

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**
علميم العاللي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE –ALGER
الوطنية للبيطرة -

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

**Séroprévalence a *Borrelia burgdorferi* sensu lato chez les chiens de
propriétaires dans la région d'Alger**

**Présenté par PREURE AMIRA
CHOUGAR LINDA**

Le jury :

- . Président HAFSI, F, Maitre de conférences classe-B.**
- . Promoteur AZZAG, N, Maitre de conférences classe-B.**
- . Examineur BOUABDELLAH, R, Maitre assistante classe-A.**
- . Examineur GHALMI, F, Maitre de conférences classe-A.**

Année universitaire : 2012/2013

Remerciements

Nous tenons à témoigner notre profonde reconnaissance,

A notre promotrice le Dr. Azzag

*Nos Remerciements à l'ensemble du corps
professoral de l'Ecole National Supérieure Vétérinaire
« ENSV »*

Pour la richesse et la qualité de son enseignement.

*Nous remercions, les membres du jury d'avoir
accepter d'évaluer ce travail*

*A ceux qui nous ont soutenus de près ou de loin
pour la réalisation de ce Modest travail.*

Dédicaces

« Le génie commence les beaux ouvrages, mais le travail seule les achève. »

A tous ceux qui m'ont aidé à élaborer ce travail.

A mes parents, d'avoir fais de moi ce que je suis maintenant, et ce que j'essaye chaque jour d'être encore plus, une personne honnête, sans ces valeurs que vous m'avez transmise lesquelles je ne serais parvenue à rien.

A Hamza et Yasmine, ce que mes parents m'ont offert de mieux.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez, pour tous les sacrifices que vous n'avez cesse de donner dans ma vie, je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond

amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et

vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A ma sœur siamoise, la géniale Meriem, pour ta présence et ton soutien sans faille, pour les moments passés et à venir, pour la sagesse qui te sied tellement et dont tu m'abreuve chaque jour, je te remercie.

A mon maître de stage, qui m'a transmis le sens de l'éthique, la déontologie et la noblesse de ce métier.

A mes amis, qui sont la famille que j'ai choisis, qui m'apportent bonheur et réconfort.

Amira PREURE

Dédicaces

**Je dédie ce mémoire aux êtres les plus chers, mes Parents qui m'ont aidée et accompagnée depuis le début.*

**A mes adorables sœurs Jumelles Kamelia et Lila.*

**A ma très chère grande sœur Ryma et son Mari Idir.*

**A mes grands-parents bien aimés mamah et djedi.*

**A ma grand-mère mазisou.*

**A ma meilleurs amie Tinhinane.*

**A ma binôme Amira et sa famille.*

Et pour finir une pensée à mon cher grand-père.

Chougar Lynda

SOMMAIRE

Introduction générale	6
-----------------------------	---

CHAPITRE 1 : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

I. ETUDE DE L'AGENT PATHOGENE <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	9
I-1 Historique	9
I-2 Taxonomie.....	10
I-3 Caractères bactériologiques	11
I 3-1 Morphologie.....	11
I-3-2 Caractères cultureux et biochimiques.....	11
I.4. Facteurs de virulence et caractères antigéniques	12
I.4.1. Organisation génomique.....	12
I.4.2. Facteurs de virulence	13
I.4.2.1. Les protéines de surface :(Outer Surface Proteins)	13
I.4.2.2. VIsE	13
I.4.2.3. Flagelline et protéine P39	13
I.5. Pathogénie	14
II. ASPECTS CLINIQUE DE LA BORRELIOSE DE LYME	15
II.1. Signes cliniques chez le chien	15
II.2. Signes cliniques Chez l'homme	15
II.2.1. Infection locale des patients par des borrelies	16
II.2.2. Dissémination des spirochètes chez le patient	17
II.2.3. Persistance des spirochètes chez le patient.....	17
III. EPIDEMIOLOGIE DE LA MALADIE DE LYME	18
III.1. Hôtes et réservoirs.....	18

III.2. Prévalence	19
III.3. Transmission chez la tique	22
IV. DIAGNOSTIC	23
IV.1. Sérologie.....	23
IV.1.1. L'immunofluorescence indirecte (IFI) et ELISA.....	23
IV.1.2. Le western-blot.....	24
IV.1.3. PCR et méthodes moléculaires.....	34
V. TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE.....	25
V.1. Traitement	25
V.2. Prophylaxie.....	26
V.2. Prophylaxie médicale.....	26
V.2. Prophylaxie sanitaire.....	27

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

I. SELECTION DE LA ZONE GEOGRAPHIQUE.....	30
II. IDENTIFICATION DES ANIMAUX ET DES PRELEVEMENTS.....	30
II.1. Identification des animaux.....	30
II.2. Les prélèvements	30
III. ANALYSE DES PRELEVEMENTS PAR IFI (IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE)	31
III.1. Principe et avantage de l'IFI	31
III.2. Matériels utilisés	32
III.3. Technique.....	34
III.4. Lecture des lames.....	37

IV. OUTIL STATISTIQUE.....	37
-----------------------------------	-----------

CHAPITRE 3 : RESULTATS

I.DESCRPTION DE LA POPULATION CANINE ÉTUDIÉE.....	39
II.SEROPREVALENCE POUR <i>BORRELIA BURGDORFERI</i>.....	39
III.COINFECTION <i>ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM</i> ET <i>BORRELIA BURGDORFERI</i>.....	39
IV.ÉTUDE DES FACTEURS DE RISQUE.....	40
IV.1.L'âge	40
IV.2.Le sexe	40
IV.3.État général.....	40

CHAPITRE 4 : DISCUSSION

Discussion	43
Conclusion et perspective.....	45
Références	46

Liste des figures :

<i>Figure 1 : Classification actuelle de borrelia d'importance médicale.....</i>	<i>10</i>
<i>Figure 2 : Ultra structure de Borrelia (bioforma).....</i>	<i>11</i>
<i>Figure 3 : Culture des borrelia en tubes, milieu BSK.....</i>	<i>12</i>
<i>Figure 4 : Organisation génomique de B. burgdorferi ss B31.....</i>	<i>12</i>
<i>Figure 5 : Le système de variation antigénique (vls)de Borrelia burgdorferi.....</i>	<i>14</i>
<i>Figure 6 : Image illustrant un érythème chronique migrant</i>	<i>16</i>
<i>Figure 7 : Lymphocytome cutané bénin.....</i>	<i>16</i>
<i>Figure 8 : Image de patients atteints d'une acrodermatite chronique atrophiante.....</i>	<i>17</i>
<i>Figure 9 : Distribution des tiques du genre ixodes dans le monde.....</i>	<i>19</i>
<i>Figure 10 : Cycle de transmission de Borrelia burgdorferi.....</i>	<i>23</i>
<i>Figure 11 : Tubes secs.....</i>	<i>31</i>
<i>Figure 12 : Tubes eppendorfs remplis de sérums de chiens identifiés par un numéro.....</i>	<i>31</i>
<i>Figure 13 : Schéma illustrant le principe de la technique d'immunofluorescence indirecte (IFI)...</i>	<i>32</i>
<i>Figure 14 : Flacons de PBS (phosphate buffer saline).....</i>	<i>32</i>
<i>Figure 15 : Portoir en verre.....</i>	<i>33</i>
<i>Figure 16 : Boite d'incubation.....</i>	<i>33</i>
<i>Figure 17 : Dépôt des lames de borrelia dans la chambre humide.....</i>	<i>34</i>
<i>Figure 18 : Pochette des lames de Borrelia burgdorferi.....</i>	<i>34</i>
<i>Figure 19 : Vortexer les sérums après décongélation.....</i>	<i>35</i>
<i>Figure 20 : Conjugué (anticorps anti Ig canin marqué).....</i>	<i>35</i>
<i>Figure 21 : Dépôt de la préparation de la solution du conjugué sur les puits des lames.....</i>	<i>35</i>

<i>Figure 22 : Lamelles utilisées pour le montage des lames.....</i>	<i>36</i>
<i>Figure 23 : Fluoprep (biomerieux).....</i>	<i>36</i>
<i>Figure 24 : Dépôt des lames de Borrelia dans une boîte de pétrie après montage.....</i>	<i>36</i>

Liste des tableaux :

<i>Tableau I : Prévalence des anticorps anti-borrelia chez des chiens de différentes régions dans le monde.....</i>	<i>21</i>
<i>Tableau II : Signes cliniques et traitement de la maladie de Lyme chez le chien et l'homme</i>	<i>25</i>
<i>Tableau III : Représentation des différents vaccins disponible pour les chiens.</i>	<i>27</i>
<i>Tableau IV : Barème de lecture des lames de Borrelia burgdorferi.....</i>	<i>37</i>
<i>Tableau V : Interprétation des résultats de la lame N° 1 de borrelia selon le barème.....</i>	<i>37</i>
<i>Tableau VI : Classification des chiens selon le sexe et l'âge.....</i>	<i>39</i>
<i>Tableau VII : La séroprévalence selon l'âge des chiens.....</i>	<i>40</i>
<i>Tableau VIII : La séroprévalence selon le sexe des chiens.....</i>	<i>40</i>
<i>Tableau IX : La séroprévalence selon l'état général des chiens.....</i>	<i>41</i>

Annexes :

Fiche d'enquete.

Introduction générale

La borréliose lyme est une maladie transmise par des arthropodes vecteurs, qui touche l'homme et les animaux depuis l'antiquité, sous forme de fièvres récurrentes, et qui ont joué un rôle important dans l'histoire de l'humanité.

Dans les années 1970, le retour à la nature, le développement de l'habitat en milieu péri-urbain, le reboisement intensif favorisant le contact avec les vecteurs, et les séjours en milieu infecté, ont conduit à la ré-émergence de l'une d'entre elles, longtemps ignorée : la maladie de Lyme. Aujourd'hui, on craint que le changement climatique, notamment la prolongation des saisons, le réchauffement planétaire et les modifications de l'intensité des précipitations, n'aboutissent à la création de conditions favorables à l'apparition et à la prolifération de maladies à transmissions vectorielle, notamment la maladie de lyme chez le chien, le sujet de notre présente étude, qui est aujourd'hui qualifiée d'émergente ou ré-émergente.

Il s'agit d'une zoonose transmise par les tiques, et bien qu'elle soit rarement mortelle, son incidence en constante augmentation a conduit les médecins à s'y intéresser. Depuis la découverte de l'agent étiologique dans les années 70, de nombreuses connaissances à son sujet ont été acquises en médecine humaine et vétérinaire. C'est aujourd'hui la maladie vectorielle de l'homme la plus fréquente de l'hémisphère Nord, et l'une des plus fréquentes chez le chien. Son importance en tant que zoonose est croissante, elle représente un véritable problème de santé publique, et est inscrite au tableau des maladies professionnelles.

En ce qui concerne la chronologie de cette présentation, nous ferons dans une première partie une synthèse des données bibliographiques existant sur *Borrelia burgdorferi*. Tout d'abord, le chapitre 1 sera consacré à un aperçu général de la pathogénie et du diagnostic du genre *Borrelia*. Puis, nous nous intéresserons plus spécifiquement aux caractéristiques étiologiques, épidémiologiques, cliniques, pathogéniques, diagnostiques et thérapeutiques. Dans la deuxième partie, nous présenterons l'étude expérimentale que nous avons menée, tentant de définir la séroprévalence de *Borrelia burgdorferi* sensu lato chez des chiens de propriétaires à Alger. Celle-ci a été réalisée à partir de données

recueillies sur des chiens présentés en consultation sur le site de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger entre le mois de décembre et le mois de mai 2013.

CHAPITRE 1 :
RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

I. ETUDE DE L'AGENT PATHOGENE *BORRELIA BURGDORFERI SENSU LATO*

I.1. Historique

La borréliose de Lyme est une maladie infectieuse, zoonose, occasionnée par des bactéries spirochètes du complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato*; sur le plan clinique la borréliose a été décrite en Europe au début du vingtième siècle et c'est en Allemagne qu'est décrite en 1883 l'Acrodermatite Chronique Atrophiant(ACA) (Buchwald ,1883) ; puis au début du XXe, en 1910 en Suède, Afzelius (médecin suédois) décrit un érythème migrant enfin en 1911 le lymphocytome cutané bénin (Burckhardt,1911) ; en ce temps-là ces syndromes étaient considérés comme trois maladies différentes.

1922: Garin (médecin français) rapporte un syndrome paralytique provoqué par des tiques puis elle fût redécouverte à la fin des années 1970 au Etats-Unis et dénommée « maladie de Lyme » (Erythème migrant pour la vieille Europe) lors d'une épidémie d'arthrites inflammatoires infantiles à Old Lyme, au Connecticut (USA).

D'autres études ont par la suite révélé que « les arthrites de Lyme » étaient bel et bien des manifestations par moment très tardives d'une parasitose bactérienne transmise par les tiques.

En 1981, Burgdorfer, suspecte l'agent infectieux qui est une bactérie spirochète souvent trouvée dans le tube digestif et la salive de la tique.

En 1982, l'entomologiste W. Burgdorfer examine l'intestin des tiques trouvées dans des zone d'endémie de la maladie de Lyme; il y trouve des spirochètes et prétant directement qu'il pourrait s'agir de l'agent de la maladie de Lyme, peu après il les inocule à des lapins, qui développent un EM (Erythème Migrant) dix à onze semaines plus tard.

Depuis le milieu des **années 90**, des cas de borréliose canine sont rapportés dans tous les pays d'Europe en plus des USA. Elle a été décrite ces dernières années en Tunisie, en Afrique du Sud, en Afrique centrale et en Côte d'Ivoire.

Chez l'animal, les observations cliniques avec identification du germe commencent en 1984 chez le chien (LISSMAN BA *et al.*,1984), chez le cheval en 1986 (BURGESS EC *et al.*,1986) et la vache en 1987 (BURGESS EC *et al.*,1987). Le génome de *Borrelia burgdorferi* a été séquencé en 1997 par (FRASER *et al.*,1997) ce qui a permis d'avancer dans de nombreux domaines, notamment concernant la pathogénie en génétique moléculaire (NORDSTRAND A *et al.*,2000) .

I.2. Taxonomie

- **Lignée taxonomique**

Organisme cellulaires-bactéries-spirochètes-spirochètes (classe)-spirochaetales-spirochaetaceae-borrelia-borrelia burgdorferi groupe-borrelia burgdorferi, le phylum contient la seule classe des Spirochètes dans laquelle on trouve un seul ordre des Spirochaetales (voir figure1). Cet ordre comprend plusieurs agents importants pathogènes pour l'homme et l'animal dont le chien est extrêmement exposé, ainsi ses agents pathogènes se divisent à leur tour en deux familles telles que *Leptospira* de la famille *Leptospiraceae*, *Borrelia* et *Treponema* de la famille *Spirochaetaceae*. Notre étude se basera sur le genre *Borrelia* qui a été nommé d'après le bactériologiste français Borrel Amédée (1867_1936).

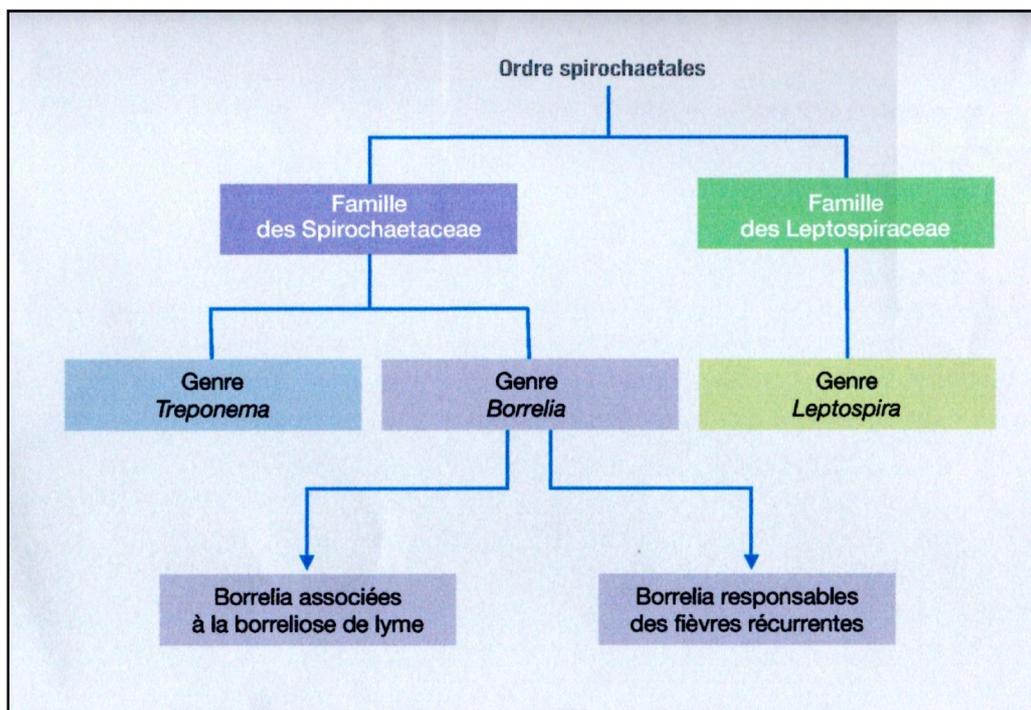


Figure 1 : Classification actuelle de borrelia d'importance médicale. (Bedossa Adrien, 2005)

Actuellement les *Borrelia* associées à la borreliose de Lyme appartiennent au complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato. En effet, au sein de ce complexe il n'y a pas d'association stricte vecteur-*Borrelia*. Des études de Postic et Baranton portant sur l'homologie d'ADN entre les souches ont montré l'existence de trois espèces au sein de *B. burgdorferi* devenues *B. burgdorferi* sensu lato: *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garini* et *Borrelia afzelii* (Postic, 1990 ; Baranton, 1992); ces trois espèces sont reconnues comme pathogènes pour l'homme (Van Dam *et*

al., 1993 ; Wang *et al.*, 1999). Depuis, le nombre d'espèces identifiées en utilisant différentes approches moléculaires ne cessent de croître ce qui révèle la grande diversité génétique des *Borrelia* associées à la maladie de Lyme. Actuellement, on distingue 12 géno-espèces faisant partie du complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Baranton, 1992)

I.3. Caractères bactériologiques

I.3.1. Morphologie

Borrelia burgdorferi se présente sous forme d'une cellule hélicoïdale dont la longueur est comprise entre 10 et 20 µm et la largeur entre 0.18 et 0.25 µm. Modérément colorable par le Giemsa, cette bactérie est lentement mobile mais capable de rotation et de flexion entre lame et lamelle. Les *Borrelia*, sont caractérisées par une ultra structure très particulière, unique au sein des Eubactéries. Le corps bactérien est limité par une couche amorphe, et une membrane externe multi-lamellaire constituée de peptidoglycane. Les flagelles (filaments ou fibrilles axiaux) sont aux nombre de 7 à 11 et localisés entre l'enveloppe externe et le corps bactérien (Johnson *et al.*,1984) tel que le montre la Figure 2.

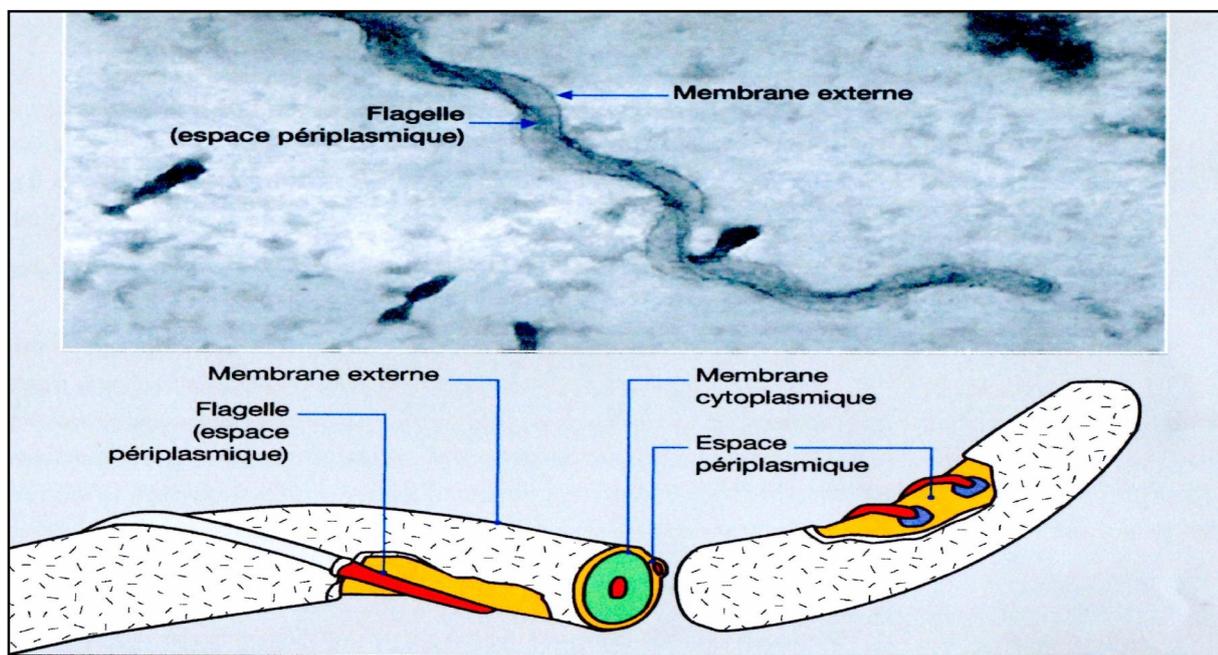


Figure 2 : Ultra structure de *Borrelia* (BEDOSSA A., 2005)

I.3.2. Caractères cultureux et biochimiques

L'isolement de cette bactérie est possible dans le milieu de Kelly modifié et à une température optimale de 33 à 35°C mais actuellement, le milieu couramment utilisé est le milieu BSK II (Figure 3) qui permet d'atteindre une concentration de 1 à 4 x 10⁸ bactéries /ml à partir de 1 à 2 spirochètes. La

croissance y est de type micro-aérophile (4% d'O₂) avec un temps de génération variant de 6 à 12 heures (G BARANTON et al.,1986).

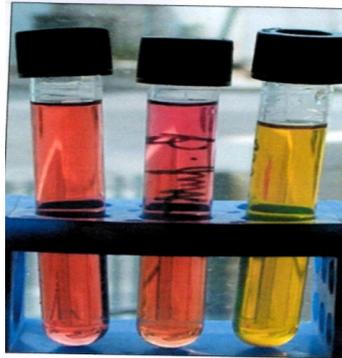


Figure 3 : Culture des borrelia en tubes, milieu BSK (BEDOSSA A.,2005)

I.4. Facteurs de virulence et caractères antigéniques

I.4.1. Organisation génomique

Borrelia burgdorferi est le premier spirochète dont le génome a été entièrement séquencé. D'une taille d'environ 1,5 Mb, il est constitué d'un chromosome linéaire de 910.725 Kb avec un G+C de 28.6% et de 21 plasmides (9 circulaires et 12 linéaires) d'un poids global de 610.694 Kb (illustrées dans la figure 4). Ces plasmides se comportent comme de véritables mini-chromosomes et leur grand nombre autorise une quantité importante de recombinaisons.

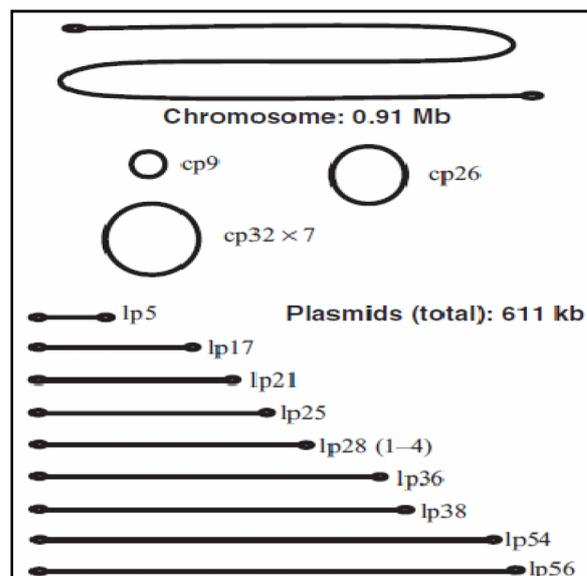


Figure 4 : Organisation génomique de *B. burgdorferi* ss B31 (selon Bergström et al. 2002)

I.4.2. Facteurs de virulence

Contrairement aux nombreuses autres bactéries pathogènes, *Borrelia burgdorferi* n'est pas connue pour présenter des facteurs de virulence classique tels que les toxines ou les systèmes de sécrétions donc les signes cliniques de la maladie de Lyme sont censés résulter de la réponse immunitaire contre l'infection borrélienne ce qui nous conduit à dire que les gènes codant les fonctions physiologiques qui permettent la croissance de la bactérie au sein même de l'hôte sont des déterminants importants de virulence ainsi la survie de *Borrelia* est une composante importante dans sa pathogénèse.

I.4.2.1. Les protéines de surface :(Outer Surface Proteins)

Ce sont des lipoprotéines localisées à la surface de la membrane externe des borréliées ; et sont appelées selon la terminologie anglaise (Outer Surface Proteins) et on distingue : **OspA, OspB, OspC, OspD, OspE, OspF** ; ces dernières jouent un rôle essentiel dans la pathogénie de la maladie de Lyme. La survie des borrelies dans les tiques et dans l'organisme des mammifères dépend en partie de l'expression sélective de ces lipoprotéines : l'expression d'OspA et OspB est immédiatement activée lorsque les spirochètes pénètrent à l'intérieur de la tique tandis que lors de la transmission vecteur- hôte vertébré l'expression de ces dernières tend à diminuer et la synthèse d'OspC, DbpA et BBK32 est augmentée. Ce qui nous amène à dire que la protéine OspA est fortement exprimée par les borréliées dans les tiques à jeun mais son expression est réduite lors de la prise du repas sanguin (de Silva et al 1997, Schwan et Piesman2000). OspA semble jouer un rôle primordial dans la colonisation du vecteur en permettant aux borréliées d'adhérer aux cellules épithéliales de l'intestin de la tique (Pal et al. 2000). La protéine OspC est une lipoprotéine codée par le plasmide circulaire cp 26 (Marconi et al.1993, Sadziene et al. 1993), existe sous forme de dimère.

I.4.2.2. VlsE

VlsE (pour Vmp-like sequence Expression) est une lipoprotéine de surface immunogène dont la structure varie en fonction de réarrangements complexes de la structure du gène correspondant. Ces variations de structure permettent l'échappement à la réponse immunitaire de l'hôte. Cependant il existe au niveau de ce gène une zone conservée "région invariable" (IR6-peptide C6), exposée à la surface de la bactérie (Ohnishi *et al.*, 2001 ; Embers *et al.*, 2007). Ce peptide est utilisé comme outil spécifique dans le diagnostic sérologique de la maladie de Lyme chez l'homme et le chien.

I.4.2.3. Flagelline et protéine P39

Le gène *fla* code pour une flagelline spécifique du genre *Borrelia*. Cette protéine immunogène entraîne une réponse sérologique pouvant présenter des réactions croisées avec les tréponèmes et les leptospires. En revanche, la protéine immunogène P39 est considérée comme une protéine associée à la membrane et est considérée comme spécifique en cas de réactivité en immuno-blot. Elle joue un rôle important dans l'adhésion aux tissus et aux cellules épithéliales (Simpson *et al.*, 1991)(voir figure 5).

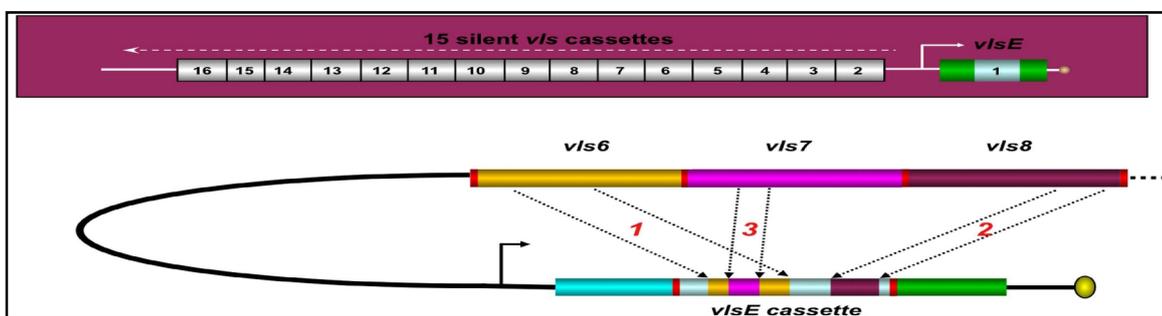


Figure 5 : Le système de variation antigénique (vls) de *Borrelia burgdorferi*. (Steven J. Norris, 2012)

I.5. Pathogénie

Le mécanisme à travers lequel les *Borrelia* se propagent et se disséminent dans l'organisme de l'hôte mammifère est encore mal compris car la reproduction expérimentale est difficile à réaliser.

La transmission des *Borrelia* chez l'hôte débute 24-48 après la morsure de la tique. Les bactéries se multiplient au lieu de l'inoculation, dans la peau et les muscles. Le tropisme des *Borrelia* pour la peau et les tissus riches en collagène s'explique par son besoin en N-acétylglucosamine, monosaccharide nécessaire à la structure du collagène. *Borrelia burgdorferi* utilise ses lipoprotéines et protéines de surface telle que l'OspC qui, une fois fixées aux protéines salivaires de la tique (Salp 15), inhibe la sécrétion d'interféron et l'action des macrophages chez l'hôte infecté, lui permettant de disséminer dans tout l'organisme. De plus, pour migrer plus activement, elle stimule l'activation du plasminogène en plasmine, enzyme protéolytique qui permet de lyser la matrice extracellulaire des tissus (Klempner *et al.*, 1995).

D'autre part, *Borrelia burgdorferi* est capable de traverser l'endothélium des vaisseaux sanguins grâce à sa protéine de liaison BBK32 qui se fixe à la fibronectine et par conséquent permet à la bactérie de se propager par voie hématogène. La bactériémie chez l'hôte infecté reste néanmoins de courte durée et de faible intensité. La bactérie est retrouvée en quelques semaines dans les organes et tissus tels que le foie, la rate, le muscle et les articulations (Skotarczak, 2005).

II. ASPECTS CLINIQUES DE LA BORRELIOSE DE LYME

II.1. Signes cliniques chez le chien

En dépit d'une séroprévalence élevée à *B. burgdorferi* chez les chiens dans les régions endémiques, les manifestations cliniques sont rares. Des études ont montré que des animaux exposés à des morsures de tiques développent dans 5% des cas des signes cliniques. Cependant, dans les infections expérimentales, 75% des chiens inoculés expriment la maladie (Appel *et al.*, 1993). Par ailleurs, la possibilité d'une transmission simultanée de plusieurs agents infectieux par des tiques co-infectées n'est pas à écarter et peut brouiller un tableau clinique par des formes cliniques atypiques et rendre difficile l'établissement d'un diagnostic précis. Les manifestations cliniques les plus fréquentes de la maladie de Lyme chez le chien est une arthrite d'apparition rapide et récurrente, évoluant le plus souvent sur une seule articulation. Les articulations les plus fréquemment atteintes sont en premier lieu les carpes, puis le coude. À la palpation, les articulations atteintes sont légèrement gonflées, chaudes et douloureuses.

L'érythème migrant, observé chez l'homme, est très rarement retrouvé chez le chien. Ceci pourrait être dû au pelage qui masque les signes cutanés. D'autres signes cliniques non spécifiques tels qu'un rash cutané ou de l'urticaire peuvent être observés. D'autres auteurs ont décrit l'existence de lésions érythémateuses au point de fixation des tiques (Summers *et al.*, 2005).

II.2. Signes cliniques Chez l'homme

Le diagnostic de la maladie de Lyme est particulièrement difficile en raison du manque de symptômes précis et spécifique et de la grande variabilité dans l'établissement de la maladie que ce soit du point de vue des manifestations cliniques ou de leur durée .toutefois, on distingue régulièrement trois stades évolutifs dans le développement de la maladie. Le premier stade caractérisé par une éruption cutanée appelée Erythème Migrant (EM) qui est l'un des premiers symptômes pathognomonique d'une borreliose.

II.2.1. Infection locale des patients par des borrélioses

Elle correspond à l'infection initiale dermatologique localisée et qui peut passer inaperçue, on y retrouve une lésion typique qui est appelée érythème chronique migrant illustré dans la figure 6 généralement localisé au point d'inoculation des spirochètes par les tiques. Cet érythème se caractérise par une rougeur cutanée apparaissant 2 à 30 jours après la pique de tique en raison d'une réponse inflammatoire du système immunitaire envers les spirochètes. De plus, généralement indolore et non prurigineux, il évolue de façon excentrique depuis sa périphérie et tend vers la guérison 3 à 4 semaines suivant la pique de tique même sans traitement antibiotique. Toutefois, il peut s'accompagner de quelques signes généraux tels que : douleurs diffuses et malaise général.



Figure 6 : Image illustrant un érythème chronique migrant (Klaus Eisendle, 2007)

Dans certains cas, principalement chez les enfants, il y a apparition de nodules dans lesquels on trouve une importante prolifération de cellules lymphoïdes, cette lésion appelée lymphocytome cutané bénin (LCB) tel qu'il est montré en figure 7 peut être précédée ou non par un EM ou apparaître au même moment.

Sa localisation chez l'enfant est au niveau du lobe de l'oreille, mamelon ou scrotum alors qu'il n'apparaît qu'au niveau du scrotum chez l'adulte.



Figure 7 : Lymphocytome cutané bénin (Prof. D. Lipsker)

II.2.2. Dissémination des spirochètes chez le patient

Dans ce deuxième stade de la contamination il y a dissémination des spirochètes par voie sanguine dans tout l'organisme ; quelques semaines à quelques mois après la pique de tique on aura apparition de nouveaux EM secondaires seulement bien plus petits et moins migrants que le ou les EM du 1^{ER} stade d'infection. Souvent des douleurs arthritiques essentiellement au niveau des articulations du genou et des mains sont présentes, ainsi que des manifestations neurologiques telles que des méningites lymphocytaires aseptiques avec plus ou moins une atteinte nerveuse centrale et périphérique conduisant à des désordres neurologiques (confusion mentale, méningite, névrite crânienne, paralysie faciale, neuropathie périphérique) qui sont souvent à leur tour accompagnés d'une grande fatigue physique et psychique chez le patient (neuroborréliose). Dans quelques rares cas les yeux peuvent être atteints c'est ce qu'on appelle « l'ophtalmoborrélios »

II.2.3. Persistance des spirochètes chez le patient

Cette dernière phase se manifeste des mois voir des années plus tard et est caractérisée par la chronicité des signes cliniques touchant un petit nombre de patients. Au niveau de la peau peut apparaître une Acrodermatite Chronique Atrophiante (Figure 8) qui se développe généralement au niveau des extrémités des membres, de la plante des pieds et la paume des mains et est souvent rencontrée chez les personnes âgées ; Les problèmes neurologiques prennent en phase tertiaire un aspect chronique : encéphalomyélite, démyélinisante, polynévrites, troubles de la mémoire et de la personnalité, et on y distingue aussi des arthrites chroniques dues à la persistance du pathogène .



Figure 8 : Image de patients atteints d'une acrodermatite chronique atrophiante(Prof. D. Lipsker) (Klaus Eisendle ,2007)

III. EPIDEMIOLOGIE DE LA MALADIE DE LYME

III.1. Hôtes et réservoirs

La borréliose de Lyme est une maladie à transmission vectorielle, l'inoculation du spirochète *Borrelia burgdorferi* se fait à la faveur d'une morsure de tiques du genre *Ixodes spp* qui font office d'hôtes intermédiaires, aux différents stades nymphaux et larvaires principalement.

Les tiques s'infectent en se nourrissant du sang d'un hôte vertébré infecté dit réservoir représenté par de nombreux mammifères sauvages, rongeurs essentiellement (voir figure10). Ces derniers seraient incriminés dans l'infection des tiques avec un ordre de 80-90% (Brisson *et al.*,2008). En effet, ils demeurent porteurs de *Borrelia burgdorferi* pendant plusieurs mois voire des années. D'autres petits mammifères comme le mulot, la musaraigne, ainsi que le hérisson et l'écureuil seraient parasités essentiellement par les tiques au stade larvaire et les nymphales d'*Ixodes*. Par ailleurs, les formes adultes s'alimentent sur des grands mammifères tels que les sangliers et les cervidés, ils revêtent une importance qui serait due à l'augmentation de leur nombre suite à leur réhabilitation dans la nature ainsi que des facteurs écologiques, qui interviendraient dans l'incidence de la maladie durant les deux dernières décennies (William *et al.*,2012), Cependant ils ne seraient pas d'excellents réservoirs de la bactérie, leur principal rôle étant de maintenir la population de tique en lui servant source de repas sanguin. (Kurtenbach *et al.* ; Telford *et al* 1988).

Les oiseaux, particulièrement les oiseaux migrateurs parasités par des tiques, joueraient également un rôle important puisqu'elles assurent la propagation et la dissémination de la bactérie à travers le monde (Anderson *et al.*,1986 ; Olsen *et al* 1993 ; Olsen *et al.*,1995).

Une fois la tique infectée par *Borrelia*, la bactérie va se localiser dans l'intestin moyen du vecteur, par la suite elle finit par migrer vers les glandes salivaires ce qui faciliterait la transmission à l'hôte vertébré dans la salive excrétée au moment du repas sanguin. (De Silva and Fikrig 1995; Anguita *et al.* 2003)

Chez l'homme nous observons en France une incidence de 1.5% auxquels il faut ajouter 0.6% de nouveaux cas asymptomatiques par an ((Reimer *et al.*,1999) contre 20% de sérums canins positifs (Rawlings JA. 1986), néanmoins en dépit de la réceptivité des animaux domestiques à *Borrelia burgdorferi*, notamment le chiens, il ne seraient que des hôtes accidentels. En effet, ces deux hôtes ne transmettent pas la maladie car seules les tiques adultes en fin de cycle se nourrissent de leur sang (Krupka *et al.*, 2010 ; Littman *et al.*, 2003).

III.2. Prévalence

Prédire une potentielle zone à risque de la maladie de Lyme n'est pas une tâche aisée, un épidémiologiste pourrait éprouver de nombreuses difficultés notamment lorsque la prévalence des cas humains est faible, pour se prononcer sur une zone géographique et pouvoir dire si elle est endémique ou pas il serait bon d'étudier la relation vecteur-hôte, la population de vecteurs et la séroprévalence chez les réservoirs d'hôtes. Certains chercheurs auraient suggéré une association étroite entre population-distribution de tique *ixodes* (figure 9) et la prévalence de la maladie de Lyme (Lissman *et al.*,1984).

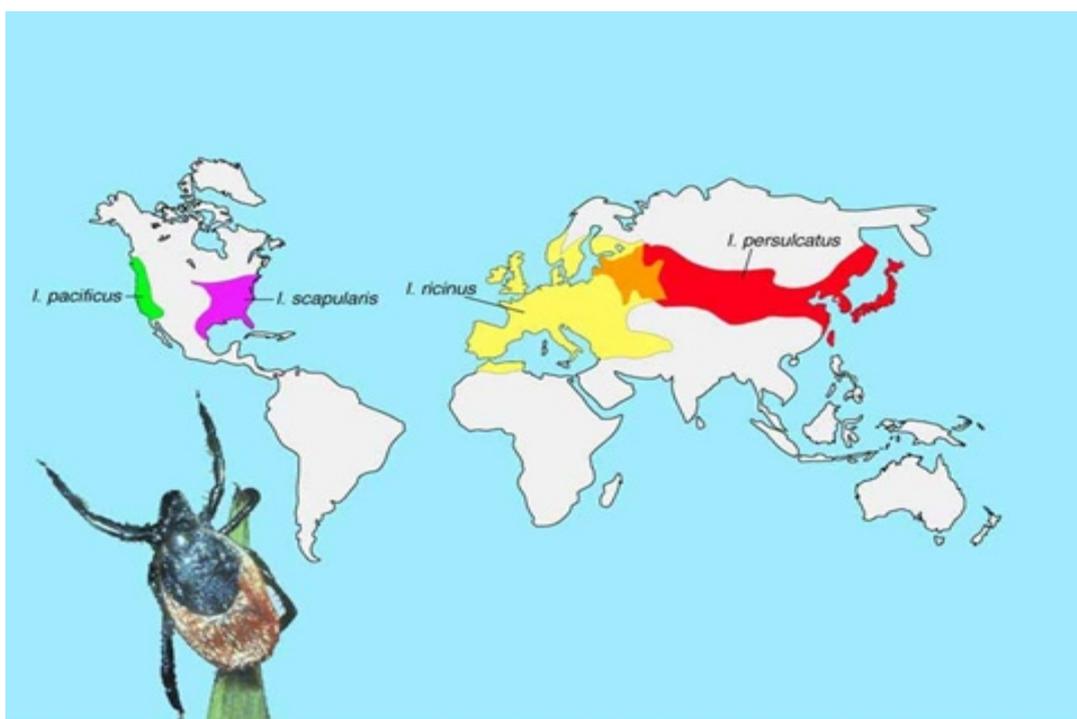


Figure 9 : Distribution des tiques du genre ixodes dans le monde.

Réf : Critical Needs and Gaps in Understanding Prevention, Amelioration, and Resolution of

Lyme and Other Tick-Borne Diseases: The Short-Term and Long-Term Outcomes

(Courtesy of Professor J Gray and Mr B Kaye and taken with permission from the European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis (EUCALB) website.

Rechercher la séroprévalence chez les chiens est d'une grande importance car elle nous renseigne sur les zones endémique présentant un potentiel danger pour l'homme (Rand *et al.*,1991) à contrario d'une prévalence touchant les animaux sauvages qui s'avérerait être laborieuse (Eng *et al.*,1988).

À ce jour, un travail considérable a été fait dans le domaine de l'étude de la séroprévalence canine. Les anticorps anti-Borrelia chez les chiens sont signalés dans la plupart des pays européens (tableau I), en particulier en Slovaquie, la séropositivité chez les chiens de chasse était de 40%, tandis que chez les chiens de garde ou de compagnie la positivité est de 11,80% et 29,40%, respectivement (Stefancikova et al.,1996)

La variabilité de la séropositivité est fonction de l'utilité du chien (Cohen *et al.*,1996 ; Stefancikova *et al.*,1998 ; Merino *et al.*,2000) , en revanche la prévalence des anticorps n'est pas associée au sexe et à la race (Delgado *et al.*,1995 ; Magnarelli *et al.*,1987 ; Delgado *et al.*,1995 ; Merino *et al.*,2000). Certaines recherches ont tenté de mettre en avant une corrélation entre la séropositivité et certains caractères géno-phénotypiques, chez le chien à poils durs. En effet, il a été observé une plus grande séropositivité anti *Borrelia burgdorferi* que chez les autres chiens (Merino *et al.*,2000).

L'environnement peut également jouer un rôle important. Les chiens vivant en haute altitude seraient moins touchés que ceux vivant à basse altitude et auraient donc une séropositivité moins importante (Lindenmayer *et al.*,1991). Une étude dans la province de Soria en Espagne (Merino et al.,2000) a confirmé cette hypothèse.

En Europe, les facteurs de risque environnementaux pour la maladie de Lyme ont été déterminés à l'aide d'un satellite qui a permis aux chercheurs de relever des données climatologiques et écologiques importantes (Estrada 1997 ; Daniel *et al.*,1998 ; Randolph 2000). Ainsi, la séropositivité chez les chiens est associée à l'exposition aux tiques, le temps passé en plein air et dans les zones boisées (Bacon *et al.*,2007 ; Ogden *et al.*.,2006)

Tableau I : Prévalence des anticorps anti-borrelia chez des chiens de différentes régions dans le monde (the importance of dogs in eco-epidemiology of Lyme borreliosis: a review)

Pays	Ville	Méthodes de détection	Prévalence	Nombres de chiens	références
Bolivie	Cordillère	ELISA	0	43	Ciceroni et al., 1997
Brésil	Cotia	ELISA	9,7	237	Joppert et al., 2001
Croatie	Gorski Kotar	ELISA	40.0	10	Poljak et al., 2000
République cheque	Prague	IHA	53.7	169	Sykora et al., 1990
Allemagne	–	ELISA	7.2	665	Wittenbrink et al., 1996
Allemagne	Berlin	ELISA	10.1	189	Kasbohrer and Schonberg, 1990
Allemagne	Bavière	IFA	5.8	189	Kasbohrer and Schonberg, 1990
Israël	-	WB	10	40	Beneth et al., 1998
Italie	Côte Tyrrhénienne	IFA	0.0	23	Mannelli et al., 1999
Japon	Tokyo	ELISA	27.3	387	Arashima, 1991
Mexique	Monterrey	IFA	16.0	850	Salinas-Melendez et al., 1999
Pays-Bas	(chiens de chasse)	ELISA	18.0	448	Goossens et al., 2001
Slovaquie	Kosice	ELISA	26.9	78	Stefancikova et al., 1996
	Kosice (chiens de chasse)	ELISA	45.3	75	Stefancikova et al., 1998
	(chiens de compagnie)	ELISA	18.3	60	Stefancikova et al., 1998
Espagne	<i>Castille et Léon</i>	IFA	21.0	308	Delgado and Carmenes, 1995
Espagne	Soria	IFA	11.6	146	Merino et al., 2000

Espagne	Léon	IFA	2.10	95	RojoVazquez, 1997
Suède	–	ELISA	3.9	588	Egenvall et al., 2000
USA	Rhode Island	ELISA	52.0	227	Hinrichsen et al., 2001
USA	Illinois	ELISA	56.9	1 077	Guerra et al., 2000
USA	Fort Detrick	ELISA	20.0	440	Sheets et al., 2000
USA	California	ELISA	2.3	917	Olson et al., 2000
USA	Alabama	IFA	1.70	579	Wright et al., 1997
USA	New York	ELISA	49.2	1446	Falco et al., 1993
USA	Oklahoma	ELISA	11.7	223	Mukolwe et al., 1992
USA	Columbia	ELISA	24.3	37	Stockham et al., 1992
USA	Maine	ELISA	4.34	828	Rand et al., 1991
USA	Texas	IFA	5.5	2 409	Cohen et al., 1990
USA	Oklahoma	IFA	18.0	259	Rodgers et al., 1989
USA	Connecticut	IFA	66.5	155	Magnarelli et al., 1987
USA	Hudson Valley	IFA	76.3	114	Magnarelli et al., 1987
USA	New Jersey	IFA	34.7 4	23	Schulze et al., 1987
USA	Wisconsin	IFA	53.0	380	Burgess, 1986

III.3. Transmission chez la tique

Bien qu'il existe des travaux rapportant la capacité d'autres arthropodes à jouer le rôle de vecteur à *Borrelia burgdorferi*, seule la famille des *Ixodidae* est considérée comme compétente.

Durant les 12 à 24 premières heures qui suivent la morsure infectante de la tique, les *Borrelia* vont se localiser au niveau de son intestin où elles se multiplient par division binaire. C'est au cours du second repas (stade suivant) que le nombre des borrelies augmente fortement. Elles migrent alors du tube digestif vers l'hémocoèle puis vers les glandes salivaires pour être inoculées à un autre hôte (Littman, 2003). Pendant ce temps, les spirochètes subissent un processus complexe de restructuration de leurs protéines externes de surface qui leur permettra de survivre chez l'hôte immunocompétent mammifère ou aviaire.

IV.1.2. Le western-blot : utilisant différents antigènes de surface. Ces derniers, ont conclu que les antigènes C6 et OspF étaient les marqueurs les plus robustes et les plus spécifiques de l'infection (Wagner *et al.*, 2012).

La présence de porteurs asymptomatiques peut également rendre le diagnostic de la maladie de Lyme chez le chien difficile à interpréter. En effet, une étude de Levy et Magnarelli a montré que 50 à 90% des chiens vivant dans une région endémique étaient séropositifs mais ne présentaient aucun signe clinique évocateur de la maladie de Lyme. Par ailleurs, des kits de diagnostic rapide sont commercialisés. Ils sont basés sur l'utilisation d'un antigène "peptide de synthèse C6", obtenu à partir d'une zone conservée (IR-6) de la lipoprotéine VlsE (Liang et Philipp, 1999).

Le western-blot ou Immuno-empreinte permet de mettre en évidence les anticorps spécifiques contre certains antigènes de *Borrelia burgdorferi*. Cette technique est surtout utilisée pour confirmer les tests sérologiques classiques IFI et ELISA. De plus, elle permet de faire la distinction entre les chiens vaccinés et ceux naturellement immunisés. En effet, un chien vacciné présente une reconnaissance marquée aux protéines de poids moléculaire variant de 31 à 34 kDa ; elles correspondent à OspA et OspB. À l'inverse, un chien naturellement immunisé présente une reconnaissance faible face à ces deux antigènes, mais la réponse est étendue à un spectre beaucoup plus large de protéines (de 15 à 100 kDa) (Hauser *et al.*, 1999).

IV.1.3. PCR et méthodes moléculaires

La détection d'ADN de *Borrelia* par PCR est possible et indiquée lors de manifestation au niveau de plusieurs organes, nécessitant des biopsies cutanées ou liquide synovial.

Le séquençage du génome de *Borrelia burgdorferia* a été mis à profit pour développer la technique PCR et ceci en ciblant des fragments de gènes chromosomiques ou plasmidiques. Cette méthode moléculaire permet une identification spécifique de la bactérie, sa sensibilité est de l'ordre de 80% pour l'analyse du liquide synovial mais demeure faible pour les autres types de prélèvements tels que le sang, le LCR et les urines. Cependant la technique PCR peut conduire à des interprétations erronées si elle est utilisée comme seul outil de diagnostic et sans tenir compte des données sérologiques et des signes cliniques. De même, le risque de faux positifs par contamination ou de faux négatifs par présence d'inhibiteur ou d'enzymes dégradant l'ADN, représentent des inconvénients supplémentaires pouvant rendre l'analyse des résultats difficiles (Krupka et Straubinger, 2010).

V. TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

V.1. Traitement

Les études chez les chiens expérimentalement infectés ont montré que le traitement antibiotique n'élimine pas l'infection chez tous les chiens. Le médicament de choix est la doxycycline, à raison de 10 mg/ kg *per os* une fois par jour pendant 1 mois au minimum tel que l'explique le Tableau II.

Tableau II : Signes cliniques et traitement de la maladie de Lyme chez le chien et l'homme.
(adapté et modifié de Susan E. *et al.*,2010)

	Chien	homme
Signes cliniques	<p>95% des chiens ne présentent pas de signes cliniques suite à leur infection.</p> <p>Lorsqu'ils présentent des signes on peut observer : arthrite – fièvre – anorexie – lymphadenopathie.</p> <p>Des glomérulonéphrites peuvent être observées.</p>	<p>la majorité des humains exposés présentent des signes cliniques qui sont :</p> <p>L'érythème migrant - syndrome pseudo-gripal.</p> <p>Arthrites – cardite – éventuelle forme nerveuse.</p>
traitement	<p>Arthrites :</p> <p>Doxycycline 10mg par kg de poids vif par jour (chaque 24heures) PO pendant 1mois.</p> <p>Néphropathies :</p> <p>Doxycycline 10mg par kg de poids vif par jour (chaque 24heures) PO pendant un mois ou plus (la durée varie selon le degré de gravité).</p>	<p>Erythème migrant (adulte) :</p> <p>Doxycycline, 100mg 2 fois par jour (toute les 12heures) PO pendant 10 a 21 jours.</p> <p>Amoxicilline 500mg 3fois par jour (chaque 8heures) PO pendant 14 a 21 jours.</p> <p>Cefuroxime axetil 500mg 2 fois par jour (chaque 12heures) PO pendant 14 a 21 jours.</p> <p>Stade précoce de la forme nerveuse (adulte):</p> <p>Ceftriaxone 2g par jour (chaque 24h) en IV pendant 10 a 28 jours.</p>

		<p>Doxycycline 100 a 200mg 2 fois par jour (chaque 24heures) PO pendant 10 a 28 jours.</p> <p>Arthrite (adulte) : Doxycycline 100mg 2 fois par jour (chaque 24 heures) PO, Amoxicilline 500mg 3 fois par jour (chaque 8heures) PO, Cefuroxime axetil, 500 mg 2 fois par jour (chaque 24 heures) PO pendant 28jours.</p>
--	--	---

V.2. Prophylaxie

V.2.1. Prophylaxie médicale

Une sérologie positive chez les chiens sains peut conduire à une erreur de diagnostic ou à un traitement inutile, de nombreux animaux infectés ne développant jamais une borreliose de Lyme. Un dépistage sérologique peut cependant attester de la séroprévalence et fournir des données sentinelles qui peuvent augmenter la prise de conscience par le propriétaire du risque d'infection par les tiques et de l'importance de leur contrôle. L'utilisation de vaccins anti-*Borrelia* est encore une question controversée en raison de la présence de plusieurs espèces de *Borrelia* sur le terrain et parce que les vaccins protègent seulement contre *B. burgdorferi* sensu stricto.

En outre il existerait différentes formulations vaccinales contre cette bactérie (résumées dans le Tableau III), chez le chien, néanmoins la vaccination ne serait pas systématique, il est préconisé d'en avoir recours en zones endémiques, ce procédé est d'une efficacité variable, entre 50% a 85%. Par ailleurs, la vaccination à *Borrelia burgdorferi*, chez l'homme est actuellement indisponible (Littman *et al.*,2006).

Tableau III : Représentation des différents vaccins disponible pour les chiens.

Formulation vaccinale	Immunise contre ?	Nom commercial	Laboratoire	Existe depuis?
Vaccin inactivé monovalent	un seul antigène	Lymevox	Fort Dodge Animal Health	1990
Vaccin inactivé bivalent	deux antigènes	GalaxyLyme	Schering-Plough Animal Health	1994
Vaccin sans adjuvant rOspA	OspA	Recombitek	Merial	1996
Vaccin avec adjuvant rOspA	OspA	ProLyme	Intervet	1999

Pour instaurer une immunité efficace, le chien devra subir une primo vaccination entre 9 et 12 semaines d'âge avec un rappel deux à quatre semaines plus tard, par la suite un rappel annuel, préférentiellement au printemps avant l'apparition des tiques (saison d'activité des tiques), l'immunité vaccinale serait de courte durée d'où l'utilité d'un rappel annuel, qui permettrait de maintenir un taux d'anticorps suffisamment élevé et donc immunisant (Straubinger *et al.*, 1995)

La vaccination contre la borréliose de Lyme est sujette à controverse, certaines études auraient démontré chez des chiens n'ayant jamais été en contact avec l'agent causal de la maladie de Lyme et ayant subi des vaccinations répétées et donc en contact avec des antigènes vaccinaux, auraient par la suite développé la forme rénale de la maladie.

Cette néphropathie serait secondaire à une réaction immunitaire développée au contact de l'antigène de l'agent infectieux, notamment des antigènes vaccinaux, si cet antigène à lui seul suffit au développement de signes cliniques on serait conduits à déduire que la vaccination serait à proscrire, puisqu'elle induirait un cumul de dommages au fil des vaccinations (Marqus *et al.*, 2005 ; Fowalt *et al.*, ; NAVC Clinicians Brief Sept 2008)

V.2.2. Prophylaxie sanitaire

L'infection du chien est conséquente à une morsure de tique contaminée, ce qui fait de cette dernière le facteur de risque le plus important, il convient donc de faire preuve de vigilance face à l'activité des tique notamment leur morsure et particulièrement en saison de forte activité de cet arthropodes hématophages.

Il est fortement recommandé l'usage de produits qui les neutraliserait (desVignes F *et al.*, 2001 ; Kidd L *et al* 2003) ,parmi ces molécules citant :

-Le Fipronil: solution en spray ou en pipette, Fipronil, Frontline Top Spot, Merial, Duluth, GA.

-Les colliers antiparasitaires: colliers d'Amitraz, Virbac, Fort Worth, TX.

-Permethrine et Imidacloprines : Advantix, Bayer, Shawnee Mission, KS.

Ces produits peuvent aussi être combinés et servir à limiter considérablement les risques d'infection par *Borrelia burgdorferi*. (desVignes F *et al.*, 2001)

Chez l'homme on préconise l'usage approprié de répulsifs à base de Permethrine. (Gavgani, A.S. *et al.*, 2002).

CHAPITRE 2 :
MATERIEL ET METHODES

Introduction

Cette enquête a pour but de déterminer le statut sérologique des chiens vis-à-vis de la borréliose de Lyme dans la région d'Alger. À cet effet, 50 sérums ont été collectés mais seuls 30 ont été analysés par la technique d'immunofluorescence indirecte en raison du manque de lames pour l'analyse. L'objectif de ce travail a été de déterminer la séroprévalence des chiens de propriétaires prélevés vis-à-vis de *Borrelia burgdorferi sensu lato* et d'essayer d'établir une corrélation entre une sérologie positive et les signes cliniques observés. 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. La majorité des prélèvements ont été effectués au niveau de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El Harrach à partir de chiens de propriétaires venant pour des consultations en médecine ou en chirurgie. D'autres prélèvements ont été réalisés dans des cliniques vétérinaires privées.

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 chien effectué. Elle comprenait un recueil de commémoratifs permettant d'identifier chaque animal concerné. Nous y avons mentionné essentiellement : l'origine du chien, la race, l'âge, sexe du chien, 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 (annexe).

II.2. Les prélèvements

La prise de sang a été réalisée à partir de la veine céphalique, de façon stérile après une désinfection minutieuse de la zone de ponction à l'aide d'alcool à 70°. 4 millilitres (mL) de sang ont été recueillis sur tube sec (figure 11) puis centrifugés au laboratoire à 1500 g pendant 10 minutes. Le sérum a été récolté dans des microtubes stériles puis conservés à -20°C jusqu'à l'utilisation (figure 12).



Figure 11 : Tubes secs



Figure 12 : Tubes eppendorfs remplis de sérums de chiens identifiés par un numéro

III. ANALYSE DES PRELEVEMENTS PAR IFI (IMMUNOFLUORESCENCE 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* 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 sérique par un conjugué anti-immunoglobuline dirigé contre les anticorps du sérum marqué par un fluorochrome. 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 adaptée 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 coûteuse, peut être utilisée pour des petites séries de sérums et permet un bon suivi du traitement dans les formes évolutives.

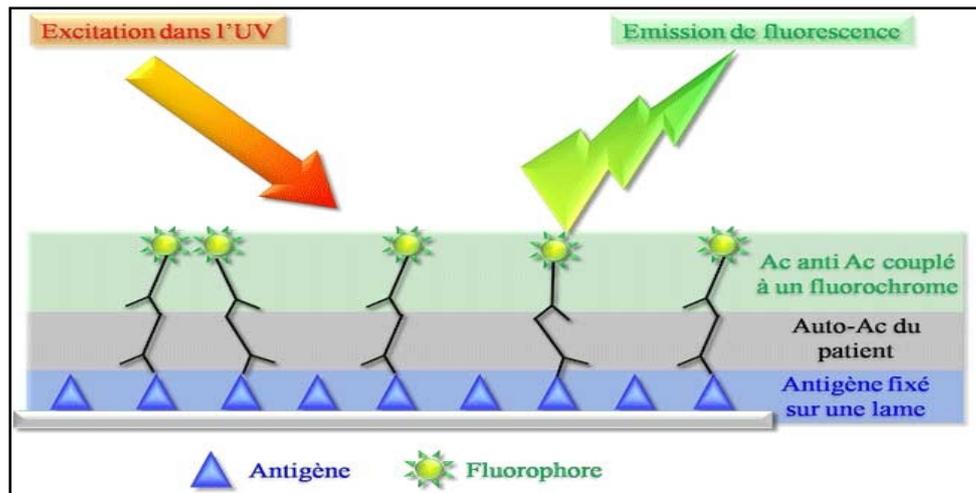


Figure 13 : Schéma illustrant le principe de la technique d'immunofluorescence indirecte (IFI).

III.2. Matériels utilisés

- Petits tubes stériles en verre (5ml)
- Eau distillée
- Flacons de PBS (Phosphate Buffer Saline) (figure 14)



Figure 14 : Flacons de PBS (phosphate buffer saline).

- Verrerie propre rincée à l'eau distillée.
- Agitateur magnétique.
- Vortex
- 2 pipettes l'une à 100 μ l et l'autre à 1000 μ l.
- Portoir en verre (figure 15)

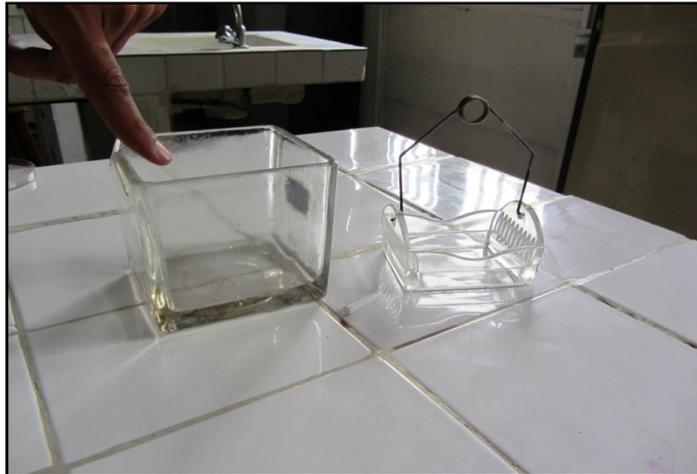


Figure 15 : Portoir en verre

- Boite d'incubation préalablement humidifiée (figure 16).



Figure 16 : Boite d'incubation

- lames commerciales MegaScreenFluoborrelia (MegaCorDiagnostik, Autriche) figure 18.
- Fluoprep figure 23, lames et lamelles figure 22.
- Conjugué : anticorps antiIg chien (Jackson ImmunoResearch) figure 20

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 19. Le criblage des sérums a été réalisé à la dilution du 1/50 (10µL de sérum dans 490 µL de PBS). Chaque lame de dix puits comporte un sérum témoin positif et un sérum témoin négatif.

Les lames sont incubées 30 minutes à 37°C sous atmosphère humide suivi de 2 rinçages de 5 minutes dans du PBS. Le conjugué (anti-IgG de chien -Jackson immunoresearch, USA), dilué au 50ème, est préparé à partir d'une solution de bleu d'Evans (BioMerieux, Marcy l'Etoile, France) dans du PBS (40 µL par puits). Les lames sont de nouveau incubées à 37°C sous atmosphère humide pendant 30 minutes (figure 17). Deux rinçages de 5 minutes sont ensuite effectués puis du fluoprep (BioMerieux, 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 17 : Dépôt des lames de borrelia dans la chambre humide



Figure 18 : Pochette des lames de *Borrelia burgdorferi*.



Figure 19 : Vortexer les sérums après décongélation



Figure 20 : Conjugué (anticorps anti Ig canin marqué).

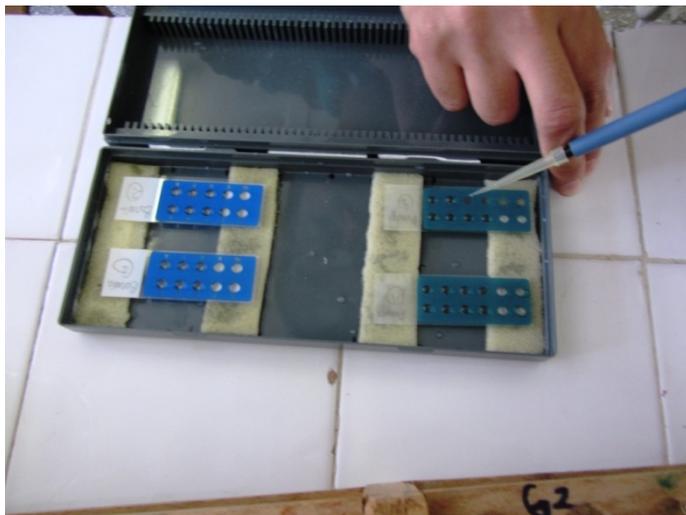


Figure 21 : Dépôt de la préparation de la solution du conjugué sur les puits des lames.



Figure 22 : Lamelles utilisées pour le montage des lames

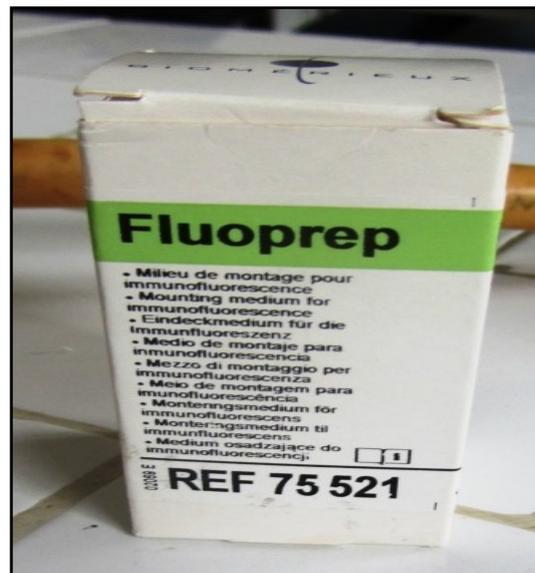


Figure 23 : Fluoprep (biomerieux)

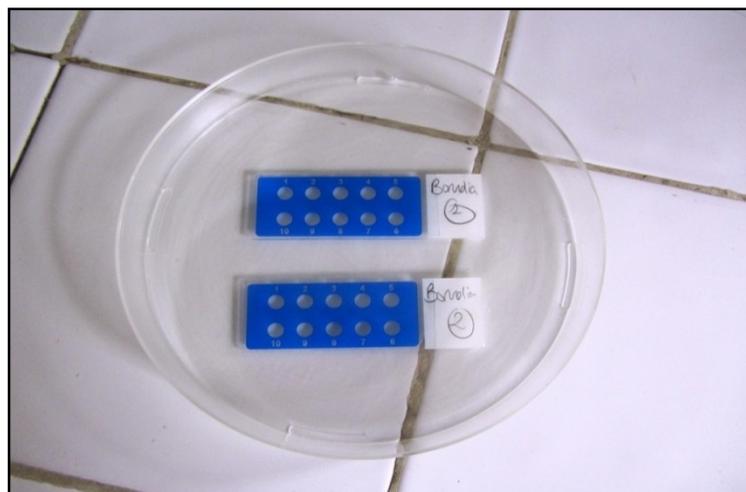


Figure 24: Dépôt des lames de Borrelia dans une boîte de pétrie après montage

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 IV ci-dessous.

Tableau IV : Barème de lecture des lames de *Borrelia burgdorferi*

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

Tableau V : Interprétation des résultats de la lame N° 1 de borrelia selon le barème

1	2	3	5	T+	
+++ /++++	+	++	+	+++	
6	7	8	9	T-	Lame
0	+ /++	++	+++	0	N°1

IV. OUTILS STATISTIQUES

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel *Stata* (version 12). Tout d'abord, nous avons établi les valeurs de fréquence et de prévalence. La différence entre les variables a été testée à l'aide du test Fisher exact. Nous avons choisi comme variable: l'âge, le sexe et l'état de santé du chien. La différence a été considérée comme significative si $p < 0.05$.

CHAPITRE 3 :
RESULTATS

I. DESCRIPTION DE LA POPULATION CANINE ÉTUDIÉE

Au cours de l'étude, 28 chiens de propriétaire ont été prélevés. Parmi ces chiens 17 sont des chiens sains et 11 présentent des pathologies diverses, infectieuses et non infectieuses. L'échantillon comporte 15 femelles et 13 mâles soit un ratio de 2.18. Le plus jeune chien a 4 mois et le plus âgé a 12 ans (moyenne d'âge : 84 mois) voir tableau VI.

Tableau VI : Classification des chiens selon le sexe et l'âge

Paramètres	Nombre total des chiens (%)
Sexe	
Male	13 (46.42)
Femelle	15 (53.58)
Age (mois)	
12	10 (35.72)
>12	18 (64.28)
Total	28

II. SEROPREVALENCE POUR *BORRELIA BURGDORFERI*

Pour cette bactérie l'analyse sérologique par IFI a été réalisée à la dilution au 1/50^e. Le seuil de positivité étant fixé à deux croix d'intensité pour l'antigène testé. Sur un total de 28, 19 (67.85%) sérums de chiens se sont révélés positifs à *Borrelia burgdorferi* et 11 (39.28%) se sont révélés négatifs.

III. COINFECTION *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM* ET *BORRELIA BURGDORFERI*

Les chiens séropositifs pour les deux agents infectieux étaient de 4 parmi les 12 sérums testés soit un pourcentage de 33.33%. De plus, 8/12 étaient séropositifs à *Borrelia burgdorferi* mais séronégatifs à *Anaplasma phagocytophilum*.

IV. ETUDE DES FACTEURS DE RISQUE

IV.1. L'âge

28 chiens ont servi pour étudier l'effet de l'âge en fonction de la séroprévalence à *B. burgdorferi*. Les chiens ont été répartis en deux classes : 12 mois (35.72%) ; et >12 mois (64.28%). Les chiens >12 mois semblent être les plus séropositifs à *B. burgdorferi* comparés au chiens de moins de 12 mois et ceux de plus de 36 mois (tableau VII). Toutefois, il n'y a pas d'association significative entre la présence d'anticorps anti *B. burgdorferi* et la classe d'âge ($p>0.05$).

Tableau VII : La séroprévalence selon l'âge des chiens

	<i>12</i>	<i>> 12</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i> +	5	14
<i>Borrelia burgdorferi</i> -	5	4
Total	10	18

IV.2. Le sexe

On ne constate aucune différence significative selon le sexe pour *B. burgdorferi* que ce soit pour le mâle que pour la femelle ($p>0.05$) (tableau VIII).

Tableau VIII : La séroprévalence selon le sexe des chiens

	<i>MALE</i>	<i>FEMELLE</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i> +	9	10
<i>Borrelia burgdorferi</i> -	4	5
Total	13	15

IV.3. État général

Les chiens ont été répartis en deux classes : sains et malades. Si on analyse les chiens selon leur état général, on ne constate pas de différence significative pour *B. burgdorferi*, ($p>0.05$) (tableau IX).

Tableau IX : La séroprévalence selon l'état général des chiens

	<i>SAIN</i>	<i>MALADE</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i> +	11	8
<i>Borrelia burgdorferi</i> -	6	3
Total	17	11

CHAPITRE 4 :
DISCUSSION

Discussion

Chez le chien, comme chez les autres espèces d'animaux domestiques, l'épidémiologie de la Borréliose de Lyme est liée à la biologie et l'écologie des arthropodes vecteurs que sont les tiques ainsi qu'à la présence de certains animaux sauvages à sang chaud qui constituent le réservoir de ces bactéries et assurent la pérennité de l'infection.

La borréliose de Lyme est une zoonose très largement répandue dans l'hémisphère nord. Elle y est sans doute établie depuis longtemps, tant en Europe qu'en Amérique. C'est d'ailleurs ce que tendent à démontrer les descriptions cliniques européennes du début du XX^e siècle (Afzelius, Lipschutz, Garin...) et ceux rapportées par Ruel et Durmon « La diversité des réservoirs et des vecteurs possibles de *B. Burgdorferi* fait que cette bactérie a une diffusion potentiellement mondiale. En France, la maladie peut être contractée dans tous les départements métropolitains. Le réservoir de germe est très vaste puisqu'il intéresse de nombreuses espèces de mammifères (cervidés, petits rongeurs, chiens, bétail...) et même d'oiseaux."

Les principales études épidémiologiques de la Maladie de Lyme ont été réalisées chez les tiques, l'homme et plus ponctuellement chez le chien. Chez les carnivores domestiques, on manque de données précises en Afrique du Nord. Cependant du fait de la très large prévalence des Ixodes en Europe, de leur taux de contamination par les *Borrelia* souvent très élevé et de leur biologie, les chiens doivent avoir les mêmes taux de prévalence que les autres animaux.

Ce travail consiste en une exploration de l'infection chez des chiens propriétaires par *Borrelia burgdorferi* 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 carnivores domestiques et d'autre part parce que les carnivores sont considérés comme des réservoirs ou comme des sentinelles de ces agents zoonotiques.

Dans cette partie de notre travail, nous avons testé par IFI 28 sérums de chiens de propriétaires à *Borrelia burgdorferi*.

Le niveau de prévalence obtenue pour cet agent bactérien était de 67.85 %. Ainsi ce pourcentage est comparable à celui décrit par Azzag et ses collaborateurs en 2012 (58.7%) et dans la littérature (Banet *et al.*, 1998 ; Mircean *et al.*, 2012 ; Cardoso *et al.*, 2012). Cependant, notre pourcentage était nettement plus élevé que celui décrit dans une étude espagnole (16.8%)(Solano-Gallego *et al.*, 2006).

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 chiens ou l'état de santé de ces derniers. 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 chiens en Algérie, avec un premier résultat sérologique encourageant à persévérer dans la découverte du statut des chiens de propriétaires 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) permettra de diagnostiquer et traiter à bon escient les animaux atteints.

Conclusion et perspective

La maladie de Lyme est une zoonose d'importance mondiale, dont les conséquences sur la santé humaine peuvent être graves et invalidantes, notamment lors d'épisodes chroniques. La connaissance de la pathogénie, particulièrement complexe, montre un degré d'adaptation et de résistance aux défenses immunitaires très évolué pour *Borrelia burgdorferi*.

Le traitement, s'il est aisé lors des premiers stades, perd de son efficacité pour les formes chroniques, entraînant une résistance aux traitements antibiotiques (l'origine auto-immune reste à vérifier). On comprend alors l'intérêt porté aux outils diagnostiques, et à la démarche à suivre dans les suspicions de borréliose de Lyme. Le diagnostic de laboratoire a fait des progrès considérables, avec des outils de dépistage comme l'IFI, ou de confirmation comme le Western-Blot ou la PCR. L'uniformisation des critères de diagnostic en matière d'immunoblot permettront de rendre comparables les différentes études menées par les laboratoires dans le monde entier.

Les conseils en matière de prévention contribuent également à diminuer les facteurs de risques pour les personnes les plus exposées. Chez le chien, les connaissances en sont à leur début, le tableau clinique étant peu caractéristique, et les infections sub-cliniques très fréquentes. Les outils diagnostiques utilisés sont souvent adaptés de produits humains, ce qui nécessite un étalonnage préalable des tests.

Au vu des prévalences obtenues dans différents pays d'Europe et aux Etats- Unis, il nous a semblé intéressant d'évaluer le niveau de prévalence dans la région d'Alger. La technique retenue pour ce screening est l'immunofluorescence indirecte. Avec un taux de prévalence de 67.85%. D'autres études à venir pourraient s'intéresser par exemple au statut clinique des animaux, ce qui permettrait d'établir un seuil sérologique pour les atteintes cliniques de la maladie de lyme.

Références

- Anderson JF, Johnson RC, Magnarelli LA, Hyde FW.** Involvement of birds in the epidemiology of the Lyme disease agent *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immune* 1986 ;51: 394-396.
- Appel MJ, Allan S, Jacobson RH, Lauderdale TL, Chang YF, Shin SJ, Thomford JW, Todhunter RJ, Summers BA.** Experimental Lyme disease in dogs produces arthritis and persistent infection. *J Infect Dis* 1993;167: 651-664.
- **Azzag et collaborateurs.** Communication personnelle. Thèse de Doctorat (2012).
- B. Reimer, A. Marschang, V. Fingerle, B. Wilske, F. v. Sonnenburg** Prävalenz und inzidenz der Lyme -Borreliose in süd- und ostbayern. 1999 Klinikum Innenstadt der Universität München.
- Bacon, R.M. et al.** (2007) Lyme Disease, United States, 2003–2005. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 56, 573–576.
- Baneth G, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Pappalardo B, Ryan J.** A survey of tick-borne bacteria and protozoa in naturally exposed dogs from Israel. *Vet Parasitol* 1998;74: 133-142.
- Baranton G, Postic D, Saint Girons I, Boerlin P, Piffaretti JC, Assous M, Grimont PA.** Delineation of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. *Int J Syst Bacteriol* 1992;42: 378-383.
- **Bedossa Adrien., 2005 :cahier34 borreliose de Lyme .**
- Bergström, S.** Molecular and cellular biology of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. In: Lyme borreliosis: biology, epidemiology and control, (Ed.), Gray, J.S., Kahl, O., Lane R.S., Stanek, G. CABI Publishing, New York 2002; 47-89.
- Brisson D, Dykhuizen DE, Ostfeld RS** (2008) Conspicuous impacts of inconspicuous hosts on the Lyme disease epidemic. *Proc Biol Sci* 275:227–235.
- Buchwald, A.** Ein fall von diffuser idiopatischer Haut-Atrophie. *Arch. Dermatol. Syph.(Berlin)* 1883; 15: 553-556.
- Burckhardt, J.L., Zu Frage der haut follikel und .** Keimzentrenbildung in der Z. Pathol 1911;6:352-359.
- Burgess, E.C.** Natural exposure of Wisconsin dogs to the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*) laboratory *Animal Science* 1986; 36:288-290.

- Burgess, E.C. et al.** Arthritis and systemic disease caused by *Borrelia burgdorferi* infection in a cow. *J.A.V.M.A.* 1987 ; 191:1468-1470.
- Cohen N.D., Carter C.N., Thomas M.A., Angulo A.B., Bugster A.K.** (1990): Clinical and epidemiologic characteristics of dogs seropositive for *Borrelia burgdorferi* in Texas: 110 cases (1988). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 197, 893–898.
- Cardoso L, Mendao C, Madeira de Carvalho L.** Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma* spp. and *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal--a national serological study. *Parasit Vectors* 2012;5: 62.
- Daniel M., Kolar J., Zeman P., Pavelka K., Sadlo J.** (1998): Predictive map of *Ixodes ricinus* high-incidence habitats and a tick-borne encephalitis risk assessment using satellite data. *Exp. Appl. Acarol.*, 22, 417-433.
- Delgado S., Carmenes P.** (1995): Seroepidemiological survey for *Borrelia burgdorferi* (Lyme Disease) in dogs from northwestern of Spain. *Eur. J. Epidemiol.*, 11, 321–324.
- De Silva, A.M., Fish, D., Burkot, T.R., Zhang, Y., Fikrig, E.** OspA antibodies inhibit the acquisition of *Borrelia burgdorferi* by *Ixodes* ticks. *Infect. Immun* 1997; 65:3146-50.
- desVignes F, Piesman J, Heffernan R, et al.** Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. *J Infect Dis* 2001; 183:773–778.
- Embers ME, Liang FT, Howell JK, Jacobs MB, Purcell JE, Norris SJ, Johnson BJ, Philipp MT.** Antigenicity and recombination of VlsE, the antigenic variation protein of *Borrelia burgdorferi*, in rabbits, a host putatively resistant to long-term infection with this spirochete. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007;50: 421-429.
- Eng T.R., Wilson M.L., Spielman A., Lastavica C.C.** (1988): Greater risk of *Borrelia burgdorferi* infection in dogs than in people. *J. Infect. Dis.*, 158, 1410–1411.
- Estrada-Pena A.** (1997): Epidemiological surveillance of tick populations: A model to predict the colonization success of *Ixodes ricinus* (Acari: *Ixodidae*). *Eur. J. Epidemiol.*, 13, 573–580.

-Fowalt PT, Rose CD, Macubure V, Long term effects of immunization with recombinant lipoprotein outer surface protein on a serological test for Lyme disease Clin Diagn Immunol 11:808-80.

-Fraser CM, Casjens S, Huang WM. et al. : Séquence génomique d'une maladie de Lyme spirochète, *Borrelia burgdorferi* . nature 1997; 390 : 580-586.

-G. BARANTON, C. EDLINGER, J. MAZZONELLI et Y. DUFRESNE . La borréliose dite de Lyme, maladie "nouvelle" identifiée depuis près de 80 ans, Médecine et Maladies Infectieuses 1986 ; 12 : 747 – 755.

-Gavvani, A.S. et al. (2002) Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial. Lancet 360, 374–379.

-Guerra M.A., Walker E.D., Kitron U. (2001): Canine surveillance system for Lyme borreliosis in Wisconsin and northern Illinois: geographic distribution and risk factor analysis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 65, 546–552.

-Hauser U, Wilske B. Enzyme-linked immunosorbent assays with recombinant internal flagellin fragments derived from different species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato for the serodiagnosis of Lyme neuroborreliosis. Med Microbiol Immunol 1997;186: 145-151.

- Johnson, R.C., Schmid, G.P., Fred, W.H., Steigerwalt, A.G., Brenner, D.J. *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease. Int. J. Syst. Bacteriol 1984 ; 34 : 496-497.

-Kidd L, Breitschwerdt EB. Transmission times and prevention of tick-borne diseases in dogs. Comp Cont Ed 2003;25:742–750.

-Klaus Eisendle, MD, PhD, Tanja Grabner, MD, and Bernhard Zelger, MD, MSc. Microbiology and Infectious Disease / focus floating microscopy for cutaneous borreliosis Am J Clin Pathol 2007;127:213-222.

-Klempner MS, Noring R, Epstein MP, McCloud B, Hu R, Limentani SA, Rogers RA. Binding of human plasminogen and urokinase-type plasminogen activator to the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. J Infect Dis 1995;171: 1258-1265.

-Krupka I, Straubinger RK. Lyme borreliosis in dogs and cats: background, diagnosis, treatment and prevention of infections with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2010;40: 1103-1119.

-Kurtenbach K, Sewell HS, OgdenNH, Randolph SE and Nuttall PA (1998) Serum complement sensitivity as a key factor in Lyme disease ecology. Infect Immun; 66(3):1248-51.

- Liang FT, Philipp MT.** Analysis of antibody response to invariable regions of VlsE, the variable surface antigen of *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 1999;67: 6702-6706.
- Lindenmayer J.M., Marshall D., Onderdonk A.B.** (1991): Dogs as sentinel for Lyme disease in Massachusetts. *Am. L. Public Health*, 81, 1448–1455.
- Lissman B.A., Bosler E.M., Camay H., Ormistan B.G., Benach J.L. (1984):** Spirochete associated arthritis (Lyme disease) in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 185, 219–220.
- Littman MP.** Canine borreliosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2003;33: 827-862.
- Littman, M.P. et al.** (2006) ACVIM small animal consensus statement on Lyme disease in dogs: diagnosis, treatment, and prevention. *J. Vet. Intern. Med.* 20, 422–434.
- Magnarelli L.A., Anderson F.J., Schreier A.B., Ficke C.M.** (1987): Clinical and serologic studies of canine borreliosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 191, 1089–1094.
- Marconi, R.T., Samuels, D.S., Garon, C.F.** Transcriptional analyses and mapping of the *ospC* gene in Lyme disease spirochetes. *Bacteriol* 1993 ;175 : 926-932.
- Marqus AR, Hornerly RL, Dally L, Philipp WT,** Detection of Immune Complexes is not independent of detection of antibody in Lyme Disease patients and does not contain active infection of *Borrelia*, *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* Sept, 2005; 12 (9):1036-1040.
- Merino F.J., Serrano J.L., Saz J.V., Nebreda T., Gegundez M., Beltran M. (2000):** Epidemiological characteristics of dogs with Lyme borreliosis in the province of Soria (Spain). *Eur. J. Epidemiol.*, 16, 97–100.
- NAVC Clinicians Brief** Sept 2008 pg 46. [Western Blot C6 peptide antibody test serology and histopathology was positive but no intact *Borrelia* found.]
- Mircean V, Dumitrache MO, Gyorke A, Pantchev N, Jodies R, Mihalca AD, Cozma V.** Seroprevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis* and tick-borne infections (*Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, and *Ehrlichia canis*) in dogs from Romania. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2012;12: 595-604.
- Ogden NH, Nuttall PA and Randolph SE** (1997) Natural Lyme disease cycles maintained via sheep by co-feeding ticks. *Parasitology*;115 (Pt 6):591-9.
- Ogden, N.H. et al.** (2006) Climate change and the potential for range expansion of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in Canada. *Int. J. Parasitol.* 36, 63–70.
- Ohnishi J, Piesman J, de Silva AM.** Antigenic and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* populations transmitted by ticks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98: 670-675.

- Olsen B, Jaenson TG, Noppa L, Bunikis J, Bergstrom S.** A Lyme borreliosis cycle in seabirds and *Ixodes uriae* ticks. *Nature* 1993;362: 340-342.
- Olsen B, Jaenson TG, Bergstrom S.** Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato-infected ticks on migrating birds. *Appl Environ Microbiol* 1995;61: 3082-3087.
- Pal, U., De Silva, A.M., Montgomery, R.R., Fish, D.; Anguita, J., Anderson, J.F., Lobet, Y., Fikrig, E.** Attachment of *Borrelia burgdorferi* within *Ixodes scapularis* mediated by outer surface protein A. *J. Clin. Invest* 2000; 106:561-569.
- Postic D, Edlinger C, Richaud C, Grimont F, Dufresne Y, Perolat P, Baranton G, Grimont PA.** Two genomic species in *Borrelia burgdorferi*. *Res Microbiol* 1990;141: 465-475.
- Rand P.W., Smith R.P., Lacombe E.H.** (1991): Canine seroprevalence and the distribution of *Ixodes dammini* in an area of emerging Lyme disease. *Am. J. Public Health*, 81, 1331–1334.
- Rand P.W., Lacombe E.H., Smith R.P., Gensheimer K., Dennis D.T.** (1996): Low seroprevalence of human Lyme disease near a focus of high entomologic risk. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 55, 160–164.
- Randolph S.E.** (2000): Tick and tick borne disease system in space and from space. *Adv. Parasitol.*, 47, 217–243.
- Rawlings JA.** Lyme disease in Texas. *Zbl Bakt Hyg A*, 263:483-486. 1986.**-Ruel M, Dournon E.** La maladie de Lyme . *Ann Med Interne*, 139(8): 555 - 574. 198.
- Sadziene, A., Wilske, B., Ferdows, M.S., Barbour, A.G.** The cryptic *ospC* gene of *Borrelia burgdorferi* B31 is located on a circular plasmid. *Infect. Immun* 1993 ; 61 : 2192-2195.
- Schwan, T.G., Piesman, J.** Temporal changes in outer surface proteins A and C of the Lyme disease-associated spirochetes, *Borrelia burgdorferi*, during the chain of infection in ticks and mice. *J. Clin. Microbiol* 2000; 38: 382-388.
- Simpson WJ, Burgdorfer W, Schrupf ME, Karstens RH, Schwan TG.** Antibody to a 39-kilodalton *Borrelia burgdorferi* antigen (P39) as a marker for infection in experimentally and naturally inoculated animals. *J Clin Microbiol* 1991;29: 236-243
- Skotarczak, B., Adamska, M., Supron´ , M., 2004.** Blood DNA analysis for Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophila and Babesia spp. of dogs from northern Poland. *Acta Vet. Brno* 73, 347–351.
- Solano-Gallego L, Bradley J, Hegarty B, Sigmon B, Breitschwerdt E.** Bartonella henselae IgG antibodies are prevalent in dogs from southeastern USA. *Vet Res* 2004;35: 585-595.

- Stefancikova A., Skardova I., Petko B., Janovska D., Cyprichova V.** (1996): Antibodies IgG to *Borrelia burgdorferi* in dogs from Kosice region (in Slovak). *Vet. Med. – Czech*, 41, 83–86.
- Stefancikova A., Tresova G., Petko B., Skardova I., Sesztakova E.** (1998): ELISA comparison of three whole cell antigens of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in serological study of dogs from area of Kosice, Eastern Slovakia. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 5, 25–30.
- Steven J. Norris.** How do Lyme *Borrelia* Organisms Cause Disease? The Quest for Virulence Determinants *The Open Neurology Journal*, 2012, 6, (Suppl 1-M8) 119-123.
- Straubinger RK, Chang YF, Jacobson RH, Appel MJG.** Sera from OspA-vaccinated dogs, but not those from tick-infected dogs, inhibit in vitro growth of *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol* 1995;33:2745–2751.
- Summers BA, Straubinger AF, Jacobson RH, Chang YF, Appel MJ, Straubinger RK.** Histopathological studies of experimental Lyme disease in the dog. *J Comp Pathol* 2005;133: 1-13.
- Susan E. Little, Stephanie R. Heise, Byron L. Blagburn, Steven M. Callister and Paul S. Mead** (2010) Lyme borreliosis in dogs and humans in the USA.
- Telford SR 3rd, Mather TN, Moore SI, Wilson ML and Spielman A** (1988) Incompetence of deer as reservoirs of the Lyme disease spirochete. *Am J Trop Med Hyg*; 39(1):105-9.
- Van Dam AP, Kuiper H, Vos K, Widjojokusumo A, de Jongh BM, Spanjaard L, Ramselaar AC, Kramer MD, Dankert J.** Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Clin Infect Dis* 1993;17: 708-717
- Wagner B, Freer H, Rollins A, Garcia-Tapia D, Erb HN, Earnhart C, Marconi R, Meeus P.** Antibodies to *Borrelia burgdorferi* OspA, OspC, OspF, and C6 antigens as markers for early and late infection in dogs. *Clin Vaccine Immunol* 2012;19: 527-535.
- Wang G, van Dam AP, Dankert J.** Phenotypic and genetic characterization of a novel *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolate from a patient with Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol* 1999;37: 3025-3028.
- William H. Schlesinger,** Cary Institute of Ecosystem Studies, Millbrook, NY, and approved May 9, 2012 (received for review March 16, 2012).

Fiche d'enquête

Prélèvements sanguins effectués sur chiens suspects de Borréliose.

Date du prélèvement : / / Numéro de prélèvement :.....

Localisation géographique du prélèvement :

Wilaya d'Alger.

Circonscription :

Commune :

Renseignements du propriétaire :

Nom :

Adresse :

Numéro de téléphone :

Adresse électronique :

Identification du chien :

Nom :

Race :

Age :

Sexe :

Origine (lieu de naissance) :

Signes distinctifs :

Statut :

Garde

Compagnie

Chasse

Travail

Entretien sanitaire du chien :

Vaccination :

Vermifugeassions:

Déparasitage externe:

Environnement :

Habitat :

Maison Jardin Foret Chantier

Autre (préciser) :

Autres animaux:

Rongeurs (réservoirs) : OUI NON

Porcins (réservoirs) : OUI NON

Tiques (vecteurs) : OUI NON

Puces (vecteurs) : OUI NON

Autres chiens (réservoir) : OUI NON

Betail (réservoir) : OUI NON

Symptomatologie:

Etat général :

Fatigue fièvre Anorexie Asthénie dépression

Autres (préciser) :.....

Système respiratoire :

Jetage toux Polypnée

Autres (préciser) :.....

Système lymphatique :

Adénopathie

Autres (préciser) :

Système urinaire :

Polydipsie-polyurie

Hématurie

Glomérulonéphrite

Autres (préciser) :

Système locomoteur :

Boiteries

Autres (préciser) :.....

Système musculaire :

Myopathie avec douleurs diffuses

Autres (préciser) :

Système articulaire :

Polyarthrite non érosive

Articulation chaude

Articulation douloureuse

Articulations augmenté de volume

Autres (préciser) :

Système circulatoire : (de façon inconstante)

Myocardite

Bloc auriculo-ventriculaire

Autres (préciser) :.....

Antécédents médicaux :

Citer :

Traitement :

Examens complémentaires :

-Tests de diagnostic :

<i>Date</i>	<i>Nature du prélèvement</i>	<i>Test</i>	<i>Résultat</i>

Résumé

Les arthropodes hématophages sont impliqués dans la transmission de nombreuses bactéries dont les principales appartiennent aux genres *Anaplasma* et *Borrelia*. La plupart des maladies induites sont potentiellement émergente en Algérie. Or, la première étape pour évaluer le risque de contracter ses maladies vectorielles est de connaître les méthodes de diagnostic de l'infection ainsi que la prévalence de l'agent en cause chez l'hôte réservoir et son vecteur. L'objectif de cette étude est de déterminer la séroprévalence, par immunofluorescence indirecte, à *Borrelia burgdorferi* dans une population de de propriétaire.

Parmi les 28 chiens étudiés, 67,84% (19/28) se sont montrés positifs en IFI à *Borrelia burgdorferi*, et 32,14% (9/28) définis comme séronégatifs et pour cela plusieurs paramètres ont été pris en compte tels que l'âge, le sexe, l'état général du chien et la présence de tique sur l'animal, ce qui nous a permis de conclure que la maladie de lyme touche plus les chiens âgés de plus de 12 mois, qu'elle est présente autant chez le mâle que chez la femelle et malgré une séroprévalence élevée chez les chiens, un bon nombre d'infections demeurent asymptomatiques. Notre travail nous a aussi permis de mettre en évidence l'existence d'une coïnfection *Anaplasma phagocytophilum* et *Borrelia burgdorferi* avec un taux de 33,33%.

Mots clés: *Borrelia burgdorferi*, IFI, tique, chien

Abstract:

Hematophagus arthropods are implicated in the transmission of several bacteria in which the main strains belong to the *Anaplasma* and *Borrelia* Genious, Most of the induced illnesses are potentially emergent in Algeria. However, the first step to value (to assess) the riskiness of contamination with those vector-borne diseases, is the awareness of the diagnosis methods of the infection and the prevalence of the causal agent in the host tank and its vector.

The aim of this study is to determinate the seroprevalence with indirect immunofluorescence antibody test (IFA) to *Borrelia burgdorferi* in a population of pet dogs (owner dogs).

Among the 28 dogs studied, 67,84% (19/28) are positive to *Borrelia burgdorferi* according to IFA test; 32,14% (9/28) described as negative, For this to happen many parameters had been taken into consideration: age, gender, general state of health, existence (presence) of ticks on animal. It leaded us to the conclusion that lyme disease is likely to affect dogs that are more than 12 months age and that it affects males as well as females. Despite an increased (high) seroprevalence in dogs, most of the identified infected dogs remain asymptomatic. In addition our work allowed us to bring out the existence of a co-infection to *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* with a rate of 33,33%.

Key words: *Borrelia burgdorferi*, IFA, tick, dog

المصليات	بكتيريا عديدة الأهم منها	النوعين	بوريليا.
تشخيص	عنها يحتمل	لتقييم	بهذه
الهدف هذه	هو تحديد	(المضيف)	هو
()	طريق	الاستشعاعية غير	بوريليا برغدورفيرى وهذا
بين 28	اقيمت عليهم	ايجابية	الاستشعاعية غير
يخص بوريليا برغدورفيرى	67.84% (19/28) ظهرت عليها	كاملين سالبين ولهذا	بعين
الحيوان	32.14% (9/28)	ليم يمس	اعمارها 12 شهرا و
انها	كبير	كبير	هذا)
()	فاغوسيتوفيلوم	بوريليا برغدورفيرى	33.33%.
بوريليا برغدورفيرى،	لاشعاعية غير		