

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Mémoire

en vue de l'obtention du diplôme de

Master complémentaire en sciences vétérinaires

Étude de la séroprévalence de l'infection par *Borrelia burgdorferi sensu lato* chez des bovins séropositifs à la brucellose et à la bartonellose, dans la région d'Alger.

Présenté par :

AIT HAMOU Amina

Soutenu le : 10 janvier 2018

Devant le jury composé de:

- Président : **Dr TENNAH S.**
- Promoteur : **Dr AZZAG N.**
- Examineur : **Dr BOUABDALLAH R.**
- Examineur : **Dr HAFSI F.**

Maitre de conférences A ENSV-Alger
Maitre de conférences A ENSV-Alger
Maitre de conférences B ENSV-Alger
Maitre de conférences A ENSV-Alger

Année universitaire : 2016 – 2017

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Mémoire

en vue de l'obtention du diplôme de

Master complémentaire en sciences vétérinaires

Étude de la séroprévalence de l'infection par *Borrelia burgdorferi sensu lato* chez des bovins séropositifs à la brucellose et à la bartonellose, dans la région d'Alger.

Présenté par :

AIT HAMOU Amina

Soutenu le : 10 janvier 2018

Devant le jury composé de:

- Président : **Dr TENNAH S.**
- Promoteur : **Dr AZZAG N.**
- Examineur : **Dr BOUABDALLAH R.**
- Examineur : **Dr HAFSI F.**

Maitre de conférences A ENSV-Alger
Maitre de conférences A ENSV-Alger
Maitre de conférences B ENSV-Alger
Maitre de conférences A ENSV-Alger

Année universitaire : 2016 – 2017

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier ma très chère promotrice le **Dr AZZAG N.**

Merci madame d'avoir accepté de diriger ce travail.

Merci de m'avoir aidé et d'avoir toujours eu des réponses et des solutions à toutes mes requêtes.

Vous trouverez ici l'expression de mes plus sincères reconnaissances et de mon plus profond respect.

Je remercie également les membres du jury qui m'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.

DEDICACES

Je dédie ce travail à :

Ma très chère maman pour son dévouement, ses encouragements, sa bénédiction et ses prières qui m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études...

La mémoire de mon défunt père qui, j'espère sera toujours fier de sa fille et veillera sur moi de là où il est.

Mon deuxième papa Karim, qui m'a toujours encouragée et a toujours fait en sorte que je ne manque de rien ... Ce travail est le fruit des sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation ... Je t'aime.

Mon frère et mes sœurs.

Mes meilleures amies : Fella et Rachida, sans qui, ces 5 années d'études auraient été fades et sans saveur.

Merci pour tous les fous rires, les pleurs et les souvenirs que nous avons partagés... J'espère vous avoir comme amies pour le restant de ma vie ... Je vous aime.

À toute ma famille et mes amis pour leur soutien permanent ... Merci !

*

... Amina ...

μM: micromètre

AC: anticorps

ADN: Acide Désoxyribonucléique

AMM: autorisation de mise sur le marché

BSK: Barbour-Stonner-Kelly

ECM: érythème chronique migrant

ELISA: Enzyme like Immuno-Sorbent Assay

IFI : immunofluorescence indirecte

IM : voie intramusculaire

IV : voie intraveineuse

IL : interleukine

KDa: kilo Dalton

LCR : liquide céphalo-rachidien

LPS: lipopolysaccharide

M: mètre

P.B.S: phosphate buffer saline

PCR: Polymerase Chain Reaction

UI: unité internationale

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : les espèces appartenant au complexe <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>...	4
Tableau 02 : barème de lectures des lames de <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	32
Tableau 03: interprétation des résultats de la lame 01	32
Tableau 04 : interprétation des résultats de la lame 0232
Tableau 05 : classification des bovins selon la race	33
Tableau 06 : séroprévalence de l'infection par <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> en fonction de la race	34

LISTE DES FIGURES

Figure 01: arbre phylogénique des <i>Spirochaetales</i>	2
Figure 02 : morphologie de <i>Borrelia burgdorferi</i>	5
Figure 03 : structure de <i>Borrelia burgdorferi</i>	6
Figure 04 : cycle enzootique de la Borréliose de Lyme	11
Figure 05 : arthrite de Lyme chez un veau	16
Figure 06: arthrite avec hypertrophie du tarse	16
Figure 07 : lésions croûteuses à l'extrémité des trayons	16
Figure 08 : <i>B. burgdorferi</i> en immunofluorescence indirecte positive	20
Figure 09 : tire tiques	26
Figure 10: matériel utilisé dans la technique d'immunofluorescence indirecte	28
Figure 11: lames utilisées en IFI	29
Figure 12: principe de la technique d'immunofluorescence indirecte	30
Figure 13, 14, 15, 16 : préparation des lames d'immunofluorescence indirecte	31
Figure 17: séroprévalence globale de l'infection par <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>...	33
Figure 18 : séroprévalence de l'infection par <i>Borrelia burgdorferi</i> en fonction de la race	34

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 1

PARTIE 01 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : La Borréliose de Lyme

Borrelia burgdorferi sensu lato

I. HISTORIQUE	1
II. TAXONOMIE	2
1. Le complexe <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	3
III. MORPHOLOGIE ET STRUCTURE	5
1. La couche amorphe.....	5
2. L'enveloppe externe	5
3. L'appareil locomoteur	6
4. Le cylindre protoplasmique	6
IV. CULTURE ET METABOLISME	7
V. FACTEURS DE VIRULENCE	8
1. Les protéines de surface (outer surface protein)	8
2. La flagelline	9
3. La protéine p39	9
4. Le LPS like.....	9
VI. ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE DE LA MALADIE.....	10
1. Répartition géographique.....	10
2. Espèces affectées.....	10
3. Vecteur : classification, habitat, cycle.....	11
4. Importance.....	12
5. Saisonnalité.....	12
VII. ETUDE CLNIQUE DE LA MALADIE DE LYME.....	13
1. Chez l'homme	13
2. Chez les bovins.....	13
▪ Première observation	14
▪ Symptômes généraux	14
▪ Signes articulaires	14
▪ Les signes d'une maladie poly-systémique :.....	15
VIII. DIAGNOSTIC.....	17

1. Le diagnostic biologique	17
Les prélèvements pour la recherche bactériologique	17
Les prélèvements pour la sérologie	17
Recherche de <i>Borrelia</i> par les méthodes directes	17
• L'examen direct.....	17
• L'examen en microscopie à fond noir	18
• L'immunofluorescence directe	18
• Les techniques de coloration	18
• La recherche de <i>Borrelia</i> par culture	19
• L'amplification génique La PCR Polymérase Chain Reaction	19
Les méthodes indirectes	19
• L'immunofluorescence indirecte	19
• ELISA.....	20
• Western-blot	20
2. Le diagnostic clinique	21
3. Diagnostic épidémiologique.....	21
IX. TRAITEMENT	22
1. Chez l'homme	22
▪ Antibiotiques utilisés	22
▪ Choix du traitement	22
2. Chez le bovin	24
X. PROPHYLAXIE	25
1. Prophylaxie sanitaire	25
▪ Informer :	25
▪ La lutte contre les tiques.....	25
▪ L'inspection visuelle associée au retrait des tiques	25
2. Prophylaxie médicale	26
▪ Chez l'homme	26
▪ Chez les animaux.....	26

PARTIE 02: ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I: Matériel et méthodes

I. OBJECTIFS DE L'ETUDE	29
II. MATERIEL ET METHODE.....	30
1. Nature des prélèvements	30
2. Matériel utilisé	30

3. Analyse statistique	31
4. Analyse des prélèvements par l'IFI (Immunofluorescence indirecte)	32
▪ Principe et avantages de l'IFI : (voir figure)	32
▪ Technique.....	33
▪ Lecture des lames	34

Chapitre III: Résultats

I. Description de la population bovine étudiée.....	36
II. Séroprévalence de <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato ou Séroprévalence de l'association bactérienne <i>Brucella</i> spp., <i>Bartonella bovis</i> et <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	36
III. La séroprévalence des bovins en fonction de leur race.....	37
IV. Résultat de l'analyse statistique	38

Chapitre IV : Discussion et conclusion

Chapitre V : Perspectives

Références bibliographiques

INTRODUCTION

Introduction

Bartonella spp. et *Brucella spp.* sont des agents pathogènes étroitement liés qui évoluent à partir d'un ancêtre commun appartenant à l'ordre Rhizobiales des α -protéobactéries (Gillespie et al. 2011). *Brucella* est suspectée de provoquer une immunodéficience qui favoriserait la colonisation par *Bartonella spp.* Cette dernière peut être transmise par les tiques.

La maladie de Lyme, également appelée 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 arthropode hématophage : la tique du genre *Ixodes*.

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. 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.

La transmission par le biais d'une piqure de tique est donc un facteur commun entre *Bartonella spp.* et *Borrelia burgdorferi*.

En Algérie, aucune étude portant sur une possible infection due simultanément à *Brucella spp.*, *Bartonella bovis* et *Borrelia burgdorferi* n'a été relevée. De ce fait, il nous a semblé intéressant de réaliser une enquête épidémiologique sur l'association de l'infection par ces trois pathogènes.

Ainsi, l'objectif principal a été d'évaluer le statut sérologique, vis-à-vis de *Borrelia burgdorferi sensu lato*, de 16 bovins, femelles, âgés de 24 mois et plus, séropositifs à la brucellose et à la bartonellose, provenant de la région d'Alger, et de voir si le facteur « race » peut influencer la séoprévalence à cette infection. Il s'agit donc d'évaluer la possible infection simultanée par *Brucella spp.*, *Bartonella bovis* et *Borrelia burgdorferi sensu lato*.

La partie bibliographique présente quelques rappels historiques, les connaissances actuelles sur la bactériologie de *Borrelia burgdorferi*. Elle décrit ensuite les aspects épidémiologiques des infections par *Borrelia burgdorferi*, l'étude clinique de la Borréliose de Lyme chez l'homme et chez les bovins, le diagnostic ainsi que le traitement et les moyens de lutte contre cette bactérie et ses vecteurs.

Dans la partie expérimentale, nous aborderons les étapes réalisées pour mener cette enquête. Le protocole expérimental est détaillé et les résultats sont exposés puis discutés. Enfin, nous terminerons ce manuscrit par une conclusion et des perspectives.

PARTIE 01 : Etude Bibliographique

CHAPITRE I :
LA BORRELIOSE DE LYME

Borrelia burgdorferi sensu lato

I. HISTORIQUE

Ötzi, le célèbre « homme des Glaces » découvert en 1991, à 3210m d'altitude à la frontière de l'Italie et de l'Autriche est le premier homme connu à avoir été contaminé par une borreliose. Des analyses sur cet homme préhistorique qui représente la plus ancienne momie naturelle connue, permettent de remonter encore plus loin et de dire que la **Borreliose de Lyme** accompagne l'évolution de l'homme depuis des temps lointains sans jamais être réellement différenciées. En effet, des études sur cet ancêtre millénaire ont démontré la présence d'échantillons d'ADN de la bactérie *Borrelia Burgdorferi* dans ses cellules.

L'histoire de la maladie de Lyme débute en Europe, plus particulièrement en Suède et en Allemagne, au début du 20ème siècle avec la première description de l'érythème migrant (LIPSCHÜTZ, 1913 ; AFZELIUS, 1921), lésion cutanée apparaissant à la suite d'une piqûre de tique. En 1922, les français Garin et Bujadoux rapportent, à leur tour, une maladie consécutive à une piqûre de tique se manifestant par une paralysie, évoquant ainsi la première description d'une atteinte neurologique. Le cas étudié présente également une auréole inflammatoire rouge au niveau du point de piqûre de la tique rappelant l'érythème migrant (GARIN *et al.*, 1922). Au cours des années suivantes, quelques études ont également décrit l'érythème migrant. En 1951, Hollström démontre l'efficacité de la pénicilline contre les érythèmes décrits précédemment (HOLLSTRÖM, 1951).

L'étude de la maladie se poursuit aux Etats-Unis dans les années 1970, avec la première description sur le continent américain de l'érythème migrant observé sur un patient à la suite d'une piqûre de tique (SCRIMENTI, 1970). Puis, en 1977, le rhumatologue Allen Steere attire l'attention sur une épidémie d'arthrites qui touche particulièrement les enfants du comté de Lyme dans le Connecticut aux Etats-Unis, d'où la maladie tire son nom (STEERE *et al.*, 1977). Dans 25 % des cas, une lésion inflammatoire est observée à la surface de la peau, quatre mois en moyenne avant de développer une arthrite, faisant ainsi penser à une piqûre d'insecte. La transmission de la maladie par un vecteur (arthropode) est alors évoquée. En 1978, cette même équipe propose la tique *Ixodes scapularis* comme vecteur de cette maladie (STEERE *et al.*, 1978).

Quelques années plus tard, W. Burgdorfer met en évidence la présence de spirochètes dans l'intestin de tiques *Ixodes dammini* (également appelées *I. scapularis*) récoltées dans une zone endémique de la maladie de Lyme (BURGDORFER *et al.*, 1982). Il suggère le lien entre cette bactérie et la maladie de Lyme après observation de l'apparition d'érythèmes migrants sur des lapins 10 à 12 semaines après les avoir mis au contact de tiques infectées. Cette bactérie est identifiée comme étant une nouvelle espèce de *Borrelia* par Johnson *et al.* et sera baptisée *Borrelia burgdorferi* (JOHNSON *et al.*, 1984a, 1984b).

II. TAXONOMIE

Les Spirochètes sont divisés en deux grandes familles : les *Spirochaetaceae* et les *Leptospiraceae* ; elles même divisées en 6 genres répartis comme suit :

- famille des *Spirochaetaceae*: les genres *Spirochaeta*, *Critispira*, *Treponema* et *Borrelia*,
- famille des *Leptospiraceae*: les genres *Leptospira* et *Leptonema* (GARRITY et al., 2004).

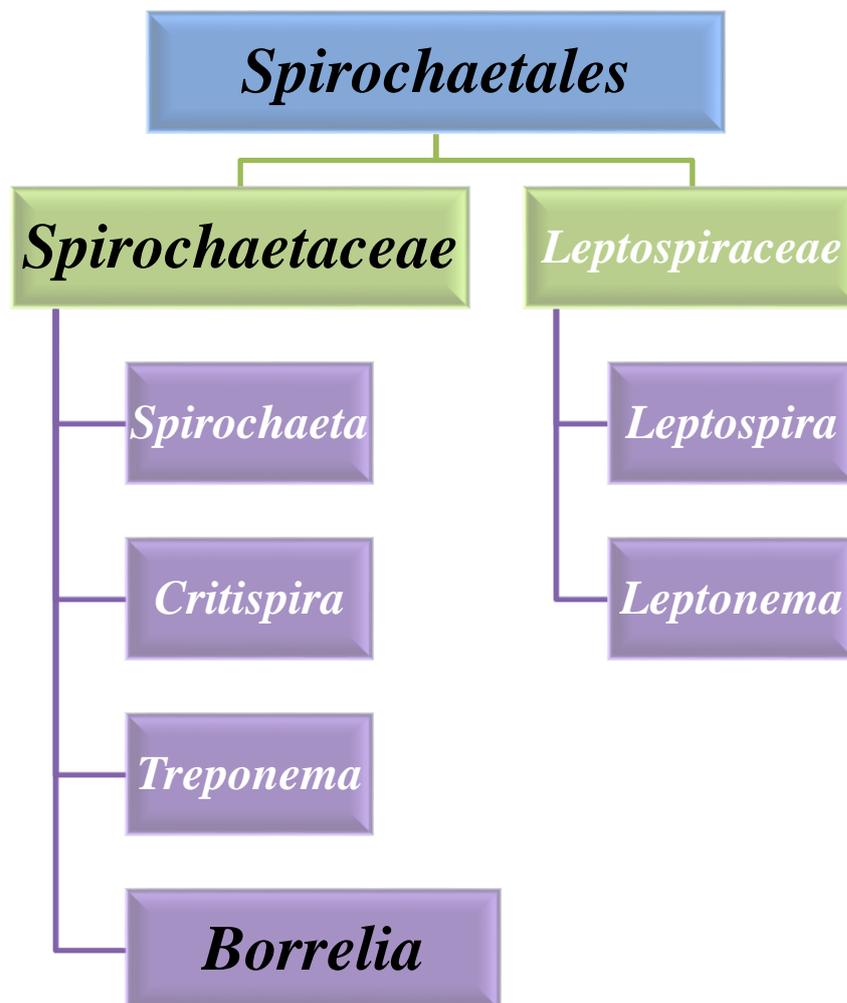


Figure 01: arbre phylogénique des *Spirochaetales* (GARRITY et al., 2004)..

1. Le complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* :

Au sein du genre *Borrelia*, deux groupes de bactéries se distinguent : les bactéries responsables de la maladie de Lyme transmises par les tiques *Ixodidae*, regroupées dans le complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato*, et les bactéries responsables des fièvres récurrentes transmises par les poux, certaines tiques *Ornithodoros* et *Ixodes scapularis*.

La taxonomie des *Borrelia* associées à la maladie de Lyme a profondément évolué, contrairement à celles associées aux fièvres récurrentes.

Le complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* comprend 19 espèces, décrites au cours de ces trente dernières années. La première souche découverte aux Etats-Unis a pris la dénomination *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, et les autres souches ont été incluses dans le complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Tableau 01). Parmi ces espèces, seules trois ont été confirmées comme agent principal pathogène de la maladie de Lyme : *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* et *B. afzelii*.

D'autres espèces, détectées dans des cas isolés de la maladie, présentent un caractère pathogène potentiel : *B. bavariensis*, *B. spielmanii*, *B. lusitaniae*, *B. valaisiana*, *B. bissettii*, *B. finlandensis*, *B. kurtenbachii* (RUDENKO *et al.*, 2011 ; STANEK *et al.*, 2011a ; MANNELLI *et al.*, 2012)

Tableau 01 : les espèces appartenant au complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* (DEGEILH B., 2003), (MOUGEOT I., 2000), (SMITH M. et al., 1997).

	Répartition géographique	Principaux arthropodes vecteurs	Pouvoir pathogène
<i>Borrelia afzelii</i>	Europe, Asie.	<i>Ixodes persulcatus</i> (Asie), <i>Ixodes ricinus</i> (Europe).	Borreliose de Lyme. <i>Borrelia afzelii</i> est l'espèce quasi exclusivement responsable des lésions cutanées tardives de l'acrodermatite chronique atrophiante.
<i>Borrelia andersonii</i>	Amérique du Nord.	<i>Ixodes dentatus</i> .	Non pathogène.
<i>Borrelia bissetti</i>	Amérique du Nord.	<i>Ixodes pacificus</i> , <i>Ixodes scapularis</i> , <i>Ixodes spinipalpis</i> ,	Non pathogène.
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Europe, U.S.A.	<i>Ixodes pacificus</i> (U.S.A.), <i>Ixodes ricinus</i> (Europe), <i>Ixodes scapularis</i> (U.S.A.), <i>Ixodes uriae</i> (Suède).	Borreliose de Lyme. <i>Borrelia burgdorferi</i> est principalement, mais non exclusivement, responsable d'arthrites.
<i>Borrelia garinii</i>	Europe, Asie.	<i>Ixodes persulcatus</i> (Asie), <i>Ixodes ricinus</i> (Europe).	Borreliose de Lyme. <i>Borrelia garinii</i> est préférentiellement retrouvée à l'origine des manifestations neurologiques. Cette espèce est la plus fréquente en Europe, où la borreliose de Lyme a surtout une traduction neurologique.
<i>Borrelia japonica</i>	Japon.	<i>Ixodes ovatus</i> .	Non pathogène.
<i>Borrelia lusitaniae</i>	Europe, Afrique du Nord.	<i>Ixodes ricinus</i> .	Pouvoir pathogène non prouvé (une souche a cependant été isolée d'un patient atteint d'une infection chronique de la peau).
<i>Borrelia sinica</i>	Chine.	<i>Ixodes ovatus</i> .	Non pathogène.
<i>Borrelia spielmanii</i>	Europe	<i>Ixodes ricinus</i>	Borreliose de Lyme (infections cutanées).
<i>Borrelia tanukii</i>	Japon.	<i>Ixodes tanuki</i> .	Non pathogène.
<i>Borrelia turdi</i>	Japon.	<i>Ixodes turdi</i> .	Non pathogène.
<i>Borrelia valaisiana</i>	Europe, Chine, Corée, Taiwan, Japon.	<i>Ixodes columnae</i> (Asie), <i>Ixodes nipponensis</i> (Asie), <i>Ixodes ricinus</i> (Europe).	Pouvoir pathogène non prouvé.

III. MORPHOLOGIE ET STRUCTURE

Les spirochètes sont des bactéries extrêmement mobiles, de forme hélicoïdale et possèdent une morphologie caractéristique comprenant un cylindre protoplasmique, des flagelles, un espace péri-plasmique et une membrane externe (ROSA *et al.*, 2005). Le cylindre protoplasmique central est entouré par l'espace péri-plasmique. Dans cet espace, délimité par la membrane externe, se trouve une dizaine de flagelles (BARBOUR *et al.*, 1986), ancrés dans la membrane cytoplasmique en leurs extrémités et enroulés autour du cylindre protoplasmique. Ce sont ces flagelles qui confèrent à la bactérie sa forme particulière spiralée et sa forte mobilité (ROSA *et al.*, 2005).

La longueur des bactéries varie de 8 μm (*B. coriacea*) à 30 μm (*B. burgdorferi* sensu lato) et la largeur varie entre 0,2 μm (*B. burgdorferi* sl) et 0,5 μm (*B. recurrentis* et *B. persica*) (BARBOUR *et al.*, 1986).

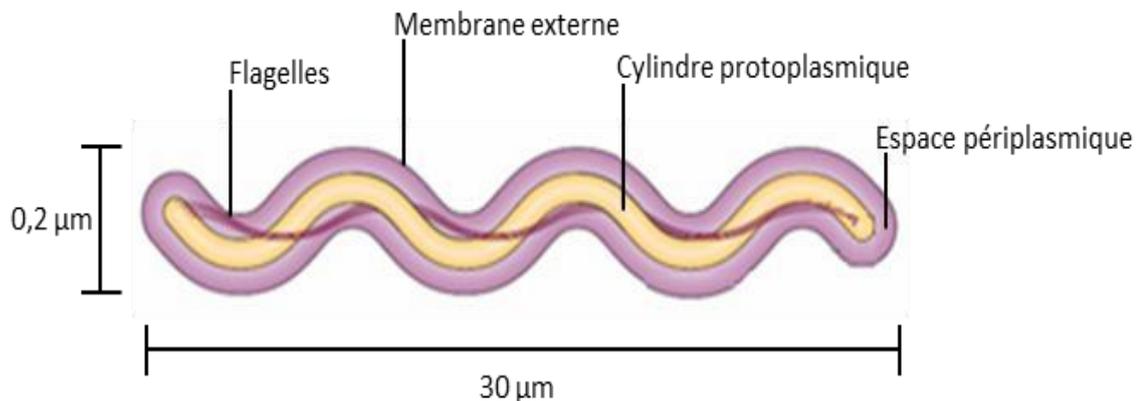


Figure 02 : morphologie de *Borrelia burgdorferi* (Rosa *et al.*, 2005).

De l'extérieur vers l'intérieur on trouve :

1. La couche amorphe

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

2. L'enveloppe externe

Sa structure présente une apparenté avec celle des bactéries GRAM négatif.

Elle représente 16,5 % du poids sec de la bactérie. Elle est composée de : 46 à 50% de protéines, 33 à 51% de lipides et 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 (EUZEBY, 1989).

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).

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).

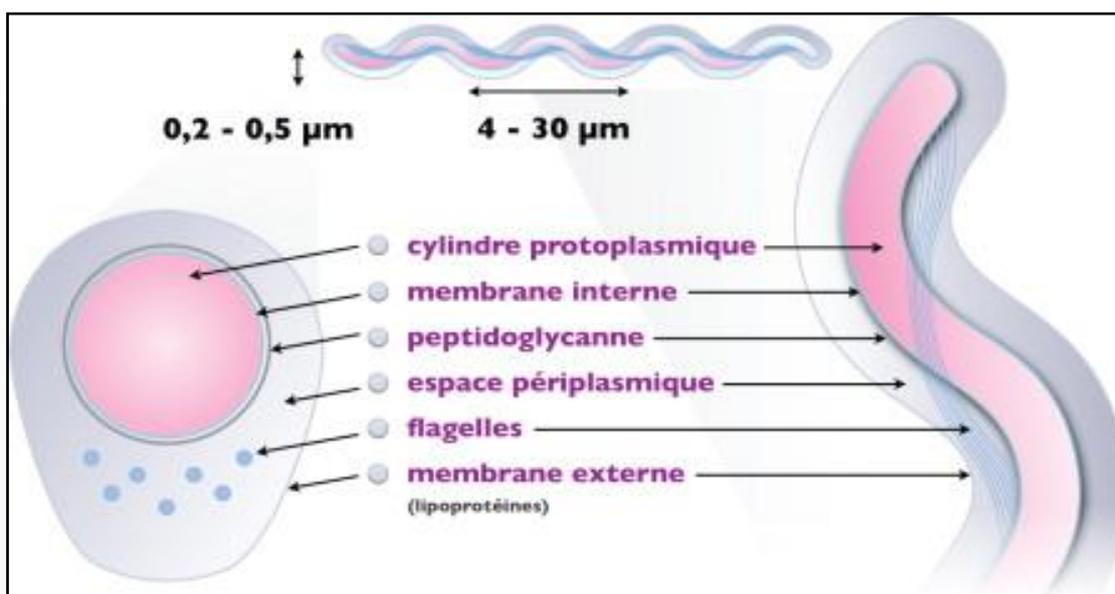


Figure 03 : structure de *Borrelia burgdorferi*.

IV. CULTURE ET METABOLISME

Les *Borrelia* sont des bactéries micro-aérophiles, elles sont dépourvues de catalase et de peroxydase mais possèdent un super-oxyde-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 (EUZEBY, 1989), (POSTIC et BARANTON, 2000).

On ajoute aussi dans leurs milieux :

- de l'albumine (blanc d'œuf coagulé ou de l'albumine sérique)
- du sérum de lapin pour apporter des acides gras (saturés ou insaturés). 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.

V. FACTEURS DE VIRULENCE

1. Les protéines de surface (outer surface protein)

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., 2000).

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 G. et al., 1992)

La protéine OspC

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

Les anticorps anti-OspC apparaissent précocement dans la réponse sérologique contre *Borrelia burgdorferi*.

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 TT., 1994).

La protéine OspF

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

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).

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).

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.

VI. ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE DE LA MALADIE

1. Répartition géographique

La répartition des cas de maladie de Lyme dans le monde est en relation étroite avec la localisation géographique des tiques du genre *Ixodes*, 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 (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.

2. Espèces affectées

La maladie a été décrite chez l'homme et les mammifères domestiques en particulier le chien, les équidés et les ruminants (ovins et bovins), rarement le chat (EUZEBY JP., 1989), (SMITH M., et al., 1997).

De nombreuses autres espèces peuvent être porteuses mais sans développer de signes cliniques : des mammifères (petits rongeurs, ongulés, carnivores...), des oiseaux ou même des lézards qui ont un rôle épidémiologique de réservoir.

3. Vecteur : classification, habitat, cycle

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 *Acariens*. 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).

La famille des *Ixodidae* est la plus importante au vu du nombre d'espèces comprises et de leur importance médicale et vétérinaire (RUDENKO N., al., 2011).

Vu qu'*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.

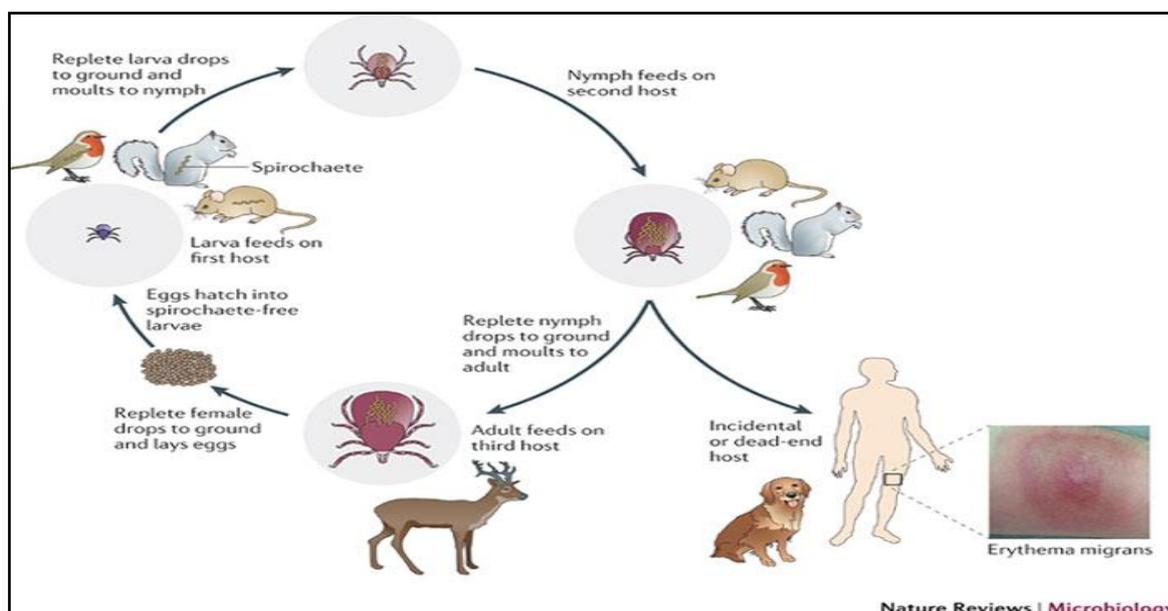


Figure 04 : cycle enzootique de la Borréliose de Lyme.

4. Importance

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

Dans l'hémisphère sud, le nombre d'études sur la maladie de Lyme est assez faible en comparaison à celui de l'hémisphère nord, mais augmente depuis une quinzaine d'années, notamment au Brésil (MANTOVANI *et al.*, 2007 ; SANTOS *et al.*, 2010) ou en Australie (STORER *et al.*, 2003 ; MAYNE, 2011).

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).

VII. ETUDE CLINIQUE DE LA MALADIE DE LYME

1. 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.

Lors de la **deuxième phase** le malade peut exprimer des symptômes neurologiques, on parle alors de neuro-borréliose. 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 *Borrelia 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).

2. Chez les bovins

Il existe peu de cas bien documentés de la maladie de Lyme chez les bovins. En effet, la maladie est souvent subclinique (donc le diagnostic se fait à posteriori par sérologie), mais surtout, les symptômes sont peu évocateurs et on peut facilement imaginer qu'ils échappent à beaucoup de

praticiens. Enfin, l'évolution assez longue de la maladie fait que les vaches sont souvent réformées avant l'arrivée des symptômes chroniques.

Première observation :

C'est Burgess qui, le premier, a fait le lien entre une boiterie chez un bovin et une infection par *Borrelia burgdorferi*. Ce bovin présentait de graves lésions du carpe et du tarse. L'infection a été mise en évidence par des titres en anticorps élevés dans le sérum, le lait et le liquide synovial mais aussi par immunofluorescence sur des coupes de foie et de poumon (BURGESS EC. et al., 1987).

Symptômes généraux :

L'infection entraîne chez les bovins de l'hyperthermie (MAILLARD R. et BOULOUIS HJ., 2003) (PARKER JL., WHITE KK., 1992), de l'asthénie et de l'anorexie associée à une perte de poids chronique (ROTHWELL JT. Et al., 1989), (TRAP D., 1990).

Chez certains animaux, la maladie semble évoluer dans le temps, de la même façon que chez l'homme, c'est-à-dire qu'un premier pic d'hyperthermie signalerait la dissémination des spirochètes dans l'organisme. Ce pic serait associé à une baisse de production brutale.

Ces premiers signes peuvent faire l'objet d'une visite du vétérinaire mais sont peu révélateurs de l'infection.

Viennent alors les signes articulaires qui marquent l'atteinte chronique des bovins et qui s'accompagnent alors de fatigue et d'anorexie. Il n'existe pas de données concernant le délai entre la contamination et les premiers signes articulaires.

Une tentative d'infection expérimentale de bovins par injection de *Borrelia* (par voie sous-cutanée ou intraveineuse) n'a pas permis de mettre en évidence de signes cliniques (TUOMI J. et al., 1998).

Signes articulaires :

Les signes articulaires semblent être un signe d'appel important de la maladie de Lyme chez les bovins. Comme chez l'Homme, les grosses articulations sont plus souvent touchées, à savoir : le carpe, le grasset, le tarse et la hanche (ROTHWELL JT. Et al., 1989), (TRAP D., 1990).

L'articulation est alors chaude, gonflée et douloureuse, ceci pouvant durer plusieurs semaines en l'absence de traitement. Plusieurs articulations peuvent être touchées en même temps ou successivement. Les nœuds lymphatiques concernés sont eux aussi gonflés et oedématiés (KEITA A. , 1994), (ROTHWELL JT. Et al., 1989).

Les lésions décrites sont celles d'arthrites avec un liquide synovial abondant, épais, et de couleur rouge à ambré (BURGESS EC. et al., 1987). La membrane synoviale est épaissie avec une prolifération villositaire et de nombreux débris nécrotiques et de fibrine sont présents.

L'histologie montre une infiltration par des lymphocytes, des neutrophiles et des éosinophiles de la membrane synoviale. On retrouve ces cellules dans le liquide synovial (ROTHWELL JT. Et al., 1989), (TRAP D., 1990).

Une vasculite fibrineuse et un léger œdème peuvent être observés. Les gaines tendineuses adjacentes sont également enflammées. Les lésions du cartilage (en particulier du collagène) entraînent des arthrites récurrentes et invalidantes pour les animaux, qui peuvent même conduire à l'euthanasie de l'animal à la suite de la dégradation de l'état général. Des cas de fourbures ont été décrits (PARKER JL., WHITE KK., 1992).

Les signes d'une maladie poly-systémique :

On peut également observer des œdèmes de la mamelle ou des parties distales des membres (Particulièrement dans les espaces inter-digités). Une diarrhée d'intensité variable est signalée (ROTHWELL JT. et al., 1989).

Des foyers de myocardite et de pneumonie interstitielle ont été décrits (TRAP D., 1990).

Une glomérulonéphrite membrano-proliférative et une dégénérescence de l'épithélium tubulaire sont observées (ceci constitue chez le chien un des signes majeurs) (TRAP D., 1990).

Les signes cutanés semblent occuper une place bien moindre à celle prise chez l'Homme.

On signale tout de même, sur un bovin du Wisconsin, un cas d'atrophie du tissu sous-cutané qui rappelle l'ACA (BURGESS EC., 1987). Une étude en Suisse (LISCHER CJ. et al., 2000) a montré la présence d'une manifestation proche de l'ECM chez une vache et se traduisant par un érythème, de la chaleur, un gonflement et une hyper sensibilité en partie ventrale de la mamelle. Ces signes ont disparu en 2 à 3 semaines laissant des croûtes noires cicatricielles. Un autre cas d'érythème de la mamelle, avec des lésions croûteuses à l'extrémité des trayons a été observé en Mayenne (KAUFMANN P. et al., 2003).

Des troubles de la reproduction sont mentionnés tels que des avortements, de la mortinatalité, et des naissances de veaux débiles ns (PARKER JL., WHITE KK., 2003), (TRAP D., 1990).

La transmission trans- placentaire et colostrale a été prouvée (TRAP D., 1990).

Aucun signe nerveux n'a été décrit chez les bovins alors qu'ils existent chez les équins (PARKER JL., WHITE KK., 2003).

De même, les affections oculaires fréquentes chez les chevaux sont absentes chez les bovins.

Il manque encore trop de données pour pouvoir faire un tableau clinique précis d'autant que certains signes déjà subtils chez l'Homme sont d'un diagnostic difficile chez les bovins.

D'autre part, les différences entre les infections à *Borrelia burgdorferi sensu stricto* et les autres espèces impliquées notamment en Europe, ont été largement étudiées chez l'Homme mais pour l'instant aucune étude ne les met en valeur chez les bovins.



**Figure 05 : arthrite de Lyme chez un veau
(GOURREAU JM., 2000)**



**Figure 06: arthrite avec hypertrophie
du tarse (GOURREAU JM., 2000)**



Figure 07 : lésions croûteuses à l'extrémité des trayons (KAUFMANN P. et al., 2003)

VIII. 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.

1. Le diagnostic biologique

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.

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 aient 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.)

Les 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.

Recherche de *Borrelia* par les méthodes directes

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, œil) ou superficiels (peau, surtout chez l'homme).

✚ 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.

✚ L'immunofluorescence directe

En 1986-1987, Burgess et ses collaborateurs 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.

✚ 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.

La recherche de *Borrelia* par culture

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*.

Mise en culture de divers prélèvements

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

L'amplification génique La PCR Polymérase 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 *Borrelia 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.

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.

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 bovin, la possibilité de faux positifs en IFI.

Cette technique a permis de nombreux diagnostics de maladie de Lyme chez le cheval et le bovin. En effet, Burgess a mis en évidence par immunofluorescence indirecte, des anticorps *anti-Borrelia 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 08 : *Borrelia burgdorferi* en immunofluorescence indirecte positive (ASSOUS MV., 2005)

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. 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.

Western-blot

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

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.

2. Le diagnostic clinique

Le diagnostic clinique est assez difficile, voir impossible. La grande diversité des symptômes ou leur absence fait que la maladie est souvent sous diagnostiquée (PARKER JL., WHITE KK., 1992). Les critères cliniques principalement utilisés sont (TAKAHASHI K. et al., 1993) :

- des signes généraux : hyperthermie, abattement, anorexie, chute de production, Ceux si sont peu spécifiques mais ils peuvent devenir de valeur diagnostique si l'épisode est suivi :
- de signes articulaires : boiterie, arthrite des grosses articulations,
- d'autres signes mineurs : avortement, lésions cutanées, œdème mammaire....

Donc, dorénavant, la maladie de Lyme doit intervenir dans le diagnostic différentiel des manifestations articulaires, des uvéites bilatérales. L'apparition soudaine d'une boiterie avec oligoarthrite migrante est à considérer comme un signe clinique caractéristique mais non pathognomonique (PARKER JL., WHITE KK., 1992). 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.

3. Diagnostic épidémiologique

Des critères épidémiologiques sont évidemment pris en compte comme par exemple : l'exposition aux tiques, la saison, la localisation de l'animal en zone d'endémie ou non (TAKAHASHI K. et al., 1993)

L'anamnèse évoque généralement un bovin 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 bovin malade risque de ne plus se trouver dans la région où il a été contaminé.

IX. TRAITEMENT

1. Chez l'homme

Un traitement précoce permet en général une guérison rapide et complète. Cette précocité est particulièrement importante dans le cas de la maladie de Lyme de par les conséquences du passage à la chronicité.

Antibiotiques utilisés :

Les antibiotiques les plus utilisés sont : les pénicillines, l'amoxicilline, les céphalosporines, les macrolides et les tétracyclines (en particulier la doxycycline)

- La doxycycline n'est pas administrée aux femmes enceintes ni aux enfants de moins de 9 ans à cause de ses effets secondaires sur le développement. De plus elle possède aussi un effet photo-sensibilisant (donc est à éviter l'été) et de nombreuses interactions médicamenteuses.
- Les bêta-lactamines présentent une demi-vie relativement courte, et ont donc le désavantage de nécessiter des administrations fréquentes. Par ailleurs, il existe de nombreux cas d'allergie à la pénicilline, qui sont traités à l'aide d'érythromycine.
- Les macrolides ont une très bonne pénétration (notamment intracellulaire pour les formes résistantes) et une demi-vie assez longue. Par contre, ils provoquent des intolérances digestives et des interactions médicamenteuses (BIGAIGNON G. et al., 1996).

Afin d'éviter les administrations répétées, notamment par voie intraveineuse, on peut pratiquer une antibiothérapie pulsée c'est-à-dire en doublant les doses mais avec des administrations 2 à 3 fois par semaines seulement, ce qui est souvent efficace, moins traumatisant, et moins cher pour le patient (BURRASCANO JJ., 1998).

Choix du traitement :

Le choix du traitement se fait en fonction du stade auquel on intervient.

- **Immédiatement après la morsure de tique** : il est inutile de procéder à un traitement antibiotique préventif comme il a pu être suggéré auparavant. Sauf dans les cas particuliers de personnes sensibles ou situées dans des zones d'endémie (SIBILIA J., 2002). Une étude

comparative avec placebo a montré que l'utilisation d'antibiotiques n'a aucun intérêt en prophylaxie suite à une morsure (MARASPIN V., 2002).

- **Dès l'apparition des symptômes cutanés** : on recommande l'administration biquotidienne par voie orale de doxycycline à raison de 100mg par prise pendant 15 jours. Une étude récente a montré que la durée pourrait être abaissée à 10 jours (WORMSER GP. et al., 2003). Chez l'enfant ou la femme enceinte on privilégie l'amoxicilline par voie orale à raison de 50 mg/kg/j en 3 prises quotidiennes et ce pendant 15 à 21 jours. On peut également utiliser le céfuroxime axetil (500 mg *per os* deux fois par jours) pendant seulement 10 jours s'il n'y a qu'un érythème migrant. Enfin, les macrolides peuvent être administrés de manière biquotidienne à raison de 500mg/j pendant 15 à 21 jours. La disparition des symptômes doit avoir lieu dans les 20 à 30 jours suivant le début du traitement (WORMSER GP. et al., 2003).
- **Au second stade** : (qui correspond à la dissémination des spirochètes, c'est-à-dire entre autre aux signes articulaires et neurologiques précoces) on peut envisager un traitement identique mais prolongé pendant 30 jours. En cas de non-rémission ou aggravation des symptômes, on utilise par voie IV de la pénicilline ou une céphalosporine de 3^{ème} génération (WORMSER GP. et al., 2003). Ces molécules présentent une bonne diffusion au niveau articulaire et dans le système nerveux central. On utilise le même traitement dans les formes cardiaques ou oculaires.
- **Dans les formes chroniques** : on utilise les céphalosporines principalement, par voie IV et pendant un temps assez long. Cependant, alors que certains proposent un traitement s'étalant sur 6 mois à 1 an. Une étude menée par le NIAID (KLEMPNER MS. *et al.*, 2001) a montré que l'administration d'antibiotiques sur de longues durées pour les cas chroniques n'apportait aucune amélioration aux patients.
- **Des cas réfractaires au traitement** : ou encore avec rémission puis rechutes périodiques existent. Dans ces cas, il est souvent utile d'évaluer les compétences immunitaires du patient ou les coinfections possibles. Pour les manifestations du syndrome post-Lyme il n'y a pas de thérapeutique connue (STEERE AC. et al., 2001).

Immédiatement après le début du traitement, dans les heures suivant l'injection, on observe une phase d'aggravation transitoire des symptômes, connue sous le nom de réaction de Jarisch-Herxheimer, que l'on explique comme une réaction inflammatoire suivant la lyse des spirochètes. Une injection de corticostéroïdes en complément de la première injection permet d'éviter cette réaction qui régresse spontanément en 1 à 2 jours.

Hormis dans ce cas, l'efficacité des anti-inflammatoires stéroïdiens (par voie parentérale ou intra-articulaire) n'est pas prouvée (MOUGEOT I., 2000).

2. Chez le bovin

Le manque de données nous amène à calquer les traitements sur ceux destinés à l'Homme.

Chez les bovins on utilise principalement les tétracyclines et la pénicilline car leur coût est moins élevé (MOUGEOT I., 2000).

On utilise plutôt l'oxytétracycline par voie intraveineuse à la posologie de 10 mg/kg/j.

La durée du traitement est fonction de l'amélioration de l'état de l'animal et varie de 3 jours à 3 semaines. Quant à la pénicilline, elle est utilisée sous forme procaïne à raison de 30.000 à 45.000 UI/kg/j en IM pendant 10 jours, suivie d'injections de benzathine pénicilline en IM pendant 10 jours (RADOSTITS OM. Et al., 2000).

Les tétracyclines sont à éviter sur les jeunes animaux et les vaches gestantes ou en lactation, mais sont tout de même utilisés. Aucune réaction de type Jarisch-Herxheimer n'a été décrite chez les bovins. Par comparaison avec la symptomatologie humaine, elle se traduirait par une hyperthermie, une augmentation du gonflement articulaire et de la douleur pendant les 24 premières heures du traitement. De ce fait, cette réaction a peut-être lieu chez les bovins mais ne peut être mise en évidence du fait de symptômes frustes.

La prescription d'anti-inflammatoires peut améliorer le confort de l'animal (LISCHER CJ., et al., 2000).

Le traitement de la borréliose de Lyme peut donc s'alourdir très rapidement et la durée des protocoles engendre un coût non négligeable, que se soit chez l'Homme ou chez l'animal. Ainsi la prophylaxie s'impose d'elle-même, pour intervenir en amont de la maladie.

X. PROPHYLAXIE

La prévention passe par des mesures indirectes de lutte contre le vecteur appelées prophylaxie sanitaire et des mesures directes de lutte contre l'infection ou prophylaxie médicale.

1. Prophylaxie sanitaire :

Informer :

La sensibilisation de la population qui passe par l'information sur la maladie est la première étape. C'est l'étape la plus importante et elle s'est beaucoup développée tant aux Etats-Unis qu'en Europe.

La lutte contre les tiques

Dans le milieu, la lutte pose des problèmes écologiques, de par l'abondance et la répartition large des tiques dans des milieux d'accès difficiles. L'épandage d'acaricides dans les pâturages donne de bons résultats mais on s'expose à des risques de résistance. A proximité des jardins et des pâtures, on peut débroussailler, tondre régulièrement la pelouse et ramasser les feuilles mais l'effet reste limité.

La lutte contre les tiques peut aussi s'effectuer au niveau des réservoirs ou des animaux domestiques. L'utilisation de colliers ou d'insecticides en spot-on (pyréthrinoïdes, organophosphorés) permet de limiter l'infestation chez le chien. Chez les bovins également, on peut utiliser les antiparasitaires externes comme les organochlorés, la fluméthrine ou les avermectines.

La dispersion d'appâts pour les rongeurs dans des boîtes dont les parois sont imprégnées d'acaricides ou encore de coton imbibés qui serviront à réaliser leur nid ont été essayées.

Cependant, ces techniques restent limitées car elles sont onéreuses, ont une faible rémanence et des conséquences non négligeables sur l'environnement.

L'inspection visuelle associée au retrait des tiques :

Il est important de contrôler son propre corps et celui des enfants après chaque sortie. En effet, les tiques ne sautent pas mais rampent jusqu'à la pointe des herbes puis s'accrochent au passage de l'hôte et enfin migrent sur les vêtements. Les sites de prédilection sont la tête, le cou, l'arrière du genou et des chevilles, mais également les orteils, les oreilles et au niveau des aisselles et de l'aîne. De même il faut contrôler le corps des animaux domestiques.

Pour retirer une tique il suffit de la saisir (avec les doigts ou à l'aide des crochets prévus à cet effet : Tire-Tic ®, Crochet O'Tom ® à la base du corps, c'est-à-dire là où elle est attachée, et tourner doucement dans le sens inverse des aiguilles d'une montre (« en dévissant ») sans tirer dessus. Ceci va permettre de décrocher les pièces buccales et donc de ne pas laisser la tête en place. Ensuite il faut désinfecter le site de la morsure et mettre la tique dans de l'alcool pour la tuer. Une morsure est infectante à partir de 24 à 48h, ceci laisse donc le temps de la retirer.



Figure 09 : tire tiques.

2. Prophylaxie médicale

Chez l'homme

Seul le vaccin LYMERix de Smithkline Beecham a obtenu une autorisation de mise sur le marché en 1998 (MOUGEOT I., 2000). Mais il a été retiré du commerce en février 2002. Les recherches d'un nouveau vaccin sont toujours en cours.

Chez les animaux

Il existe un vaccin chez le chien, appelé MERILYM®, contenant une souche française de *Borrelia burgdorferi sensu stricto* inactivée et adjuvée par de l'hydroxyde d'aluminium, dont l'efficacité et l'innocuité ont été prouvés (MOUGEOT I., 2000).

Chez le cheval, des essais concluants ont été réalisés aux Etats-Unis avec vaccin recombinant de la protéine OspA. (CHANG Y. et al., 2000). Mais aucun vaccin n'est commercialisé à ce jour.

Chez les bovins, aucune publication à ce jour n'est disponible sur ce sujet.

PARTIE02 : Etude Expérimentale

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I. OBJECTIFS DE L'ETUDE

Cette étude a pour objectif de :

- définir le pourcentage de l'infection simultanée par *Brucella spp.* , *Bartonella bovis* et *Borrelia burgdorferi sensu lato* en utilisant la technique d'IFI;
- déterminer si le facteur de risque « race » est associé à l'infection simultanée par ces trois bactéries.

II. MATERIEL ET METHODE

1. Nature des prélèvements

Les sérums que nous avons étudiés nous ont été remis par l'INMV. Ces prélèvements ont été réalisés lors d'une campagne nationale du dépistage de la brucellose dans la région d'Alger. Tous les sérums analysés été positifs à la brucellose en utilisant l'épreuve du Rose Bengale et la technique de fixation du complément. Ce mêmes sérums ont été analysé par la technique d'IFI pour la recherche de *Bartonella spp.* (Projet de fin d'études).

Il s'agit donc de sérums de bovins, femelles, âgés de 24mois et plus, séropositifs à *Brucella spp.* et *Bartonella bovis*.

2. Matériel utilisé



Figure 10: matériel utilisé dans la technique d'immunofluorescence indirecte.

- Petits tubes stériles (5ml).
- Porte tubes.
- Portoir en verre.
- Verrerie propre rincée à l'eau distillée
- Trois micropipettes (20 μ l), (100 μ l) et (1000 μ l).

- Embouts de pipettes en plastique.
- Vortex.
- Agitateur magnétique.
- Boîte d'incubation humidifiée.
- Incubateur réglé à 37°.
- Eau distillée.
- BPS : phosphate buffer saline (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France).
- Lames d'IFI commerciales MegaScreen FLUO BORRELIA (*Borrelia burgdorferi sensu lato* antigens).
- Bleu d'Evans (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France).
- Conjugué (anti-IgG de bovin –Jackson ImmunoResearch, USA).
- Fluoprep (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France).
- Lamelles en verre (24×60mm).

Les 16 sérums ont été analysés afin de rechercher des anticorps dirigés contre *Borrelia burgdorferi sensu lato*, en utilisant des lames d'IFI commerciales MegaScreen FLUO BORRELIA (*Borrelia burgdorferi sensu lato* antigens) (Figure 11).



Figure 11: lames utilisées en IFI.

3. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été saisis et traités avec un système de gestion de base de données (Microsoft Excel 2007).

Les prévalences calculées ont été estimées à 95% d'intervalle de confiance (IC 95%).Le facteur de risque « race » a été étudié avec le teste classique « Fisher exact ».

4. Analyse des prélèvements par l'IFI (Immunofluorescence indirecte)

Principe et avantages de l'IFI : (voir figure)

Il s'agit de la technique de référence pour la mise en évidence des anticorps est l'immunofluorescence indirecte.

Elle consiste à mettre en présence le sérum à tester et une préparation cellulaire, fixée sur une lame, présentant les antigènes potentiellement reconnus par les auto-anticorps (dirigés contre *Borrelia burgdorferi sensu lato* dans notre cas). Les auto-anticorps fixés spécifiquement sur les antigènes présentés sont révélés par fixation d'autres anticorps couplés à un fluorochrome (Ac anti AC). Les lames sont ensuite lues au microscope dont la lampe excite le fluorochrome qui émet à son tour une fluorescence.

Les anticorps recherchés présentent différents sites de fixation qui permettent à plusieurs anticorps marqués de se fixer, ce qui augmente ainsi l'intensité lumineuse et facilite la lecture.

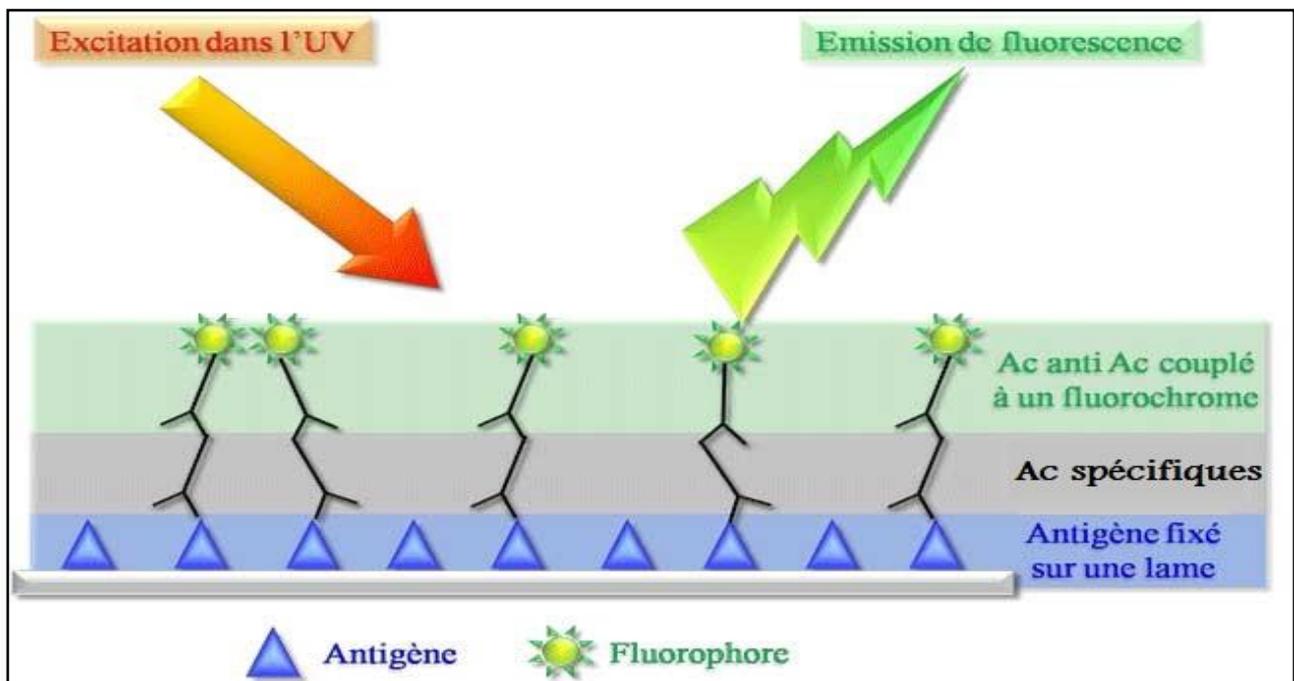


Figure 12: principe de la technique d'immunofluorescence indirecte.

Technique

Les sérums ont été décongelés à température ambiante. Une homogénéisation au vortex a été réalisée pour chaque tube avant de prélever le sérum pour effectuer la dilution.

Le criblage des sérums a été réalisé à la dilution du 1/50 (10 μ L de sérum dans 490 μ L de PBS).

25 μ l du sérum dilué ont ensuite été déposés sur chaque puits des lames.

Les lames ont été incubées une première fois, 30 minutes à 37°C sous atmosphère humide.

Nous avons sorti les lames, aspiré le sérum à l'aide d'une micropipette puis nous avons procédé à un rinçage de 10 minutes dans du PBS à l'aide d'un agitateur magnétique.

Les lames ont été séchées. Le conjugué (anti-IgG de bovin –Jackson ImmunoResearch, USA), dilué au 50^{ème}, a été préparé à partir d'une solution de bleu d'Evans dans du PBS.

25 μ l de ce conjugué dilué ont été déposés dans chaque puits des lames.

Ces dernières ont été incubées une seconde fois à 37°C sous atmosphère humide pendant 30 minutes et ont ensuite subi un autre rinçage de 10 minutes dans du BPS. Puis, elles ont été séchées et enfin, le montage des lames a été réalisé.

Les lames ont été lues au microscope à fluorescence.

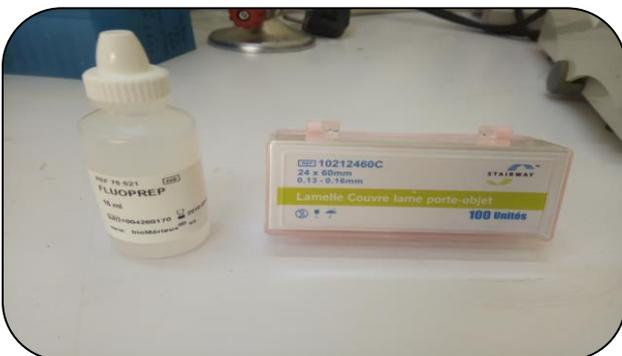
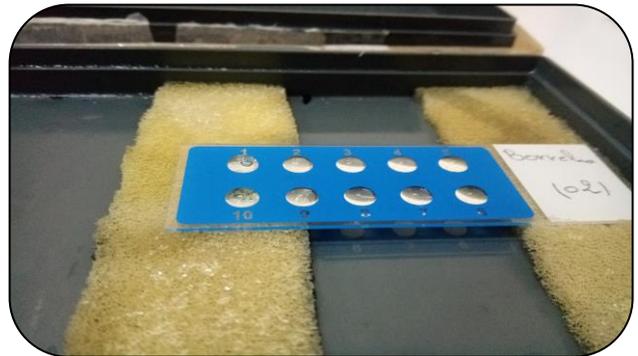


Figure 13, 14, 15, 16 : préparation des lames d'immunofluorescence indirecte.

Lecture des lames

La lecture des lames a été réalisée à l'Institut Pasteur d'Algérie.

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 ci-dessous.

Tableau 02 : barème de lectures 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 03: interprétation des résultats de la lame 01.

Numéro du puits	Interprétation	Numéro du puits	Interprétation
01	+++	06	++
02	++	07	+++
03	+++	08	+++
04	+	09	0
05	++++	10	++++

Tableau 04 : interprétation des résultats de la lame 02.

Numéro du puits	Interprétation	Numéro du puits	Interprétation
01	0	04	++
02	+	05	0
03	+++	06	++

CHAPITRE II : RESULTATS

I. DESCRIPTION DE LA POPULATION BOVINE ETUDIEE

Au cours de cette étude, 16 sérums de bovins femelles âgées de 24 mois et plus provenant de la région d'Alger ont été testés.

Tableau 05 : classification des bovins selon la race.

Race	Nombre de bovins
Montbéliarde	8 (50 %)
Holstein	3 (19 %)
Croisée	5 (31 %)
Total	16

II. SEROPREVALENCE DE BORRELIA BURGDOFFERI SENSU LATO ET SEROPREVALENCE DE L'ASSOCIATION BACTERIENNE BRUCELLA SPP., BARTONELLA BOVIS ET BORRELIA BURGDOFFERI SENSU LATO

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 16 sérums **68,75% (11)** se sont révélés positifs et **31,25% (5)** se sont révélés négatifs.

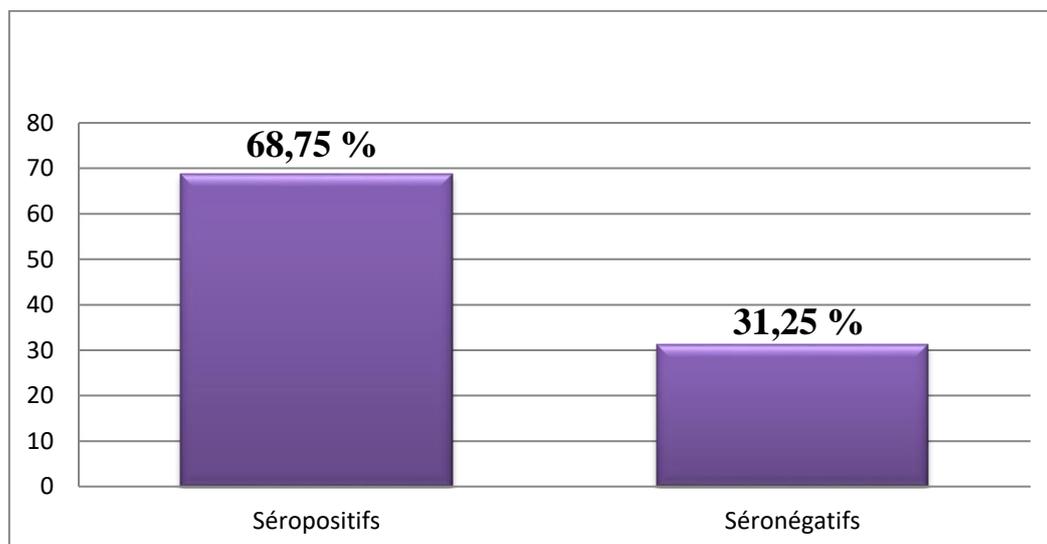


Figure 17: séroprévalence globale de l'infection par *Borrelia burgdorferi sensu lato*

III. LA SEROPREVALENCE DES BOVINS EN FONCTION DE LEUR RACE

Nos résultats montrent que parmi les femelles testées, les Montbéliardes sont les plus exposées à l'infection par *Borrelia burgdorferi sensu lato* et à l'infection simultanée par *Brucella spp.*, *Bartonella bovis* et *Borrelia burgdorferi sensu lato* contrairement aux femelles Holstein ou aux femelles de races croisées avec une séroprévalence respective de **87,5%** et une séroprévalence par rapport à la totalité du lot testé de **43,75%**.

Tableau 06 : séroprévalence de l'infection par *Borrelia burgdorferi sensu lato* en fonction de la race.

RACE	BORRELIA BURGENDORFERI SENSU LATO +	BORRELIA BURGENDORFERI SENSU LATO -	SEROPREVALENCE PAR RAPPORT A LA RACE	SEROPREVALENCE PAR RAPPORT AU TOTAL
MONTBELIARDE	7	1	87,5 %	43,75 %
HOLSTEIN	1	2	33,33 %	6,25 %
CROISEE	3	2	60 %	18,75 %

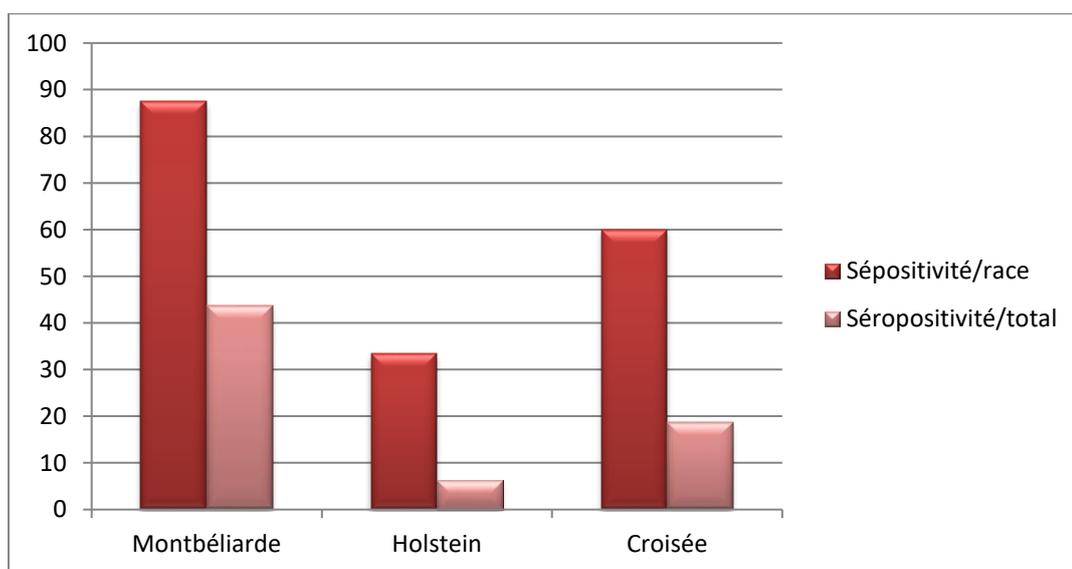


Figure 18 : séroprévalence de l'infection par *Borrelia burgdorferi* en fonction de la race

IV. RESULTAT DE L'ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique en utilisant le test « Fisher exact » a montré une valeur de $P = 0,246\dots$ qui est largement supérieure à 0.05, ce qui signifie que, statistiquement parlant il n'y a pas d'association significative entre la séropositivité de l'infection par *Borrelia burgdorferi sensu lato* et la race.

CHAPITRE III :
DISCUSSION
ET CONCLUSION

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 (humain), il est souvent à base d'antibiotiques associés 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.

Pour les bovins, 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 piqûres de tiques.

Au terme de ce travail, nous avons pu conclure que les bovins, femelles, âgés de 24 mois et plus et provenant de la région d'Alger (séropositives à la brucellose et à la bartonellose) ont déjà été en contact avec *Borrelia burgdorferi sensu lato* avec un taux de séroprévalence de **68,75%**. La séroprévalence obtenue n'est pas associée à la race.

Le taux élevé de l'infection simultanée par ces trois pathogènes peut s'expliquer par le fait que *Brucella spp.* entraînerait une immunodéficience favorisant la colonisation par *Bartonella spp.* ainsi que par *Borrelia spp.* et que ces deux pathogènes soient transmis par les tiques.

Il est évident qu'une étude plus approfondie, sur un échantillonnage plus large, est nécessaire pour confirmer ou infirmer cette hypothèse. 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.

CHAPITRE IV :

PERSPECTIVES

Notre travail pose un certain nombre de questions et nécessite des confirmations qui pourront faire l'objet de travaux ultérieurs :

- d'une part, la confirmation des études sérologiques chez les bovins nécessite de rechercher par biologie moléculaire la présence de *Brucella spp.* , de *Bartonella bovis* et de *Borrelia burgdorferi sensu lato* dans le sang ;
- si cette recherche s'avérait positive, le typage des souches de *Brucella*, de *Bartonella bovis* et de *Borrelia burgdorferi sensu lato* serait intéressant dans l'optique de statuer sur leur caractère zoonotique ;
- en parallèle, des études expérimentales devraient viser à mieux comprendre les relations entre ces trois agents infectieux et les facteurs favorisant la coïnfection.

Références bibliographiques

- AFZELIUS, A. (1921). Erythema chronicum migrans. Acta Derm. Venereol. 2, 120–125.
- 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* sp nov., and group VS 461 associated with Lyme borreliosis, *Intern. J. Systematic Bacteriol.*, 1992, 42, 378-383
- BERGEY, CANALE-PAROLA E., KELLY RT : The spirochetes, *In : Bergey's manual of systematic bacteriology*, Baltimore: Williams and Wilkins, 1984, 38-70
- BIGAIGNON G., VAN BAMBEKE F., NINANE J.: La maladie de Lyme : pour une approche diagnostique et thérapeutique rationnelle, *In : Séminaire de pathologie infectieuse de l'UCL*, [http://www.md.ucl.ac.be/infect/lyme/lyme_texte.htm],
- BURGESS EC., GENDRON-FITZPATRICK A., WRIGHT WO.: Arthritis and systemic disease caused by *Borrelia burgdorferi* infection in a cow, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1987, 191, 1468-1470
- BURRASCANO jr JJ.: The new Lyme disease : diagnostic hints and treatment guidelines for tick-borne illnesses [en ligne], 1998, [<http://www.lymenet.org/>],
- CHANG Y., NOVOSOL V., MCDONOUGH SP., CHANG CF., JACOBSON RH., DIVERS T., QUIMBY FW., SHIN S., LEIN DH.: Vaccination against lyme disease with recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface protein A (rOspA) in horses, *Vaccine*, 1999, **18**, 540-548
- COHEN N, HECK FC, HEIM B et al. Séroprévalence 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.

- DEGEILH B. : La borréliose de Lyme chez l'homme, *In : Rickettsioses-Zoonoses et autres Arbo-Bactérioses-Zoonoses*, Colloque européen francophone, Ploufragan, 2003.
- 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.
- GARRITY GM., BELL JA., LIBURN TG.: Taxonomic outline of the prokaryotic genera Bergey's manual® of systematic bacteriology, 2nd ed. [en ligne].
- GOURREAU JM. : La maladie de Lyme , *In : Maladie des bovins, Institut de l'élevage*, 3^{ème} ed., Paris : édition france agricole, 2000, 114-115
- 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.
- HOLLSTRÖM, E. (1951). Successful treatment of erythema migrans Afzelius. *Acta Derm. Venereol.* 31, 235–243.
- 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., Hyde, F.W., Rumpel, C.M. (1984a). Taxonomy of the Lyme disease spirochetes. *Yale J. Biol. Med.* 57, 529–537.
- JOHNSON, R.C., Schmid, G.P., Hyde, F.W., Steigerwalt, A.G., Brenner, D.J. (1984b). *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: Etiologic Agent of Lyme Disease. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34, 496–497.

- KAUFMANN P., GOURREAU JM., JONCOUR G., BOULOUIS HJ. : Ehrlichiose, borréliose de Lyme et staphylococcie, *Bull. GTV*, 2003 (sept), **21**, 72
- 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.
- KLEMPNER MS. *et al.* : Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease, *N. England J. Med.*, 2001, **345**, 85-92
- 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
- LINDGREN E, JAENSON TGT (2006). *Lyme borreliosis in Europe : influences of climate ans climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures*. Copenhagen: World Health Organisation Regional Office for Europe. 34 p. ISBN 92-890-2291-4
- LIPSCHÜTZ, B. (1913). Über eine seltene Erythemform (Erythema chronicum migrans). *Arch. Dermatol. Res.* *118*, 349–356.
- LISCHER CJ., LEUTENEGGER CM., BRAUN U., LUTZ H. : Diagnosis of Lyme disease in two cows by the detection of *Borrelia burgdorferi* DNA, *Vet. Rec.*, 2000, **146**,497-499
- Lyme disease network, [en ligne], [[http://www.lymenet .org/](http://www.lymenet.org/)]
- 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.
- MAILLARD R., BOULOUIS HJ. :Maladie de Lyme chez les bovins, *In : Rickettsioses-Zoonoses et autres Arbo-Bactérioses-Zoonoses*, Colloque européen francophone, Ploufragan, 2003, 5-6

- MARASPIN V., LOTRIC-FURLAN S., STRLE F. : Developpement of *erythema migrans* in spite of treatment with antibiotics after after a tick bite, *Wien. Klin. Wochenschr.*, 2002, **114**, 616-619
- MONTEIL H., JAULHAC B., PIEMONT Y. : La maladie de Lyme et infections à *Borrelia burgdorferi* en Europe, *Ann. Biol. Clin.*, 1989, **47**, 428-437
- MOUGEOT I. : *La borreliose de Lyme*, Thèse Méd. Vét., Nantes, 2000, n°039, 67p., 2-4
- 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
- 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*, Paris : Ed. ESKA, 2000, 1521-1531.
- RADOSTITS OM., GAY CC., BLOOD DC., HINCHCLIFF KW : Borreliosis (Lyme borreliosis, Lyme disease), *In : Veterinary medicine – A textbook of the diseases of Cattle, sheep, pigs, goats and horses*, 9th Ed., London : WB. SAUNDERS Compagny Ltd, 2000, 994-996
- 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.
- Rosa, P.A., Tilly, K., Stewart, P.E. (2005). The burgeoning molecular genetics of the Lyme disease spirochaete. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 129–143.
- ROTHWELL JT., CHRISTIE BM., WILLIAMS C., WALKER KH. : Suspected Lyme disease in a cow, *Aust. Vet. J.*, 1989, **66**, 296-298

- RUDENKO, N., Golovchenko, M., Grubhoffer, L., Oliver, J.H., Jr., 2011. *Borreliacarolinensis* sp. nov., a novel species of the *Borreliaburgdorferisensulato* complex isolated from rodents and a tick from the south-eastern USA. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61, 381- 383.
- SIBILIA J., JAULHAC B., LIMBACH FX. : Les manifestations rhumatologiques de la borréliose de Lyme, *Rév. Méd. Int.*, 2002, **23**, 378-385
- SMITH M., GRAY J., GRANTROM M., REVIE C., GETTINBY G.: EUCALB, [en ligne], 1997.
- STEERE AC., GROSS D., MEYER AL., HUBER BT. : Autoimmune mechanisms in antibiotic treatment-resistant lyme arthritis, *J. Autoimmun.*, 2001, **16**, 263-268
- SCRIMENTI, R.J. (1970). Erythema chronicum migrans. *Arch. Dermatol.* 102, 104–105.
- TAKAHASHI K., ISOGAI E., ISOGAI H., TAKAGI T., SASAKI K., FUJII N., KIMURA K. : Serological survey for *Borrelia burgdorferi* infection in cattle in southern Hokkaido, *J. Vet. Med. Sci.*, 1993, **55**, 921-924
- TRAP D. : Aspects cliniques et épidémiologiques de la maladie de Lyme chez les bovins, *Bull. Soc. Vét. Prat. (Fr)*, mai 1990, **74**, 283-296
- TUOMI J., RANTAMAKI LK., TANSKANEN R. : Experimental infection of cattle with several *Borrelia burgdorferi sensu lato* strains ; immunological heterogeneity of strains as revealed in serological tests, *Vet. Microbiol.*, 1998, **60**, 27-43
- WILSKE B., PREAC-MURSIC V., GOBEL UB., GRAF B., JAURIS S. et al. : An OspA serotyping system for *Borrelia burgdorferi* based on reactivity with monoclonal antibodies and OspA sequence analysis, *J. Clin. Microbiol.*, 1993, **31**, 340-350
- WORMSER GP., RAMANATHAN R., NOWAKOWSKI J., MCKENNA D., HOLMGREN D., VISINTAINER P., DORNBUSH R., SINGH B., NADELMAN RB. : Duration of Antibiotic Therapy for Early Lyme Disease. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial, *Ann. Int. Med.*, 2003, **138**, 697-704

- ZELTZMANN P. La maladie de Lyme. Action vétérinaire, 1992, **1250**, 14-17.
- <http://www.livescience.com/18704-oldest-case-lyme-disease-spotted-iceman-mummy.html>.
- <http://www.naturo-lyme.com/maladie-de-lyme-definition/historique-de-la-borreliose/>.

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 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 tels que les chevaux et les chiens.

Afin de déterminer les risques 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 lieu les différentes méthodes de diagnostic de l'infection.

L'objectif principal de cette étude a été d'évaluer la possible infection simultanée par *Brucella spp.*, *Bartonella bovis* et *Borrelia burgdorferi sensu lato*. chez 16 bovins, femelles, âgés de 24 mois et plus, séropositifs à la brucellose et à la bartonellose, provenant de la région d'Alger, et de voir si le facteur « race » peut influencer cette association bactérienne.

A l'issue de cette étude, nous avons conclu que les bovins étudiés ont déjà été en contact avec *Borrelia burgdorferi sensu lato* avec un taux de séroprévalence de **68,75%** et que la séroprévalence obtenue n'est pas associée à la race.

Mots clés : Borreliose, *Borrelia burgdorferi*, Lyme, Brucellose, Bartonellose, tiques, bovin, IFI.

Abstract:

"Lyme disease" is an infectious vector disease of bacterial origin, caused by bacteria of the genus *Borrelia*, which themselves are part of the "spirochete" family. Borreliosis is usually transmitted during a bite by ticks that must carry the bacteria.

The disease is present in Algeria in humans and other domestic mammals such as horses and dogs.

In order to determine the risk of contracting this disease, it will firstly be necessary to know the activity and way of life of the ticks (season, habitat, etc.) and secondly the different methods of diagnosing the infection.

The main objective of this study was to evaluate the possible simultaneous infection with *Brucella spp.*, *Bartonella bovis* and *Borrelia burgdorferi sensu lato*. in 16 cattle, females, aged 24 months and over, seropositive to brucellosis and bartonellosis and to see if the "breed" factor can influence this bacterial association.

At the end of this study, we concluded that the cattle studied have already been in contact with *Borrelia burgdorferi sensu lato* with a séroprévalence of 68.75% and that the seroprevalence obtained is not associated with the breed.

Key words: Borreliosis, *Borrelia burgdorferi*, Lyme, Brucellosis, Bartonellosis, ticks, cattle, IFI

ملخص

يعتبر مرض لايم مرضا بكتيريا معديا تسببه بكتيريا البوريليا *Borrelia* التي تنتمي بذاتها الى عائلة اللوليبات . هذا المرض ينطور في فترة طويلة ويمكن أن يؤثر على مختلف الأجهزة والأنظمة في الجسد. وعادة ما تنتقل Borreliose خلال لدغة من المفصليات هيموفاجوس الحاملة للبكتيريا. هذا المرض موجود في الجزائر عند البشر والثدييات المحلية الأخرى مثل الخيول والكلاب.

لتحديد مخاطر الإصابة بهذا المرض يتوجب علينا أولا التعرف على نشاط و نمط عيش القراد (الموسم و ...) و ثانيا على المناهج و الطرق المختلفة لتشخيص العدوى.

ان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم احتمال الإصابة في وقت واحد ب *Brucella spp.*, *Bartonella bovis*, *Borrelia burgdorferi* عند 16 بقرة، اللواتي تتراوح أعمارهن بين 24 شهرا و أكثر، من منطقة الجزائر و معرفة ما إذا كان "العرق" عامل يمكن أن يؤثر على هذه الجمعية البكتيرية و هذا باستعمال تقنية المناعة الغير المباشرة.

أظهر تحليل النتائج المصلية أن اتصال الماشية ب: *Borrelia burgdorferi* قد تم بالفعل بالمعنى الواسع بمعدل 68.75%. هذا الانتشار المصلي المتحصل عليه لا يرتبط مع العرق.

كلمات البحث: داء البورليات، بوريليا، لايم، الحمى المالطية، داء البرتونيلات، القراد، الأبقار، تقنية المناعة الغير المباشرة.