


Figure 6: schéma représentant le cylindre protoplasmique

II.5. Facteurs de virulence

II.5.1. Les protéines de surface (outer surface protein)

II.5.1.1. La protéine de l'enveloppe externe OspA

Le poids moléculaire de la protéine OspA varie de 30,5 à 33kDa. Cette protéine, spécifique de *Borrelia burgdorferi*, est reconnue par les anticorps monoclonaux H3TS et H5332.(BARANTON et al.)

II.5.1.2. la Protéine OspB

La protéine OspB est une protéine majeure de surface dont le poids moléculaire est très variable selon l'espèce. Il est de l'ordre de 34kDa. Cette protéine est très spécifique de *Borrelia burgdorferi* Elle réagit selon les souches avec les deux anticorps monoclonaux H6831 et H5TS, ou avec l'un des deux, ou encore avec aucun des deux.

Remarque : OspA et OspB sont très spécifiques seulement au stade tardif de la maladie après 6 mois d'évolution. (BARANTON et al.,1992)

II.5.1.3. La protéine OspC

C'est une protéine majeure de 20 à 22kDa, très immunogène, elle réagit avec l'anticorps monoclonal L221F8. (WILSKE et al.,1993).

Les anticorps anti-OspC apparaissent précocement dans la réponse sérologique contre Bb.

Il y a aussi d'autres protéines :

La protéine OspD

C'est une protéine majeure de surface de 29kDa. Sa fonction reste inconnue. (NORISS et al.,1992)

La protéine OspE

Cette protéine de surface de 19kDa induit des anticorps qui font partie de la réponse sérologique précoce. (LAM.1994).

La protéine OspF

C'est une protéine de surface, de 26kDa, découverte en même temps que l'OspE.(LAM et al.,1994)

II.5.2. La flagelline

Cette protéine de 41kDa est spécifique du genre *Borrelia* (contrairement à OspA et OspB qui sont spécifiques d'espèces).

La flagelline induit une réponse immunitaire précoce peu spécifique. Elle réagit avec l'anticorps monoclonal H9724. (BARANTON et al.,1992).

II.5.3. La protéine p39

Cette protéine est appelée ainsi en raison de son poids moléculaire de 39kDa, sa structure est proche de celle de la flagelline mais elles sont immunologiquement différentes.

Elle est très spécifique de *B. burgdorferi* et c'est un marqueur spécifique des stades secondaire et tertiaire de la maladie. (JAULHAC et MONTEIL.1997).

II.5.4. Le LPS like

La substance « LPS like » a été isolée de l'enveloppe externe de *B. burgdorferi* et elle favorise la prolifération monoclonale de lymphocytes B, la production d'immunoglobulines et la libération de l'IL 1 rendue responsable des arthrites du stade tertiaire chez l'homme.

II.6. Culture et métabolisme (EUZEBY.19889) et (POSTIC et BARANTON.2000)

Les *borrelia* sont des bactéries micro-aérophiles, elles sont dépourvues de catalase et de peroxydase mais possèdent une superoxyde-dismutase. Leur croissance est favorisée par l'ajout de glucose car elles tirent leur énergie de la fermentation des sucres et notamment par la voie d'EMDEN-MEYERHOFF. Ceci explique l'ajout d'acide pyruvique dans leur milieu de croissance car il active la glycolyse.

On ajoute aussi dans leurs milieux :

- de l'albumine (grâce à du blanc d'œuf coagulé ou à de l'albumine sérique)
- du sérum de lapin pour apporter des acides gras (saturés ou insaturés) à longues chaînes qui sont incorporés sans modification aux lipides cellulaires de la bactérie. En effet, comme tous les spirochètes les *Borrelia* sont riches en lipides qui sont donc des facteurs essentiels à leur culture.

De même le N-acétyl-glucosamine est indispensable aux cultures car il intervient dans la composition du peptidoglycane.

En 1971, Kelly propose un milieu semi-synthétique permettant la croissance de *Borrelia hermsii*. En 1982, Stoenner y incorpore des extraits de levure et un milieu de culture cellulaire ce qui a permis les premiers isolements de *Borrelia burgdorferi*. Enfin Barbour a augmenté le pouvoir tampon du milieu et rendu la préparation plus facile. Ceci a donné le BSK II. On peut rendre le milieu plus sélectif en ajoutant des antibiotiques. Les cultures sont ensuite incubées à 30-33°C, observées et repiquées tous les 5 à 7 jours pendant 2 mois.

III LA PATHOGENIE

La pathogénie de la borréliose de Lyme a été beaucoup étudiée, surtout chez l'Homme, mais il existe encore de nombreuses zones d'ombre. Chez les animaux, tout reste à découvrir, et on se base sur les mécanismes connus chez l'Homme pour bien comprendre le tableau clinique observé.

III.1. Pouvoir pathogène expérimental

Plusieurs espèces animales ont été utilisées mais leur sensibilité à *borrelia* n'est pas la même: les infections expérimentales se font par inoculation intraveineuse, intradermique, sous cutanée ou intra péritonéale de sang ou de broyats d'organes contaminés ou bien par piqûre par un arthropode(tique) infecté. On utilise le plus souvent le hamster Syrien, la souris, le lapin, le singe Rhésus, le cobaye, le chien ou le rat.(EUZEBY.1989).

Concernant la variabilité de la sensibilité par rapport aux espèces lors des infections expérimentales, on peut citer que le lapin développe lors d'inoculation 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) faisant penser à certaines lésions chez l'Homme. (EUZEBY .1989).

Les spirochétémies 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*. (EUZEBY .1989).

Les travaux in vitro ont permis de rapporter également beaucoup de renseignements sur les tropismes, les sensibilités aux agents chimiques (notamment les cytokines), ou la perte de pathogénie au cours des cultures. (SHIH et al.,2002).

Des études sur la souris ont montré que la susceptibilité à l'arthrite est en fonction de l'âge et du génotype : exemple : *B. burgdorferi* inoculé à l'âge de 3 jours par voie intra péritonéale déclenche une arthrite chez les souches C3H/He, SWR, C57BL/6, SJL et BALB/c ; par contre, 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. (SIGAL.1998).

Ces sensibilités variables amènent les auteurs à penser que les lymphocytes T jouent un rôle critique dans la pathogénie des arthrites de Lyme(SIMON.1991). 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. (SIGAL.1998). 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 produits par 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 TNF α , 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. 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. 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. (DORWARD et FISCHER.1997).

III.2. Pouvoir pathogène naturel

Les *Borrelia* sont normalement hébergées dans le tube digestif de la tique. Dans cette localisation, la bactérie exprime essentiellement la protéine OspA, cette dernière lui permet d'adhérer aux cellules épithéliales du tube digestif. Lors du repas de la tique, l'afflux de sang dans son tube digestif réprime l'expression des OspA. Les bactéries entament une migration vers les glandes salivaires, où elles expriment la protéine OspC, qui facilite l'adhésion aux cellules épithéliales de ces glandes (d'après Laboratoire Merial, L'esprit vaccinologie).

Les facteurs entraînant la diminution de l'expression de OspA au profit de celle de OspC sont nombreux : contact du sang de l'hôte, augmentation de la température de 23 à 37°C due au sang, baisse du pH au sein de la tique de 7,4 à 6,8, ou encore augmentation de densité cellulaire due à la multiplication active de la bactérie pendant le repas sanguin.

Cependant, le mécanisme reste encore inconnu (MASSE-MOREL. 2006).

L'ensemble de ces phénomènes se produit dans les 48 heures qui suivent la fixation de la tique sur son hôte, ce qui explique que le risque de transmission est maximal après ce délai.

Chez un mammifère contaminé, le déplacement des *Borrelia* dans l'organisme s'opère majoritairement par migration tissulaire plus que par voie sanguine (d'après Laboratoire Merial, L'esprit vaccinologie).

Le mécanisme d'action pathogène exact de cette bactérie est inconnu dans le détail mais des phénomènes inflammatoires et auto-immuns sont fortement suspectés. Les *Borrelia* peuvent persister à vie chez le mammifère infecté grâce à la capacité de variation antigénique des protéines de leur membrane sous la pression immunitaire de l'hôte. Elles peuvent aussi changer de forme lorsque les conditions ne sont plus favorables.

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 (ZELTZMANN P.1992).

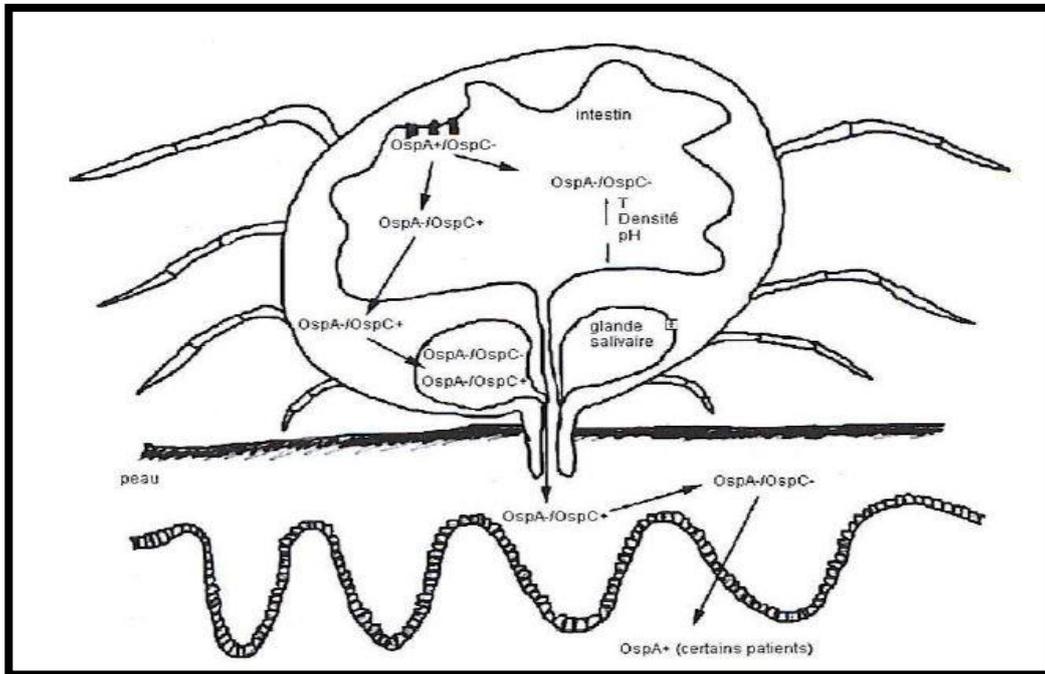


Figure 7: Expression des protéines de surface de *B.burgdorferi* lors de l'infestation de l'hôte(ANGUITA J.2003)

IV ETUDE CLINIQUE DE LA MALADIE DE LYME

La maladie clinique a été décrite chez plusieurs espèces animales : les chevaux, les chiens et les bovins surtout, mais aussi les ovins et les chats. Contrairement à ce qui se passe chez l'Homme, on ne retrouve pas l'évolution en trois phases de la maladie.

Chez le cheval, la maladie est 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. (MULLER.2002)

IV.1. Signes cliniques chez le cheval

IV.1.1. Boiterie

Borrelia burgdorferi migre dans les tissus à partir de la peau Jusqu'à dans les fascias musculaires et les membranes synoviales. Cela se traduit par des signes d'atteinte de l'appareil musculo squelettique, communément décrits dans les cas de borréliose équine, et souvent associés à de la fièvre, de l'abattement, de l'anorexie voire un amaigrissement chronique : raideur, boiterie de plusieurs membres, myosite, douleur et amyotrophie en région thoraco-lombaire. On peut noter un gonflement des membres diffus, plus rarement localisé aux articulations (Divers 2001).

Un examen clinique et locomoteur complet avec radiographie est nécessaire afin d'éliminer d'autres troubles communs :

Boiterie d'origine articulaire : ostéochondrose (boulets, jarrets, grassets), éparvin(jarrets), arthrite septique, traumatisme (entorse).

Douleur thoraco-lombaire : conflits de processus épineux de vertèbres thoraciques et/lombaires.

Raideur et signes de myosite : myopathie par surcharge en polysaccharides ou rhabdomyolyse d'effort récidivante, diagnostiquées par histopathologie sur une biopsiemusculaire.

Gonflement des membres : lymphangite, piroplasmose.(IMAI *et al.* 2011).

IV.1.2. Signes neurologiques : méningo-encéphalite

Des manifestations neurologiques de la maladie de Lyme existent chez le cheval et semblent similaires d'un cas à l'autre décrits dans la littérature (IMAI *et al.* 2011)(BURGESS *et* MATTISON1987). Ce sont généralement des troubles qui évoluent depuis plusieurs mois et traduisent une encéphalite : ataxie ou troubles de la démarche, hyperesthésie ou paralysie faciale, déficits proprioceptifs, hypermétrie des antérieurs, atrophie musculaire neurogénique. Aucun cas décrit n'a été traité avec succès.

Un article récent (2011) exposant 2 cas cliniques de neuroborréliose équine montre que la distribution des spirochètes dans les tissus du système nerveux central se concentre dans les leptoméninges et la dure-mère, de même que chez l'homme ou les modèles primates(IMAI *et al.*, 2011). Il est suggéré que l'implication du parenchyme de l'encéphale se ferait, comme dans les autres formes de borréliose, par dissémination centripète des spirochètes depuis les tissus périphériques plutôt que par voie hématogène. La neuroborréliose entre ainsi dans le diagnostic différentiel des encéphalites équines, à adapter selon la zone géographique considérée.

IV.1.3. Signes ophtalmologiques : uvéite

Parmi les agents infectieux responsables d'uvéites chez le cheval, *Leptospira* spp., autre représentant des spirochètes, est le plus souvent identifié. Cependant, cinq cas cliniques rapportent des uvéites associées à une borréliose équine.

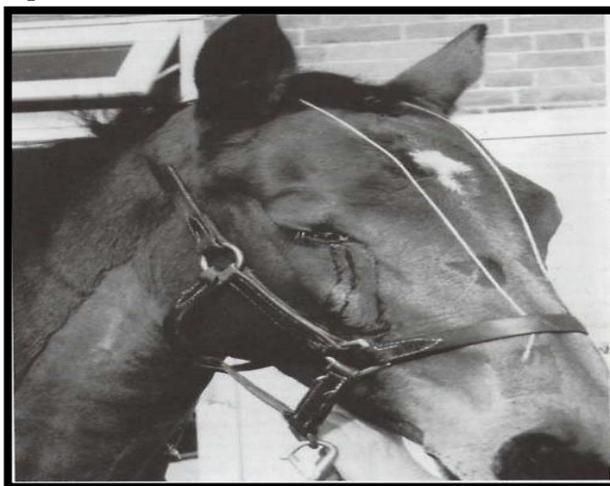


Figure 8 : cheval présentant un épiphora

IV.2. Signes cliniques chez l'Homme

Chez l'Homme, l'expression clinique de la borréliose de Lyme se fait généralement en trois phases qui se succèdent ou coexistent selon les cas.

La **phase primaire** correspond à l'expression de l'érythème chronique migrant (ECM), pathognomonique de la maladie de Lyme, présent chez 90 % des malades. Il s'agit d'une plaque rouge circulaire non prurigineuse, centrée sur la morsure de tique, s'agrandissant de façon centrifuge. Son délai d'apparition après la morsure de tique est variable, allant de quelques jours à quelques semaines. Une adénopathie satellite est possible ainsi que de petites aréoles. Ces dernières reflètent la dissémination des bactéries. Cet érythème disparaît en trois à cinq semaines suivi ou non de la phase secondaire.



Figure 9: l'érythème chronique migrant (ECM)

Lors de la **deuxième phase** le malade peut exprimer des symptômes neurologiques, lors d'une infection par *B.garini*, on parle alors de neuroborréliose. Une méningo-radiculite sensitive, une méningite lymphocytaire, des atteintes motrices périphériques et des nerfs crâniens entraînant une paralysie hémifaciale. Sont également possibles des manifestations cutanées tardives. Des problèmes articulaires généralement associés à *B.burgdorferi sensu stricto*. Ils consistent en des arthralgies, fréquentes et évoluant par poussées vers des arthrites des grosses articulations. Des atteintes cardiaques et oculaires sont également décrites mais beaucoup plus rares.

Après plusieurs mois ou années, la **troisième phase** se met en place. Elle entraîne des manifestations cutanées graves comme l'acrodermie, évoluant vers l'atrophie (Maladie de Pick-Herxheimer), ou plus bénignes comme le lymphome cutané (généralement sur le lobe de l'oreille). Même sans être compliqué des phases secondaire et tertiaire, l'ECM est suivi dans 15 % des cas d'une fatigue persistante pendant au moins six mois, ainsi que des douleurs musculo-

squelettiques ou des difficultés de concentration et de mémoire. On parle alors de syndrome post maladie de Lyme.(HADDAD N *et al.*,2012).

Voilà là dessous un tableau(3) comparatif entre les différents signes cliniques chez l'Homme et chez le cheval.

Tableau 3: Comparaison des Formes cliniques de la maladie de Lyme chez l'homme et le cheval (PRIEST et al ., 2012)

	Cheval	Homme
Erythem amigranset signes cutanés	0	✓
Arthrite et atteinte de l'appareil locomoteur	✓	✓
Atteinte du système nerveux	✓	✓
Néphropathie	0	0
Uvéite	✓	0

V LE DIAGNOSTIC

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.

V.1. Le diagnostic biologique(IMAI DM et all.,2000)(Institut Pasteur, Diagnostic biologique Leptospirose-Borreliose de Lyme 2^{èm})

Le diagnostic biologique de la borréliose de Lyme peut être réalisé par l'isolement du germe responsable, ou par détection de l'ADN de la bactérie *Borrelia burgdorferi* à partir du sang ou divers produits pathologiques. Le type de prélèvement varie en fonction de la forme clinique de la maladie.

V.1.1. les prélèvements pour la recherche bactériologique

Il est toujours préférable d'effectuer les prélèvements destinés à la bactériologie avant tout traitement antibiotique, bien que certains prélèvements ont été bien faits or que l'animal malade était sous antibiothérapie. La qualité de prélèvement a un rôle essentiel dans les chances d'isolement du germe ou de détection de son ADN.

(le sang ; les prélèvements cutanés ;LCR ;liquide synovial ;les urines.)

V.1.2. prélèvements pour la sérologie

Recueillir le sang par ponction veineuse dans un tube sec et stérile, surtout si l'étude du sérum doit être retardée. Après rétraction du caillot dans un bain-marie à 37°C, récupérer le sérum et le conserver à 4°C avant son étude. Si le délai avant l'étude risque d'être long ; il est possible de stocker les sérums à 4°C ou - 20°C.

V.1.3. Recherche de *Borrelia* par les méthodes directes

V.1.3.1. L'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, oeil) ou superficiels (peau, surtout chez l'homme).

V.1.3.2. L'examen en microscopie à fond noir

Les *Borrelia* sont des spirochètes de 0.20 à 0.50 µm de diamètre et de 10 à 30 µm de longueur .leur taille, ainsi que le nombre des spires peuvent varier en fonction de l'état physiologique des bactéries, ou de l'âge des cultures. Irrégulièrement enroulées, leurs spires sont très nettement visibles à l'objectif 25×.Les *Borrelia* se déplacent peu très lentement dans le champ et sont animées de lents mouvements de rotation et de flexion.

Les *Borrelia* se distinguent des *Leptospira* par leur taille, leur mobilité,la présence des spires bien visibles plus large et moins nombreuses.

V.1.3.3. L'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 et à partir du cerveau d'un cheval qui présentait des troubles nerveux évoquant une encéphalite.

V.1.3.4. Les techniques de coloration

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

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

Technique d'imprégnation argentique : On l'utilise pour mettre en évidence des spirochètes dans les prélèvements biopsiques. Des bactéries ont été observées, avec une telle technique chez quelques chevaux malades.

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).

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

Il faut retenir que généralement les *Borrelia* sont rarement mises en évidence dans les tissus, et quand elles sont présentes elles le sont en petite quantité.

V.1.3.5. La recherche de *Borrelia* par culture

V.1.3.5.1. Le milieu BSK II

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

Les milieux utilisés actuellement dérivent du milieu de Kelly, le premier milieu mis au point pour permettre la croissance de *Borrelia hermsii*. Quelques modifications ont été par la suite apportées à ce milieu par Stonner d'abord, puis par Barbour, avec essentiellement l'adjonction d'un milieu pour culture cellulaire, contenant des acides aminés, des vitamines et divers facteurs de croissance et extrait de levure. Le milieu maintenant porte le nom de ces trois auteurs : c'est le milieu de Kelly modifié par Stonner et Barbour, le BSK II, qui permet la culture de différentes espèces de *Borrelia burgdorferi sensu lato*.

V.1.3.5.2. Mise en culture de divers prélèvements

Les prélèvements à privilégier sont : le sang, biopsie cutanée, synoviale, LCR, liquide articulaire, urines et tiques.

V.1.3.6. L'amplification génique La PCR Polymerase Chain Reaction

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*.

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.

V.1.4. Les méthodes indirectes

Le diagnostic biologique de la borréliose de Lyme est basé essentiellement sur la sérologie. C'est le seul moyen de laboratoire disponible de façon courante.

Tous les résultats doivent être interprétés en tenant compte des symptômes cliniques de la maladie et des 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.

V.1.4.1. L'immunofluorescence indirecte

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. (MONTEIL H et al., 1989) .Elle fait appel à une cellule entière de *borrelia burgdorferi sensu lato*.

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. De plus, (DZIERZECKA et al.,2002) évoquent, après deux études menées sur différents tests sérologiques chez le cheval, la possibilité de faux positifs en IFI.

Cette technique a permis de nombreux diagnostics de maladie de Lyme chez le cheval. (BURGESS et al., 1986) 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 et dans le LCR d'un cheval présentant des troubles nerveux évoquant une encéphalite. (BURGESS et al., 1987).

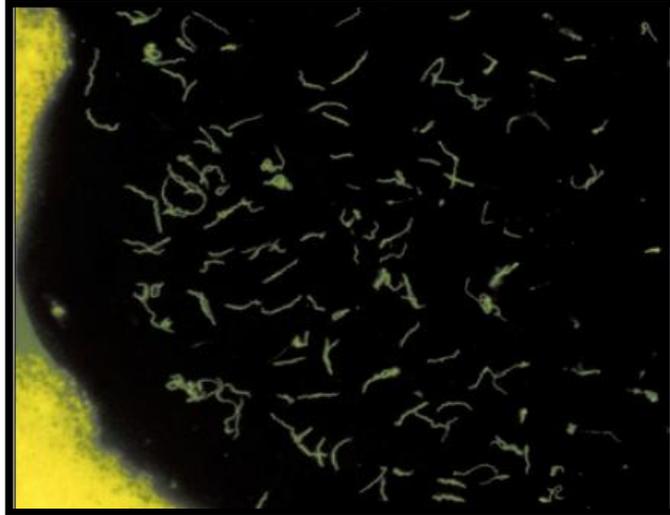


Figure 10: *B. burgdorferi* en immunofluorescence indirecte positive. D'après (MV Assous.2005)

V.1.4.2. ELISA

La méthode ELISA est actuellement la plus utilisée pour réaliser le diagnostic de la maladie de Lyme. Cette technique fait appel à un antigène comme l'OpsA, l'OpsC, l'OpsF et le peptide c6.

Chez le cheval, la technique ELISA a été adaptée et développée par Magnarelli (MAGNARELLI et al., 1988).

Cette technique, très reproductible, est plus sensible et plus spécifique que l'immunofluorescence indirecte. La méthode ELISA est adaptée à la réalisation de très grandes séries, elle est objective et la lecture des Anticorps est automatisée.

V.1.4.3. Western-blot

Cette technique permet d'analyser la réponse des anticorps (Ac) vis-à-vis des différentes protéines de surfaces 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. Elle permet de confirmer l'existence d'une sérologie positive ou douteuse. (COHEN et al., 1992).

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. (CHANG et al., 2000).

D'après (CHANG et al., 2000) qui ont réalisés cette étude, la présence de ces bandes permet de diagnostiquer la maladie de Lyme chez le cheval.

Le test Western blot présente une sensibilité et une spécificité supérieures aux techniques d'IFI ou d'ELISA, donc il permet de confirmer ces derniers.

V.2. Le diagnostic clinique

Chez le cheval, le diagnostic clinique est assez difficile, voir impossible. La grande diversité des symptômes ou leur absence fait que la maladie est souvent sous diagnostiquée. Dorénavant, la maladie de Lyme doit 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 pathognomonique. 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 habituelles.

V.3. Diagnostic épidémiologique

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(Zeltzmann p.1992) 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 un cas clinique décrit par (Hahn et al.1996), un séjour de 18 mois est mentionné, deux ans avant l'apparition des signes cliniques, à proximité d'un élevage de cervidés.

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

V.4. Diagnostic différentiel (voir tableau 4)

Tableau 4: diagnostic différentiel de la maladie de Lyme

Maladie de lyme	A différencier de :
Les affections articulaires (PARKER et al.,1992)	<ol style="list-style-type: none"> 1. les arthrites infectieuses. 2. les ostéomyélites. 3. les arthrites traumatiques.
Les affections nerveuses (PARKER et al.,1992)	<ol style="list-style-type: none"> 1. les myélites à protozoaires 2. les encéphalites à Herpès virus HEV1 3. les myéloencéphalites dégénératives.
Les affections oculaires (uvéite) (MADIGAN.1993)	<ol style="list-style-type: none"> 1. l'uvéite idiopathique. 2. l'onchocercose. 3. la leptospirose.

VI LE TRAITEMENT ET LA PROPHYLAXIE

VI.1. Le traitement

Le traitement est basé sur l'**antibiothérapie** qui pourrait être associée aux **anti-inflammatoires non-stéroïdiens**. Après 2 à 3 jours d'administration d'antibiotiques, on peut observer une augmentation de l'intensité des symptômes liés à la lyse des bactéries et à la dissémination de leurs toxines. Ce phénomène est susceptible d'entraîner un épisode de fourbure aiguë. Les traitements antibiotiques seront maintenus pendant 4 à 6 semaines. Des sérologies de contrôle sont à effectuer au cours du traitement. L'amélioration clinique se traduit le plus souvent par une nette diminution du taux des anticorps. Les familles des antibiotiques les plus actifs sont les B-lactamine et les tétracycline. L'*amoxicilline* est plutôt utilisée pour la phase primaire et la *doxycycline* pour les localisations articulaires. L'oxytétracycline par voie intra-veineuse s'est montrée plus efficace chez

le cheval car des concentrations plus élevées sont obtenues dans les tissus en comparaison avec la doxycycline administrée par voie orale. L'oxytétracycline n'est pas recommandée par voie orale à cause d'une mauvaise biodisponibilité et du risque d'atteinte du colon (donc de diarrhée) par la molécule active qui n'aurait pas été absorbée (alors que la doxycycline n'est plus sous forme active dans le colon). Un protocole décrit et communément utilisé en pratique aux Etats-Unis recommande l'utilisation de l'oxytétracycline par voie intra-veineuse à la dose de 6,6mg/kg une ou deux fois par jour pendant 7 à 10 jours puis de la doxycycline par voie orale à la dose de 10 mg/kg deux fois par jour pendant 1 mois (Divers 2007). le traitement recommandé en cas de neuroborréliose équine est la pénicilline procaine par voie intramusculaire à la dose de 30 000 – 45 000UI/kg/j (Portier *et al.* 2002).

VI.2. La prophylaxie

VI.2.1. La prophylaxie médicale

VI.2.1.1. La vaccination

Actuellement, les seuls vaccins disponibles sont destinés à l'espèce canine. Plusieurs études et essais ont été menés pour créer un vaccin pour le cheval mais à l'heure actuelle, il n'existe pas de vaccin commercialisé contre la borréliose de Lyme chez le cheval.

VI.2.2. prophylaxie sanitaire

VI.2.2.1. La lutte contre les tiques

Le combat contre la maladie de Lyme nécessite une bonne connaissance du mode de vie des tiques, afin de déterminer le meilleur moyen et le meilleur moment pour agir.

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 les plus à risque.

La lutte contre les tiques peut s'effectuer les réservoirs ou les animaux domestiques.

VI.2.2.2. Utilisation des antiparasitaire

Pour protéger les chevaux des tiques on a souvent recours à l'utilisation de substances destinées à détruire ou repousser les tiques. Le problème qui se pose en utilisant les antiparasitaires c'est leur durée d'action qui est pratiquement courte. C'est pour cela il est nécessaire de mettre des applications répétées, surtout à cause de la sudation chez les chevaux au travail et après de fortes pluies pour les chevaux au pâturage.

Il y a peu de produits «antiparasitaires externes» efficaces contre les tiques possèdent une AMM pour les chevaux.

Liste de quelques antiparasitaires les plus utilisés chez le cheval

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.

Les pyréthriinoïdes : représentent le traitement de choix contre les tiques. Le Repel X®

VI.2.2.3. L'inspection visuelle

Une méthode basique, simple et essentielle de protection. il s'agit de l'inspection visuelle du corps après que le cheval ait été dans une zone endémique de la borréliose de Lyme.

Ainsi, plus tôt la tique sera retirée, le risque de transmettre *B.burgdorferi* est diminué d'où l'intérêt d'un pansage fréquent et minutieux des chevaux.

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). Si les doigts sont utilisés, ils doivent être protégés avec du tissu, une serviette en papier ou des gants.

La tique ne doit pas être pressée ni écrasée sinon elle expulse sa salive, sa lymphe ou des matières digestives contenant des bactéries infectieuses.

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



Figure 11: tire tique

Chapitre2 : Matériels et Méthodes

Introduction :

Cette étude a pour but de déterminer le statut sérologique des chevaux de la garde vis-à-vis de la borréliose de Lyme. À cet effet, 48 sérums ont été collectés mais seuls 35 ont été analysés par la technique d'immunofluorescence indirecte en raison du manque de lames pour l'analyse. Un autre objectif a été celui de tenter d'étudier la présence d'une corrélation entre une sérologie positive et l'âge ainsi que la race. Nous envisagerons d'abord la description du matériel et des méthodes utilisées, puis nous exposerons les résultats de l'enquête et enfin nous les discuterons.

I SELECTION DE LA ZONE GEOGRAPHIQUE

Cette étude a été réalisée dans la région d'Alger. Tous les prélèvements ont été effectués au niveau de la garde républicaine.

II IDENTIFICATION DES ANIMAUX ET DES PRELEVEMENTS

II.1. Identification des animaux

Une fiche d'enquête a été mise en place pour chaque prélèvement de cheval effectué. Nous y avons mentionné essentiellement : l'origine du cheval, la race, l'âge, sexe du cheval, la présence d'ectoparasites, la symptomatologie (état général, système respiratoire, système lymphatique, urinaire, locomoteur, articulaire, musculaire et système circulatoire de façon inconstante) et antécédents médicaux.

II.2. Les prélèvements

La prise de sang a été réalisée à partir de la veine jugulaire, de façon stérile après une désinfection minutieuse de la zone de ponction à l'alcool à 70°. 4 millilitres (ml) de sang ont été recueillis sur tub sec puis centrifugés au laboratoire à 3000 tours pendant 10 minutes. Le sérum a été récolté dans des eppendorfs stériles puis conservés à -20°C jusqu'à l'utilisation (figure12)



Figure 12 : tubes eppendorfs remplis de sérums de chevaux

III ANALYSE DES PRELEVEMENTS PAR IFI (IMMUNOFLUOROSCEENCE INDIRECTE)

III.1. Principe et avantage de l'IFI

Les lames sont préparées le plus souvent à partir de la souche B31 de l'espèce *Borrelia burgdorferi sensu lato*(figure18)dont la concentration est ajustée à 50 à 100 spirochètes par champ (x400). La spécificité est assez bonne après absorption par le tréponème de Reiter. Le test repose sur la reconnaissance du complexe antigène-anticorps (anticorps monoclonal) sérique par un conjugué anti-immunoglobuline dirigé contre les anticorps du sérum (anticorps polyclonal) marqué par un fluor chrome. On teste des dilutions croissantes jusqu'à obtenir la disparition de la fluorescence, le principe de la technique est montré dans la figure 13 qui suit.L'IFI est bien adapté au tirage des anticorps totaux (Ig A+G+M) ou des IgG, c'est une méthode bien adaptée au diagnostic de routine. En effet, cette technique est peu couteuse, peut être utilisée pour des petites séries de sérums et permet un bon suivi du traitement dans les forts évolutives.

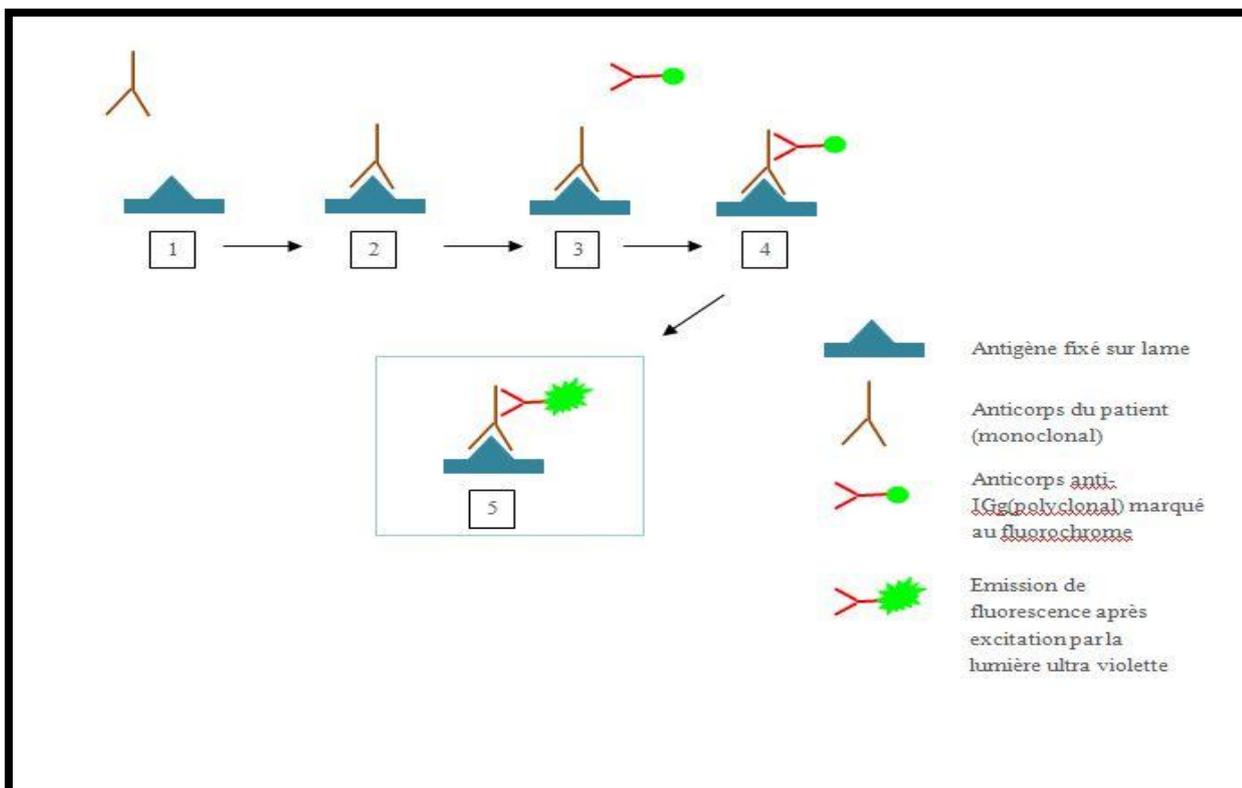


Figure 13: Schéma illustrant le principe de la technique d'immunofluorescence indirecte

III.2. Matériels utilisés

- Petits tubes stériles en verre (5 ml)(figure14)
- Eau distillée

- Flacons de PBS (Phosphate Buffer Saline) (figure15)



Figure 14: tubes en verre (5ml)

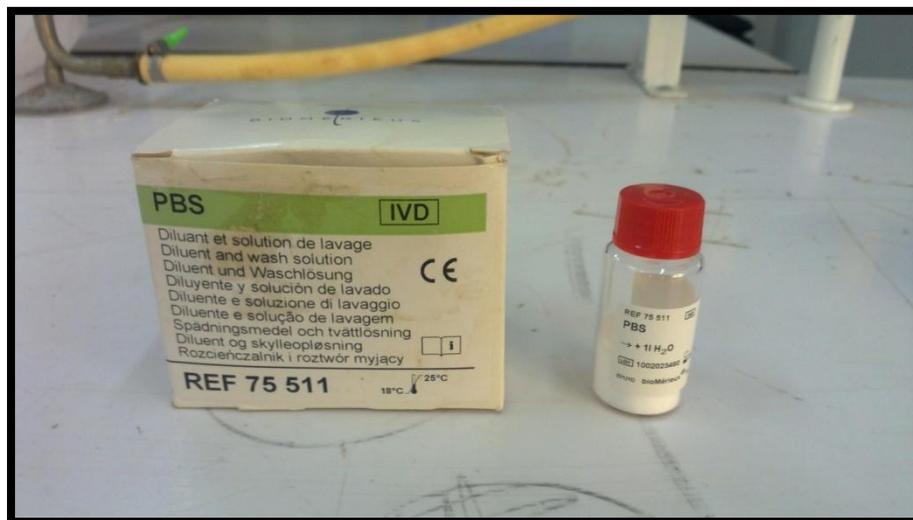


Figure 15:flacon de PBS(phosphate buffer saline)

- Verrerie propre rincée à l'eau distillée.(figure17)
- Agitateur magnétique.(figure17)
- 2 pipettes l'une à 100µl et l'autre à 1000µl(figure 16)
- Vortex.
- Boite d'incubation préalablement humidifiée.
- Portoir en verre.

- Lames commerciales MegaScreenFluorborrelia (MegaCorDiagnostik, Autriche) (figure 18).
- Fluoprep, lames et lamelles (figure21).
- Conjugué :anticorps anti Ig cheval (Jackson ImmunoResearch) (figure19).
- Liquide de montage (figure22)



Figure 16: 2pipettes

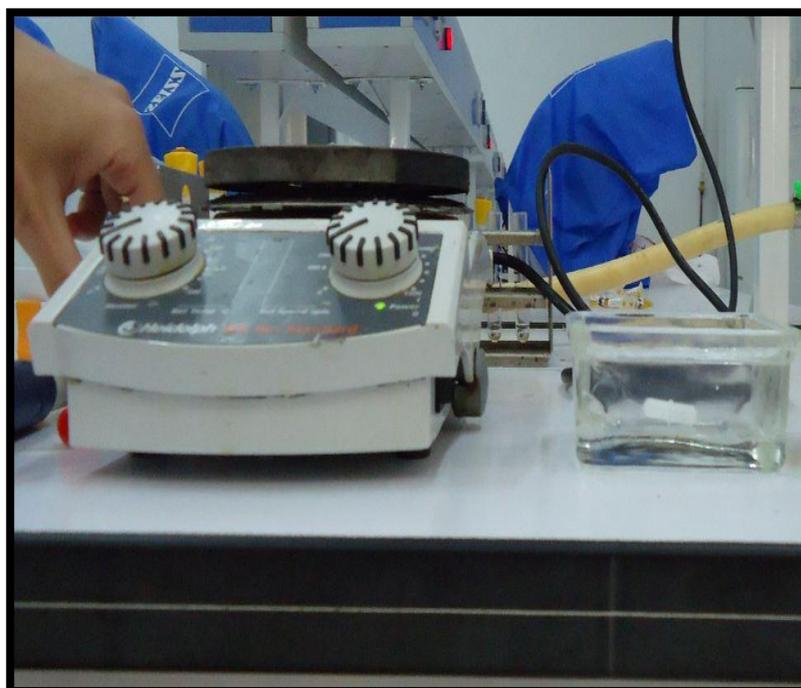


Figure 17: Verrerie propre rincée à l'eau distillée et agitateur magnétique.

III .3. Technique

Les sérums sont décongelés à température ambiante. Une homogénéisation au vortex est réalisée pour chaque tube avant de prélever le sérum pour effectuer la dilution comme indiqué en figure. Le criblage des sérums a été réalisé à la dilution du 1/50 (10 μ L de sérum dans 490 μ L de PBS). Chaque lame de douze puits comporte un sérum témoin positif et un sérum témoin négatif (figure 19).

Les lames sont incubées 30 minutes à 37°C sous atmosphère humide suivi d'un rinçage de 10 minutes dans un PBS. Le conjugué (anti-IgG de cheval –Jackson ImmunoResearch, USA), dilué au 50^{ème}, est préparé à partir d'une solution de bleu d'Evans (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France) dans du PBS (40 μ L par puits). Les lames sont de nouveau incubées à 37°C sous atmosphère humide pendant 30 minutes un rinçage de 10 minutes est ensuite effectué puis du Fluoprep (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France) est ajouté. La lame est recouverte d'une lamelle. Les lames ont été lues au microscope (grossissement X400) (Merck, Darmstadt, Allemagne) et à fluorescence.



Figure 18: la lame de *borrelia burgdorferi sensu lato*

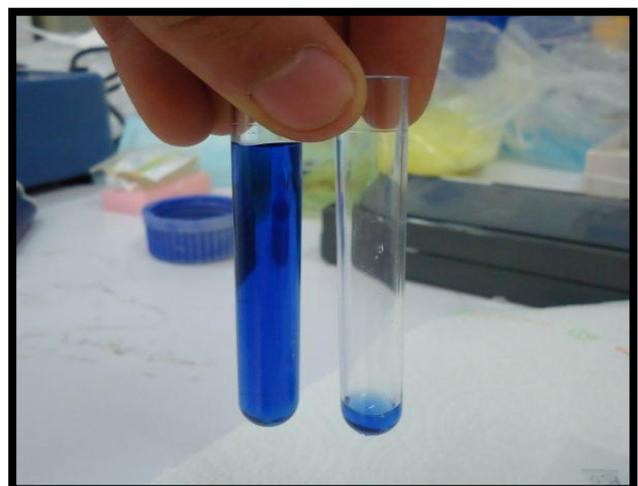


Figure 19: conjugué anticorps anti IgG équin

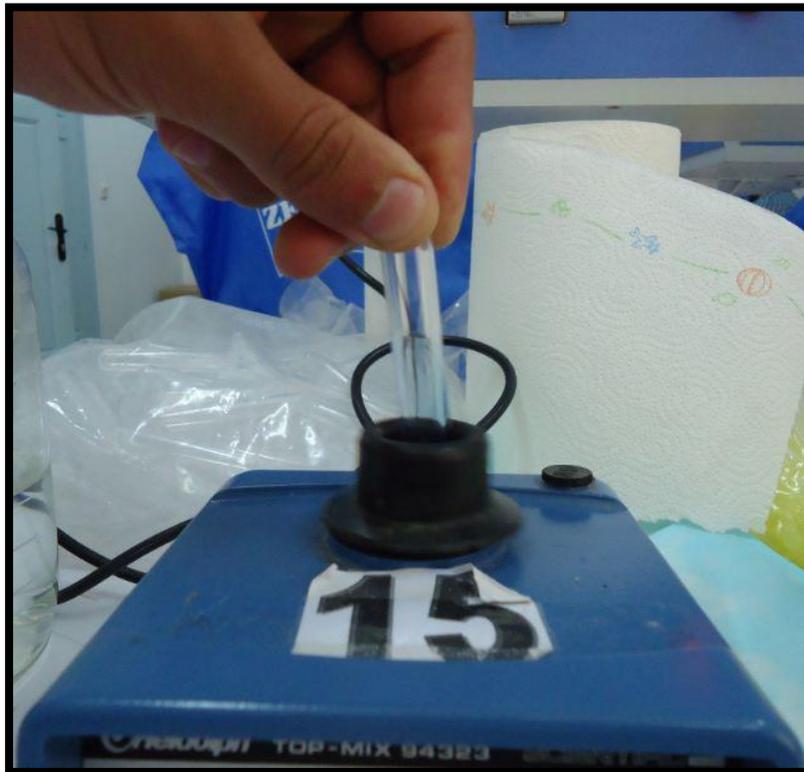


Figure 20: Vortexer les sérums (après décongélation) dilués dans le PBS



Figure 21: Lamelles utilisées pour le montage des lames



Figure 22: le liquide de montage

III .4. Lecture des lames

On considère un sérum comme positif lorsqu'on observe une intensité importante de la fluorescence ainsi que des *Borrelia* sous une forme typique de spirale. Chaque lame est lue par deux opérateurs, de manière indépendante (lecture en double aveugle) et selon un barème prédéfini comme indiqué dans le tableau 5 ci-dessous.

Tableau 5: Barème de lecture des lames de *Borrelia burgdorferi sensu lato*

Résultat	Signification
0	Contrôle négatif
+	Bactérie visible mais pas de fluorescence
++	Fluorescence présente mais modérée
+++	Fluorescence intense
++++	Fluorescence très intense

Tableau 6: Interprétation des résultats de la lame N° 1 de *borrelia burgdorferi sensu lato* selon le barème

1	3	5	7	9	11
++	0	0	0	+++	++
2	4	6	8	10	12
0	0	++	0	0	+/-

CHAPITRE 3 : RESULTATS

I DESCRIPTION DE LA POPULATION EQUINE ETUDIEE

Au cours de l'étude, 48 chevaux ont été prélevés.

Tableau 7: Classification des chevaux selon l'âge t la race

Paramètre	Nombre total de chevaux (%)
Age	
≤10ans	5(16.66%)
≥10ans	30(83.34%)
Race	
Arabebarbe	28(80%)
Barbe	4(11.42%)
Pur-sang arabe	1(2.85%)
Irlandais	1(2.85%)
Anglo-arabe	1(2.85%)
Total	35

II SEROPREVALENCE POUR BORRELIA BURGdorFERI SENSU LATO

Pour cette bactérie l'analyse sérologique par IFI a été réalisée à la dilution au 1/50°. Le seuil de séropositivité étant fixé à deux croix d'intensité pour l'antigène testé. Sur un total de 35 sérums 40% (14) se sont révélés positifs et 60%(21) se sont révélés négatifs.

III LA SEROPREVALENCE SELON L'AGE DES CHEVAUX

35 chevaux ont servi pour étudier l'effet de l'âge en fonction de la séroprévalence à *borrelia burgdorferi sensu lato*. Les chevaux ont été répartis en deux classes : ≥10 ans (83.34%) et ≤10ans (16.66%).

Les cheveux ≥10ans semblent être les plus séropositifs à *B. burgdorferi sensu lato* comparés aux chevaux de moins de 10 ans (voir tableau 8).

Tableau 8: La séroprévalence selon l'âge des chevaux

	>10ans	≤10ans
<i>B. burgdorferi</i> +	9	5
<i>B. burgdorferi</i> -	11	10
Total	20	15

IV LA SEROPREVALENCE SELON LA RACE DES CHEVAUX

On constate que l'arabe barbe semble être le plus séropositifs à *borrelia burgdorferi sensu lato* comparé aux autres races(voir tableau9).

Tableau 9: La séroprévalence selon la race des chevaux

	<i>B.burgforferi</i> +	<i>B.burgforferi</i> -
<i>Arabe barbe</i>	12	17
<i>Barbe</i>	0	4
<i>p.s.arabe.</i>	1	0
<i>Irlandais</i>	1	0
<i>Anglo-arabe</i>	0	0

Il n'existe pas d'association significative entre la séropositivité et les facteurs de risque étudiés.

CHAPITRE 4 : DISCUSSION

Discussion

Ce n'est pas un hasard si la maladie de Lyme est particulièrement décrite aux Etats-Unis : dans les régions endémiques, le taux de séroprévalence des juments est passé de 12 à 60% entre 1983 et 1986 (Browning et al.,1993), alors qu'en Europe, à la même époque, aucun cas n'était recensé.

La borréliose de Lyme est en fonction de divers facteurs, en effet le climat, diversité et densité des vecteurs compétents et des hôtes ainsi que la proximité des vecteurs avec leurs hôtes. Par ailleurs, le vecteur ainsi que les réservoirs semblent jouer un rôle centrale dans le maintien et la dissémination de la bactérie ainsi que dans l'épidémiologie de la maladie.

C'est une zoonose très largement répandue au niveau mondiale, qu'on pourrait expliquer par la multiplicité des vecteurs et des réservoirs.

Les principales études épidémiologiques de la maladie de Lyme ont été réalisées chez les tiques, l'homme et plus ponctuellement chez le cheval. En Afrique du nord on manque de données précises concernant son incidence chez les équidés. Cependant du fait de la très large prévalence des *Ixodes* en Algérie, il ne serait pas étonnant de trouver à l'avenir des taux encore plus élevés.

Ce travail consiste en une exploration de l'infection à *borrelia sensu lato* chez des chevaux de la garde républicaine dans la région d'Alger. Cette bactérie est considérée comme majeure en médecine vétérinaire d'une part en tant que germe pathogène reconnu pour les herbivores domestiques et d'autre part parce que les équidés sont considérés comme des hôtes accidentels, manifestant la maladie clinique.

Dans cette partie de notre travail, nous avons testé par IFI 35 sérums de chevaux à *Borrelia burgdorferi sensu lato*.

Le résultat obtenu pour cet agent bactérien était de 40%. Ainsi ce pourcentage est comparable à ceux décrit en France (36.5%) et (36.7%) (Doby et al.,1987 ; Trap 1990)

La présence de résultats positifs et négatifs indique que le seuil choisi est valable. Cependant, la présence de faux négatifs peut être due à une faible réponse immunitaire (absence de sensibilisation, immunodépression, infection locale sans bactériémie ni dissémination), à l'intervention de maladies intercurrentes qui peuvent interférer avec la réponse immune, à un problème de conservation des échantillons (contamination par un germe avec protéase), à une erreur de manipulation (mauvaise dilution, antigène mal fixé, anticorps fluorescent trop dilué), à un seuil fixé trop haut (dilution des

sérums trop importante). On peut également rencontrer des faux positifs (manque de spécificité), notamment à cause de réactions sérologiques croisées avec d'autres Spirochètes.

Il n'existe pas d'association significative entre une sérologie positive à *B. burgdorferi* et l'âge des chevaux ou la race. Cette absence d'association pourrait être le reflet d'un échantillonnage trop faible.

Notre enquête est un premier pas vers la connaissance de la maladie de Lyme chez les chevaux en Algérie, avec un premier résultat sérologique encourageant à persévérer dans la découverte du statut des chevaux vis-à-vis de la maladie. Les manifestations cliniques n'étant pas toujours caractéristiques, seul le recours aux examens complémentaires (biopsies, prélèvements de synovie, LCR, sérum et analyse par IFI, ELISA, Western Blot ou encore PCR) permettront de diagnostiquer et traiter à bon escient les animaux atteints

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS :

Bien qu'elle soit méconnue dans notre pays, la borréliose de Lyme est l'une des maladies les plus importantes à l'échelle mondiale. Depuis la découverte de l'agent pathogène par Willy burgdorfer la maladie de Lyme apparaît comme un objet d'étude médicale et vétérinaire majeur. Plusieurs études en ont été établies et malgré ça plusieurs zones d'ombre demeurent jusqu'à l'heure actuelle notamment son passage à la chronicité.

Le diagnostic clinique de la maladie de Lyme est assez difficile, ce qui rend le diagnostic biologique comme la principale clé pour confirmer la maladie après avoir observé les signes cliniques évocateurs ou après une exposition. Le diagnostic de laboratoire présente plusieurs outils tels que l'immunofluorescence indirecte, le Western-Blot et la PCR.

En ce qui concerne le traitement, il est souvent à base d'antibiotiques associée ou pas à une administration d'anti-inflammatoires non stéroïdiens. Le traitement est connu efficace s'il est instauré dans les stades précoces de l'affection. Au fur et à mesure de l'évolution, le traitement perd de son efficacité plus particulièrement dans la forme chronique de la maladie. La lutte contre le vecteur est à la base de la prévention de la maladie.

A la lumière des résultats de notre étude, il nous paraît important qu'une autre étude soit faite sur un échantillonnage plus large. Et pour cela il est recommandé de choisir le moment opportun (saison des tiques) pour réaliser les prélèvements sanguins. La technique que nous avons utilisée (IFI) peut présenter des faux positifs donc il est nécessaire de confirmer les résultats obtenus avec d'autres méthodes plus spécifiques tels que le Western blot.

Pour le cheval, le vétérinaire praticien se doit désormais, d'inclure la borréliose de Lyme dans le diagnostic différentiel des boiteries associées à des symptômes systémiques et une exposition aux morsures de tiques.

Au terme de ce travail, nous avons pu conclure que les chevaux ont déjà été en contact avec *Borrelia burgdorferi sensu lato* mais nous ne pouvons pas le confirmer avec certitude car il n'y a pas d'association entre les signes cliniques et la séropositivité. De plus, un autre test sérologique est nécessaire pour confirmer le résultat obtenu.

Bibliographie

- ASSOUS MV. Le diagnostic biologique de la borréliose de Lyme en 1993. *Technique et biologie*, 1994, 1, 7-20.
- BARANTON G., POSTIC D., SAINT-GIRONS I., BOERLIN P., PIFFARETTI JC, ASSOUS M., GRIMONT PAD: Delineation of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii sensu nov.*, and group VS 461 associated with Lyme borreliosis, *Intern. J. Systematic Bacteriol.*, 1992, 42, 378-383
- Baranton, G., De Martino, S.J., 2009. *Borrelia burgdorferi sensu lato* diversity and its influence on pathogenicity in humans. In: *Lyme borreliosis*, (Ed.), Lipsker, D., Jaulhac, B. *Curr. Probl. Dermatol. Basel*, Karger, 37, 1-17.
- 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.
- BURGESS EC, GILLETTE D, PICKETT JP. Arthritis and panuveitis as manifestations of *Borrelia burgdorferi* infection in a Wisconsin pony. *JAVMA*, 1986b, 189, 1340-1342.
- BURGESS EC. *Borrelia burgdorferi* in Wisconsin horses and cows. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1988, **539**, 235-243.
- Camicas , J.L., Hervy, J.P., Adam, F., Morel, P.C., 1998. *Les tiques du monde*. Orstom éditions. Paris, 233 pp.
- CARTER SD et al. *Borrelia burgdorferi* infection in UK horses, *Eq. Vet. J.*, 1994, 26, 187-190.
- 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.
- 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**, 540-548.1458.
- COHEN N, COHEN D. Borreliosis in horses : a comparative review. *The compendium*, 1990, 12, 1149-1458.
- 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. *Diseases*, **12**, 604-611.
- DMV, 12^{ème} éd., Maisons-Alfort. Ed. Point Vét., 2003, 1760p. antibodies and OspA sequence analysis, *J. Clin. Microbiol.*, 1993, **31**, 340-350

- 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.
- 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.
- 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.
- EUZEBY JP : *Borrelia burgdorferi* et la maladie de Lyme chez les animaux. Revue générale, Rev. Méd. Vét., 1989, 140, 371-388
- Fukunaga, M., Hamase, A., Okada, K., Nakao, M. 1996. *Borrelia tanukii* sp. nov. and *Borrelia turdae* sp. nov. found from ixodid ticks in Japan: rapid species identification by 16S rRNA gene-targeted PCR analysis. Microbiol. Immunol. 40, 877-881.
- GRAY JS, KAHL O, LANE RS, STANEK G (2002). *Lyme Borreliosis: Biology, Epidemiology and Control*. Wallingford : CABI Publishing. 347 p. ISBN 0-85199-632-9.
- GRODZICKI RL, STEERE AC. Comparaison of immunoblotting and indirect enzyme linked immunosorbent assay using different antigen preparations for diagnosing early Lyme disease. J. Infect. Dis., 1988, 15, 790-797.
- 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.
- HANINCOVA K, KURTENBACH K, DIUK-WASSER M, BREI B, FISH D (2006).
- HAUSER U, LEHNERT G, WILSKE B. Validity of interpretation criteria for standardized Western-blots (immunoblots) for serodiagnosis of Lyme borreliosis based on sera collected throughout Europe. J. Clin. Microbiol., 1999, 37, 2241-2247.
- HAYNEY MS, GRUNSKIE MM, BOH LE. Lyme disease prevention and vaccine prophylaxis. Ann. Pharmacot., 1999, 33, 723-729.
- IMAI DM, BARR BC, DAFT B, BERTONE JJ, FENG S, HODZIC E, JOHNSTON JM, infection in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 191, 1457-1461.
- Institut Pasteur, Diagnostic biologique *Leptospirose-Borreliose de Lyme* 2^{ème} édition augmentée 2000. D. Postic-F. Merien-P. Perolat-G. Barnaton.. pages 85 ;86 ;89 ;90 ;91 ;92
- JAULHAC B., MONTEIL H.: Actualités du diagnostic microbiologique des infections à *Borrelia burgdorferi*, La lettre de l'infectiologue, 1997,3, 87-93

- Johnson, R.C., Schmid, G.P., Fred, W.H., Steigerwalt, A.G., Brenner, D.J., 1984. *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34, 496-497.
- JONES WE. Lyme disease. *Eq. Vet. Data*, 1990, **11**, 346-347.
- Kawabata, H., Masuzawa, T., Yanagihara, Y., 1993. Genomic analysis of *Borrelia japonica* sp. nov. isolated from *Ixodes ovatus* in Japan. *Microbiol. Immunol.* 843-848.
- KEITA A. : *La borréliose de Lyme en France : enquête sérologique chez le chien. Comparaison de deux méthodes : ELISA et Western blot*, Thèse Med. Vét., Toulouse, 1994, n°030
- LAM TT., NGUYEN TPK., MONTGOMERY RR., KANTOR FS., FIKRIG E., FLAVELL RA. : Outer surface eproteins E and F of *Borrelia burgdorferi*, the agent of Lyme disease, *Inf. Immun.*, 1994, 62, 290-298
- Le Fleche, A., Postic, D., Girardet, K., Peter, O., Baranton, G., 1997. Characterization of *Borrelia lusitaniae* sp. nov. by 16S ribosomal DNA sequence analysis. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 921-925.
- 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.
- LINDGREN E, JAENSON TGT (2006). *Lyme borreliosis in Europe : influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures*. Copenhagen: World Health Organisation Regional Office for Europe. 34 p. ISBN 92-890-2291-4
- MADIGAN JE. Lyme disease in horses. *Vet. Clin. North. Am. Eq. Pract.*, 1993, 429-434.
- 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.
- 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.
- MALONEY EM, LINDENMAYER JL. Seroprevalence and clinical signs of Lyme disease in Cape Cod horses, *Eq. Pract.*, 1992, 14, 15-19.
- 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.
- Marconi, R.T., Liveris, D., Schwartz, I., 1995. Identification of novel insertion elements, restriction fragment length polymorphism patterns, and discontinuous 23S rRNA in Lyme disease spirochetes: phylogenetic analyses of rRNA genes and their intergenic spacers in

- Borrelia japonica sp. nov. and genomic group 21038 (Borrelia andersonii sp. nov.) isolates. J. Clin. Microbiol. 33, 2427-2434
- Margos, G., Hojgaard, A., Lane, R.S., Cornet, M., Fingerle, V., Rudenko, N., Ogden, N., Aanensen, D.M., Fish, D., Piesman, J., 2010. Multilocus sequence analysis of Borrelia bisetii strains from North America reveals a new Borrelia species, Borrelia kurtenbachii. Ticks Tick-borne Dis. 4, 151-158.
 - Masuzawa, T., Takada, N., Kudeken, M., Fukui, T., Yano, Y., Ishiguro, F., Kawamura, Y., Imai, Y., Ezaki, T., 2001. Borrelia sinica sp. nov., a Lyme disease-related Borrelia species isolated in China. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51, 1817-1824.
 - MATTISON M. Encephalitis associated with Borrelia burgdorferi infection in a horse. J. Amer. Vet. Med. Assn., 1987, 191 (11), 1457-1458.
 - MONTEIL H, JAULHAC B, PIEMONT Y. La maladie de Lyme et infections à B. burgdorferi en Europe. Ann. Biol. Clin., 1989, 47, 428-437.
 - 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.
 - NAGGIAR C, BOURLIOUX P. Borréliose de Lyme : données actuelles. Feuille de biologie, 1992, 33, 27-35.
 - NORISS J., CARTER CJ., HOWELL JK., BARBOUR AG. : Low-passage-associated proteins of Borrelia burgdorferi B31 : characterization and molecular cloning of OspD, a surface exposed plasmid encoded lipoprotein, Infect. Immun., 1992, 60, 4662-4669.
 - PARKER JL, WHITE KK. Lyme borreliosis in cattle and horses : a review of the literature. Cornell Vet., 1992, 82, 253-274. Pathology, 48, 1151-1157.
 - PEREZ-EID C (2007). *Les tiques : identification, biologie, importance médicale et vétérinaire*. Paris : Editions Tec & Doc. 314 p. ISBN 978-2-7430-0974-8
 - PILLOT J., DAGUET G., PELOUX Y., DUPOUEY P., BERCHE P. : Spirochètes, In : *Bactériologie médicale*, 2ème éd., Paris : Flammarion Médecine-Science, 1989, 1021-1046
 - POSTIC D, BARANTON G. Borrelia. In : Précis de bactériologie clinique, Ed. ESKA Paris, 2000, 1521-1531.
 - Postic, D., Garnier, M., Baranton, G., 2007. Multilocus sequence analysis of atypical Borrelia burgdorferi sensu lato isolates - description of Borrelia californiensis sp. nov., and genomospecies 1 and 2. Int. J. Med. Microbiol. 4, 263-271.

- Postic, D., Ras, N.M., Lane, R.S., Hendson, M., Baranton, G. 1998. Expanded diversity among Californian borrelia isolates and description of *Borrelia bissetii* sp. nov. (formerly *Borrelia* group DN127). *J. Clin. Microbiol.* 36, 3497-3504.
- RADOLF JD, CAIMANO MJ, STEVENSON B, HU LT (2012). Of ticks, mice and men : understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. *Nature Reviews Microbiology*, **10**, 87-99.
- RAOULT D. : Diagnostic biologique de la maladie de Lyme. Intérêt du Western-blot. *Med. Mal. Infect.*, 1990, 20, 163-164. BURGESS E,
- RIZZOLI A, MERLER S, FURLANELLO C, GENCHI C (2002). Geographical information systems and bootstrap aggregation (bagging) of tree-based classifiers for Lyme disease risk prediction in Trentino, Italian Alps. *Journal of Medical Entomology*, **39**, 485-492.
- Rudenko, N., Golovchenko, M., Grubhoffer, L., Oliver, J.H., Jr., 2011. *Borrelia carolinensis* sp. nov., a novel species of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex isolated from rodents and a tick from the south-eastern USA. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61, 381- 383.
- SAVEY M, DUFOUR B (2004). Diversité des zoonoses. Définitions et conséquences pour la surveillance et la lutte. *Epidémiologie et Santé Animale*, **46**, 1-16.
- 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.
- SIBILIA J, JAULHAC B, LIMBACH FX. Les manifestations rhumatologiques de la borréliose de Lyme. *Rev.Méd.Int.*, 2002, **23**, 378-385.
- SIGAL LH. Lyme borreliosis : Interactions of *B. burgdorferi sensu lato* with human (and other mammalian) hosts. *Bull.Inst.Pasteur,Paris*, 1998, **96**, 189-206.
- sp. nov., a novel species of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex isolated from rodents and a tick from the south-eastern USA. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61, 381- 383
- STANEK G, KAHL O. Chemoprophylaxis for Lyme borreliosis *Zentralbl.Bakteriol.*, 1999, **289**, 655-665.
- 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.
- Wang, G., van Dam, A.P., Le Fleche, A., Postic, D., Péter, O., Baranton, G., de Boer, R., Spanjaard, L., Dankert, J.; 1997. Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia valaisiana* sp. nov. (*Borrelia* genomic groups VS116 and M19). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 926-932.
- 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
- ZELTZMANN P. La maladie de Lyme. *Action vétérinaire*, 1992, **1250**, 14-17.

Résumé

La "maladie de Lyme" est une maladie vectorielle, infectieuse d'origine bactérienne, induite par des bactéries du genre *borrelia*, qui elles-mêmes font partie de la famille des "spirochètes". la maladie évolue en une longue période et peut affecter divers organes et système. La borreliose est généralement transmise à l'occasion d'une morsure par les arthropodes hématophages qui doivent être porteurs de la bactérie.

La maladie est présente en Algérie chez l'Homme et chez d'autres mammifères domestiques tel que les chevaux et les chiens. Afin de déterminer les risque de contracter cette maladie, il faudra en premier lieu connaître l'activité et le mode de vie des tiques (saison, habitat..etc) et en deuxième lieux les différentes méthodes de diagnostic de l'infection. Le but de notre étude est de déterminer le statut sérologique d'une population de chevaux vis-à-vis de la borreliose 35 chevaux ont été étudiés, (40%)(14/35) se sont montrés séropositifs en IFI à *borrelia burgdorferi*. Afin de bien interpréter ces résultats, plusieurs facteurs ont été pris en considération tel que l'âge, la race l'état général de l'animal et la présence ou non des tiques. Ceci nous a permis de déduire que la séropositivité augmente avec l'âge, et que l'affection chez le cheval est le plus souvent asymptomatique.

Mots clés : borrelia ;IFI ;spirochètose ;tique ;cheval ;

Abstract

The "Lyme disease" is a vectorial infectious bacterial illness, induced by bacteria of the genus *Borrelia*, which themselves are part of the "spirochetes" family. The disease evolves in a long time and can affect various organs and systems. Lyme disease is usually transmitted during a bite of blood-sucking arthropods that must be bacteria carriers. The disease is present in Algeria in humans and in other domestic mammals such as horses and dogs. To determine the risk of this disease, it will take to know the activity and lifestyle of ticks (season, habitat..etc) in addition of the different methods of diagnosing the infection.

The aim of our study is to determine the serological status of a horse population for borreliosis ; 35 horses were studied and 40% (14/35) have shown positive with IFIs to *Borrelia burgdorferi*.

To interpret these results, several factors are taken into consideration :the age, breed, the general condition of the animal and the presence or absence of ticks. This enabled us to deduce that seropositivity increases with age, and the disease in the horse is most often asymptomatic.

Key words: Borrelia; IFA; spirochètose; tick; horse

ملخص

يعتبر مرض لايم مرضا بكتيريا معديا تسببه بكتيريا البولييريا التي تنتمي بذاتها الى عائلة اللوليبات اد أنه يعد من الأمراض الناقلة كما يتطور في فترة طويلة و يمكن أن يمس الكثير من الأعضاء و الأجهزة أيضا. عادة ما ينتقل مرض لايم عن طريق لدغة من المصلبيات الماصة للدماء التي تكون حاملة بدورها للبكتيريا. يتواجد المرض في الجزائر عند البشر و الثدييات الأليفة الأخرى كالأحصنة و الكلاب .

و لتحديد مخاطر الإصابة بهذا المرض يتوجب علينا أولاً التعرف على نشاط و نمط عيش القراد (الموسم و الموطن...) و ثانيا على المناهج و الطرق المختلفة لتشخيص العدوى. ان الهدف من دراستنا هو تحديد حالة الإصابة بالعدوى (في الدم) اتجاه داء بولييريا . حيث تمت دراسة حالة 35 خيل و أظهرت النتائج أن 40% (أي ما يعادل 14 حصان من مجموع 35) لديها أعراض إيجابية و بالتالي مصابة بالمرض عند استعمال المناعة الإستشعاعية غير المباشرة في ما يخص بوريليا بورغدورفييري . و لتحسين هذه النتائج اتخذت الكثير من العوامل بعين الاعتبار نذكر منها السن السلالة الحالة العامة للحيوان و عامل وجود القراد على جلد الحيوان او انعدامه. نستخلص من هذا أن الاعراض الايجابية تزداد عند الخيول المتقدمة في السن و أن الإصابة بالمرض غالبا ما تكون غير متناظر

كلمات البحث : بوريليا, المناعة الإستشعاعية, غير المباشرة, خيل, اللوليبات