

« CELEBRITY » de Woody Allen .



**STRATEGIES DANS LE DIAGNOSTIC
BIOLOGIQUE DE LA BORRELIOSE DE
LYME
FACE AUX CAPACITES DE
CAMOUFLAGE DES BORRELIES.**

**Conférence Lyme 7- 8 juin 2014
Palais des Congrès Strasbourg**

-I- HISTORIQUE

- Les **Borrélioses humaines** sont déjà connues d'**Hippocrate**, (460-377 avant J.C.)
- En 1843, à Edimbourg où se produit une épidémie de borrélioses individualisées par Craigie et Henderson sous le nom de « **fièvres récurrentes** ».
- En 1868, Obermeier décrit l'**agent pathogène**.
- **Agents vecteurs** , poux puis tiques sont identifiés
- En 1919, à Strasbourg, **Amédé Borrel**, médecin bactériologue met au point un procédé de **coloration** des B. pour les rendre visibles, d'où le nom de « **BORRELIA** ».
- Les **Borrélios** appartiennent à la famille des **spirochètes pathogènes** pour l'homme incluant les **Leptospires** et les **Tréponèmes**.

Les Borrélioses commencent en Europe pour se poursuivre en Amérique.

En Europe:

Fin 19^{ème} et 1^{ère} moitié du xxème siècle, on évoque:

- **L'Acrodermatite Chronique Atrophiante (Allemagne)**
- **L'Erythème Migrant (Suède) Afzellius**
- **Le Lymphocytome Cutané Bénin**

considérés comme 3 syndromes totalement indépendants les uns des autres, mais où la responsabilité des tiques est clairement évoquée.

Après 1950 :

- **des lésions cutanées érythémateuses,**
 - **des atteintes neurologiques,**
- dues à des tiques, sont décrites.**

En Amérique:

- **1969: La borréliose est révélée aux USA, suite à une écloison en foyer , à Lyme(Connecticut) provoquant une **épidémie de polyarthrites** chez de jeunes enfants.**
- **1975 : Le vecteur responsable, la **tique**, est identifié.**
- **1982 : Willy Burgdorfer isole des **spirochètes** « Borrelia burgdorferi », dans l'intestin des tiques.**
- **Il met en présence ces spirochètes et le sang des enfants : une forte **agglutination** prouve que les AG de cette bactérie sont reconnus par les Ac présents dans le sérum des enfants.**
- **1983 : le « New England journal of Medicine » baptise cette « **nouvelle maladie** », « MALADIE DE LYME ».**

-II- CYCLE DES TIQUES

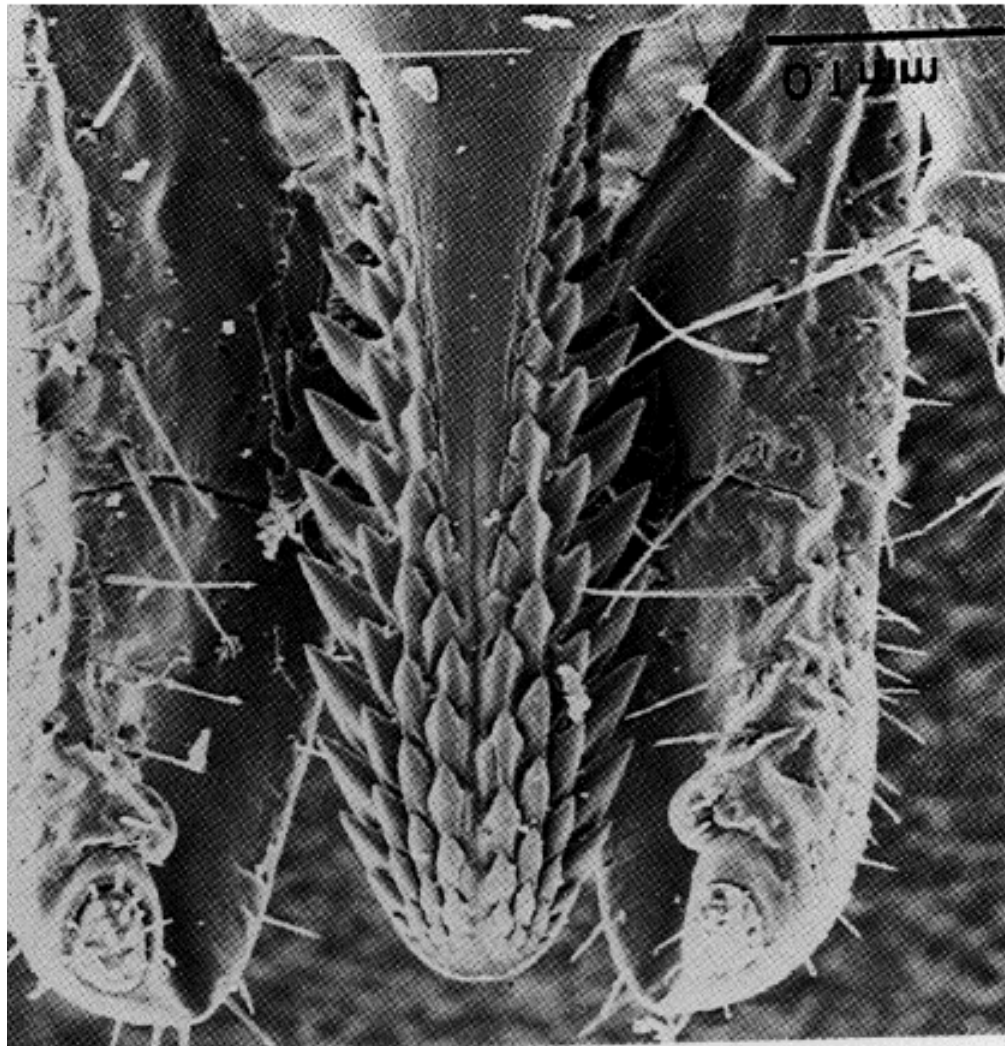
A) TROIS STADES:

1) **LARVES** : se fixent sur des **petits rongeurs** insectivores pour leurs repas sanguins.

2) **NYMPHES** : se fixent sur les **petits mammifères** ou les **oiseaux**. 80% des piqûres de tiques = dues aux nymphes.

3) **ADULTES FEMELLES** ayant besoin de sang pour leurs pontes, elles se fixent sur :

- **cervidés**
- **suidés** (sangliers)
- **bovidés**
- **canidés...**



Rostre d'une tique adulte femelle

B) ROLE DE CHAQUE HOTE :

1) Les **tiques** sont les **VECTEURS** de la borréliose.

2) L'**homme** est un **HOTE** accidentel .

3) Les **grands mammifères** (gros gibier) sont

- maillon essentiel indispensable au stade adulte, assure la densité importante en tiques: rôle de **RESERVOIRS**.

- chez ces animaux sauvages, tous les intermédiaires existent entre le portage sain et les pathologies vraies.

- les mammifères sauvages sont beaucoup plus résistants que les mammifères domestiques.

4) Les **oiseaux** ont un rôle de **PROPAGATEURS**.

Les B. s'adaptent aux animaux à sang froid (reptile, batraciens) et aux animaux à sang chauds (mammifères)

-III- Clinique et physiopathologie

A) ORIGINALITE DE LA Maladie De Lyme :

- 1) La MDL est une « grande imitatrice » de multiples pathologies .**
- 2) Ce polymorphisme de la MDL entraine un grand flou pour le médecin face aux formes cliniques très variées.**
- 3) Nombreuses localisations des Borrélias qui peuvent atteindre tous les tissus: peau, muscles, os, cartilage/organes: reins, foie, rate, poumons, yeux, cerveau...**
- 4) Les Borrélias sont des pathogènes tissulaires, l'infection progresse dans les tissus par contiguïté, et non en empruntant le torrent circulatoire ou lymphatique.**

B) Différence entre l'Europe et l'Amérique

Borrélioses européennes

Dues à:

- **B. afzelli**
- **B. garinii**
- **B. spielmanii**
- **B. burgdorferi**
- **B. bavariensis**
- **B. recurrentis**
- **B. duttoni**
- **B. hermsii**
- **B. lusitaniae**
- **B. valaisianae**
- **B. bissetti**
- **(B. miyamotoi)....**

Borréliose américaine

Due à:

- **B. burgdorferi s.s (95%)**
- **(B. miyamotoi)**

Borrélioses européennes 1

a) Infections précoces localisées/neurologiques:

- **E M = érythème migrant.**
- **Symptômes généraux: céphalée, myalgie, fatigue, t°,...**
- **Polyradiculonévrites, avec + tard paralysie faciale.**
- **Arthralgies migratrices.**
- **Troubles cardiaques sur cœur sain/arythmie,tachycard.**
- **Atteintes oculaires...**

Borrélioses européennes 2

b) Infections précoces disséminées:

- **Lymphocytome cutané bénin**(mamelon, lobe oreille, scrotum).
- **Douleurs migrantes et transitoires**.
- **Cardiomyopathies**(baisse de puissance contractile).
- **Arthrites des grosses articulations**:
genou, cheville, épaule, coude, poignet.

Borrélioses européennes 3

c) Infections tardives persistantes:

- **Fibromyalgie.**
- **Acrodermatite Chronique Atrophiante (ACA)** = lésion érythémateuse et atrophique de la peau surtout des mbr inf.
- **Arthrite, périostite.**
- **Kératite, rétinite, conjonctivite, hépatite, orchite...**
- **Neuroborréliose tardive: fatigue chr. /dépression/ tr.psy.**
- **Polyneuropathie démyélinisante (SEP, Parkinson, SLA Alzheimer).**

Borréliose Nord-américaine

Due à *Borrelia burgdorferi* stricto sensu.

- **Multiples érythèmes annulaires migrants** (dissémination cutanée septicémique de l'infection).
- **Grande fréquence de complications rhumatologiques = polyarthrites.**
- **Grande fréquence de manifestations cardiaques** (notamment bloc auriculo-ventriculaire).
- **Survenue + rare qu'en Europe des lésions neurologiques, lymphocytomes cutanés, ACA.**

-IV- PROPRIETES DES BORRELIES :

-1- MORPHOLOGIE:

- Les borrelia ont un **corps cylindrique, souple, flexueux**: enroulé hélicoïdalement dans l'espace, présentant env. 3 à 12 spires irrégulières peu serrées, peu profondes.
- Ont 1 longueur de 0,3 à 40 um, 1 diamètre de 0,2 à 1 um.
- Il existe des **formes de dégénérescence** : granules, vésicules ou sphères:
- La **souplesse**, l'**élasticité** et la **fragilité** de l'**enveloppe** externe conduisent à des **décollements** + ou – localisés de celle-ci. On observe un **granule** lorsque le décollement est limité, une **vésicule** si celui-ci concerne une partie + importante de l'enveloppe. Le décollement peut être total, et dans ce cas, on observe un **sphéroïde**.

PROPRIETES DES BORRELIES:

-2- ULTRASTRUCTURE:

- Le germe est entouré d'une **enveloppe** souple, peu résistante, épaisse, constituée de **lipopolysaccharides**.
- Le cylindre cytoplasmique est lui-même enveloppé d'une **membrane** dite pariéto-**cytoplasmique** ayant à sa face externe un **peptidoglycane** + rigide.
- Le cytoplasme des B. contient des **mésosomes**, des **granules**, un **matériel nucléaire** dépourvu de membrane. Il ne contient pas de mitochondries.
- Entre la membrane entourant le cytoplasme et l'enveloppe externe court l'**organe locomoteur**=flagelle

-2- ULTRASTRUCTURE (bis):

- Le flagelle est constitué de **2 faisceaux de fibrilles**, **implantés** dans le cytoplasme par leur **extrémité distale**, libres et **se chevauchant** dans la partie médiane du germe, lui donnant sa structure et sa mobilité.
- Le mouvement des B. est complexe et très efficace.
- B.burgdorferi contient **853 gènes** lui conférant des propriétés exceptionnelles.
- La multiplication se fait par **division transversale**, en 2 à 48 h. La division de l'enveloppe peut s'effectuer moins vite que celle du cylindre protoplasmique: on observe alors des formes très longues (20 à 100 um de longueur)

-3- CARACTERES BIOCHIMIQUES:

- Les B. sont riches en lipides. Ces **lipides** sont des facteurs **essentiels pour leur croissance**: ce sont des A.Gras à longues chaînes saturées et insaturées.
- L'énergie est fournie par la **fermentation des sucres**, notamment le glucose (B.recurrentis, B.hermsii, ...)
- Les B. = **micro-aérophiles**, mais l'O₂ n'a pas d'effet toxique sur elles.
- Un constituant **lipopolysaccharidique** à activité d'endotoxine a été isolé de B. burgdorferi. Il est mitogénique pour les lymphocytes humains, cytotoxiques pour les macrophages.
- B.duttonii contient 1 **glycérophosphate-déshydrogénase**, que ne possède pas la B. hermsii. Comme cette enzyme assure l'échange des composés tricarbonés entre le métabolisme des sucres et celui des lipides, on comprend que certaines espèces, aux possibilités physiologiques plus étendues, soient plus résistantes.

-4- VARIABILITE ANTIGENIQUE:

- Lorsqu'un organisme supérieur est infesté par une B. il développe des Ac, dont l'apparition coïncide avec une rémission clinique. Survient ensuite une 2^{ème} attaque au cours de laquelle on isole une **souche possédant** le plus souvent des **Ag différents** de la **souche initiale**. Cette variabilité semble une qualité intrinsèque des B. Puisqu'après inoculation à l'animal d'un germe unique, on peut observer l'apparition de **nombreux variants**. Le nombre de types Agiques possibles semblent limité et seulement certains d'entre eux paraissent **stables**. D'autres peuvent subir des modifications **réverses**.
- Supports et mécanismes de cette variabilité Agique :
Deux **protéines majeures** ont été mee chez B. hermsii qui possèdent des petites **parties constantes** et des parties **hypervariables**. Les modifications Agiques ont été corrélées aux réarrangements observés au niveau génétique (tromper l'hôte).



-5- EXCEPTIONNELLE MOBILITE:

- **La mobilité et la finesse des B. leurs permettent de traverser tous les tissus, y compris les os, le cartilage, toutes les parois, en particulier les vaisseaux,**

3 sortes de mouvements: translation, rotation, flexion.

- **Ce sont les bactéries les + mobiles, les + rapides, qui distancent facilement les macrophages.**
- **Cette motilité est le mieux perçue au microscope fond noir, mais peut être rapidement perdue si les conditions du milieu d'observation ne sont pas favorables.**

-6-LOCALISATION TISSULAIRE:

- Principalement dans les tissus profonds, permettant d'échapper le + possible aux AB, aux AC**
- **Affectionnent particulièrement les milieux visqueux: chambre de l'œil, liquide synovial.**

-7- PLASMIDES DE RESISTANCE:

Permettent de transmettre aux autres Borrélias des gènes leur conférant une résistance par rapport aux Abio.

-8- SURVIE DANS DES CONDITIONS HOSTILES:

-Conservées en sang défibriné à -70°C, les Borrélias restent vivantes et infectieuses pendant des années.

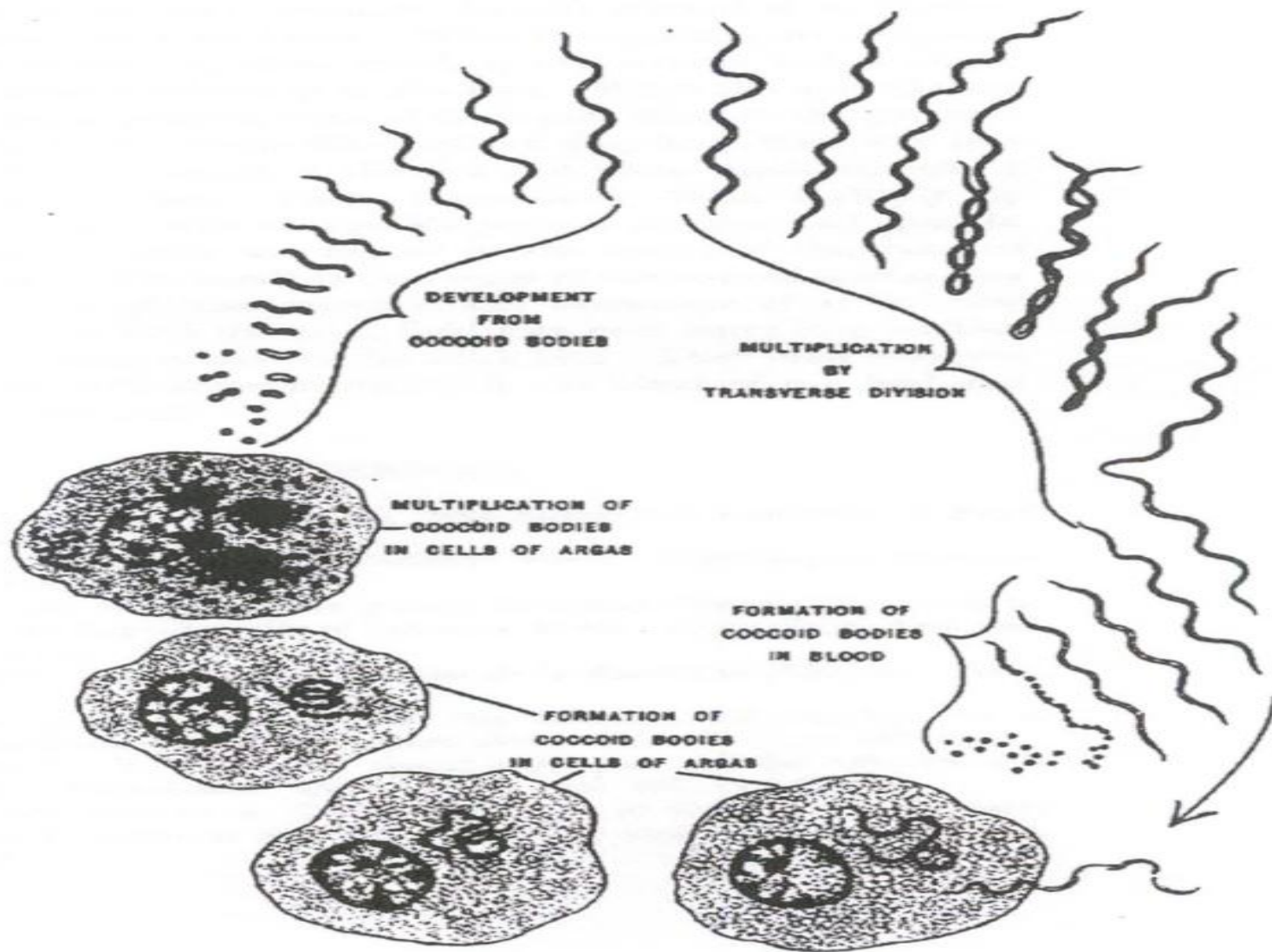
-Les scientifiques ont cherché la nature des membranes des bulles naturellement élaborées sur la surface des B. burgdorferi, et trouvé l'ADN linéaire et circulaire: ces découvertes confirment le développement de membranes dérivant de kystes, de bulles, de sphérules, de vésicules, et leur transformation potentielle en spirochètes hélicoïdaux mobiles, comme « un mécanisme de survie » des spirochètes pour surmonter ou échapper à des conditions défavorables.

-9- FACULTE DE CAMOUFLAGE:

-adhèrent à des protéines du tissu environnant, ne pouvant plus être reconnues comme étrangères par le SI,

-se cachent dans les tissus mal irrigués comme les tendons, ligaments, tissu conjonctif.

Entraine l'absence de stratégie de défense humorale de l'hôte: aucun Ag n'est présenté aux lymphocytes.



Dispersion des corps coccoides de taille $0,3 \mu\text{m}$ par rapport aux $30 \mu\text{m}$ du spirochète initial .

Régénération des spirochètes à partir des corps coccoides.

-10- Facultés « d'évitement » :

Face à : Abio/ S I , les B. ont un jeu de camouflage ss f.

- de **kystes**, se couvrent d'1 capsule transparente mucoïde qui résiste à la pénétration des mdts/ Ac, leur permettant de survivre des semaines, des années, sans réaction de la part de l'hôte, pour resurgir ss f. de spirochètes spiralés mobiles (guérison illusoire!).

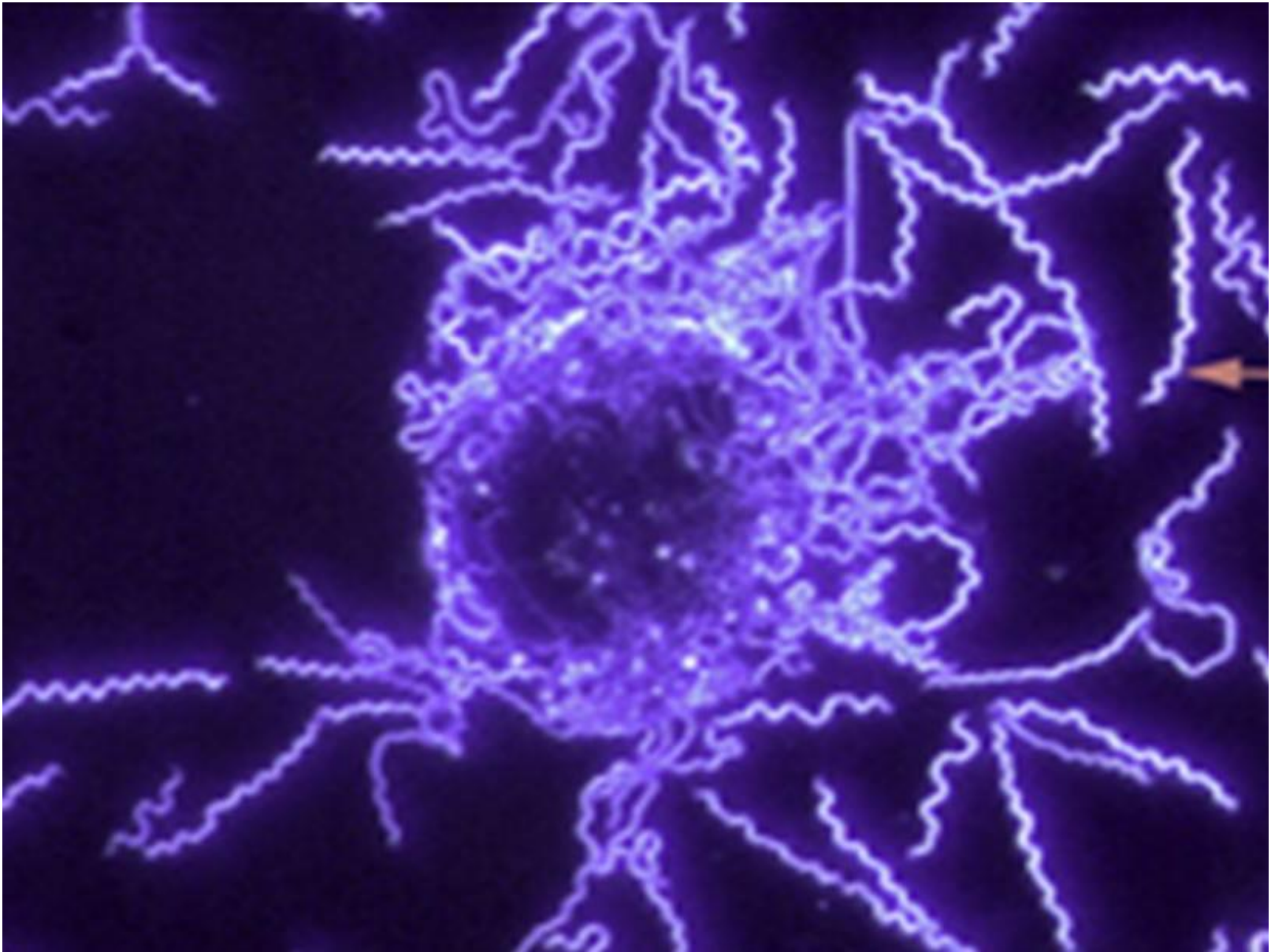
- de **granules**, ou **corps coccoïdes** qui s'échappent dans le milieu environnant quand le spirochète paraît se rompre à 1 extrémité, laissant derrière lui 1 enveloppe vide/ dans certains cas, toute la mbr cellulaire semble se scinder/désintégrer avant l'échappement des corps coccoïdes/ mais le résultat est le même: libération de petites granules rondes, ou corps ovoïdes (0,1 à 0,3 um).

- Ces corps coccoïdes peuvent être présents quand les spirochètes proprement dit ne peuvent être détectés.

- de **sphéroplast**, ou **corps sphériques**,

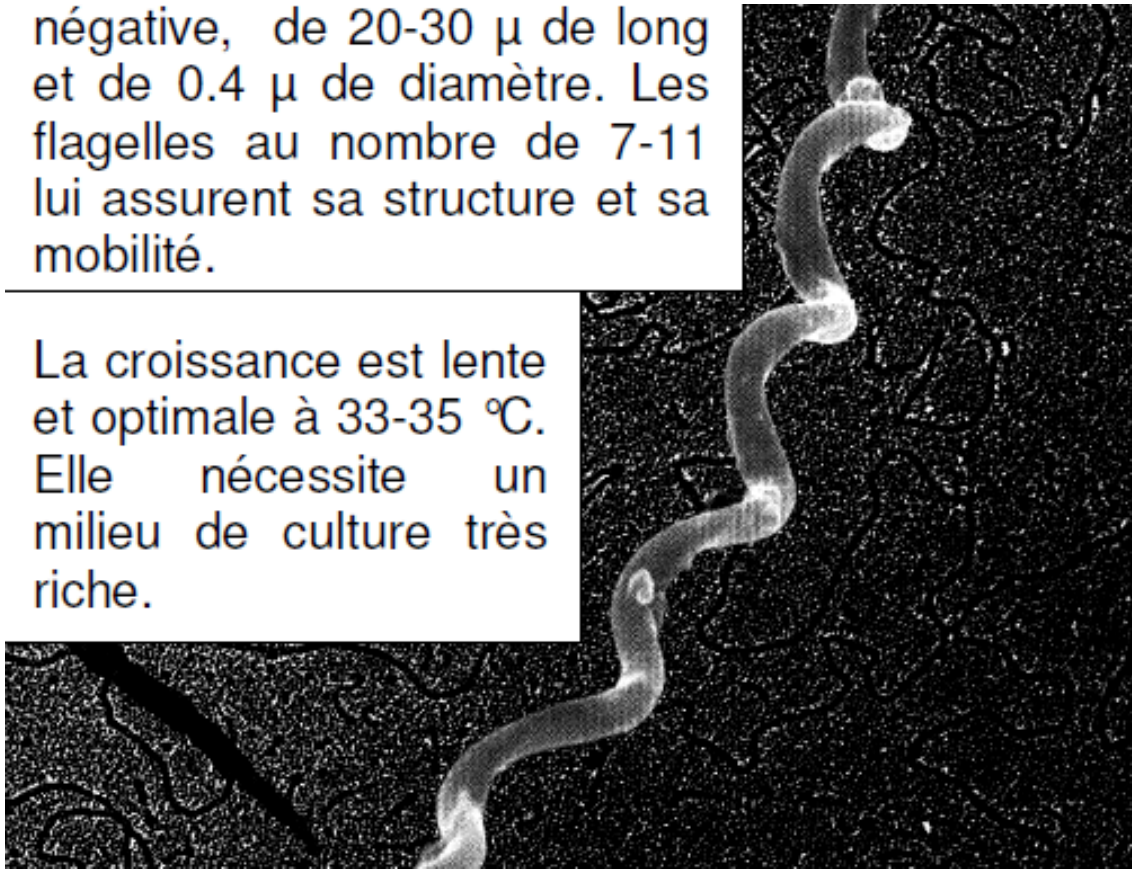
- de **biofilms**, dont s'entourent les B.

- de **complexes immuns**, auxquels se lient les B.

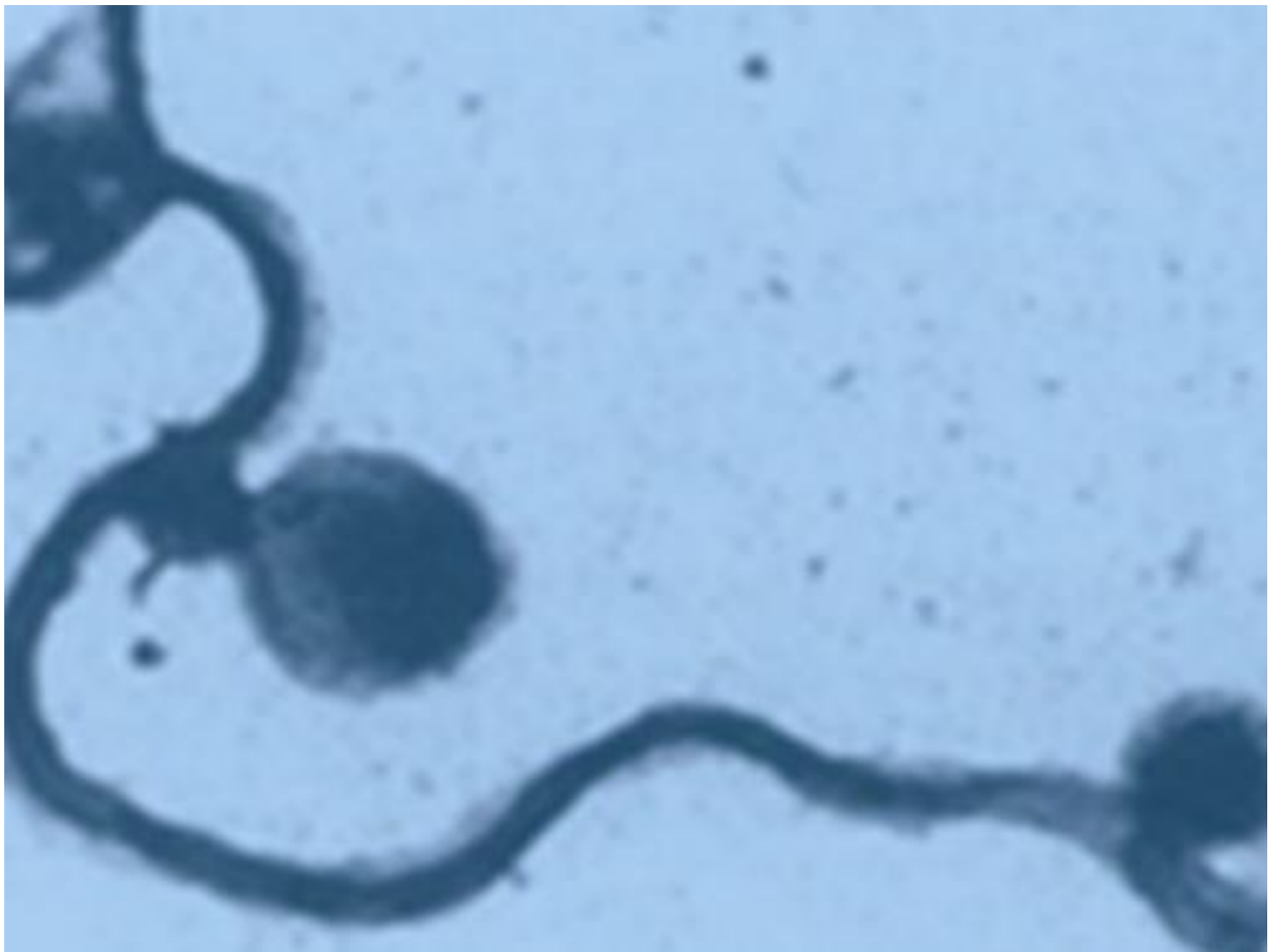


négative, de 20-30 μ de long et de 0.4 μ de diamètre. Les flagelles au nombre de 7-11 lui assurent sa structure et sa mobilité.

La croissance est lente et optimale à 33-35 °C. Elle nécessite un milieu de culture très riche.



SPIROCHETE HELICOIDAL

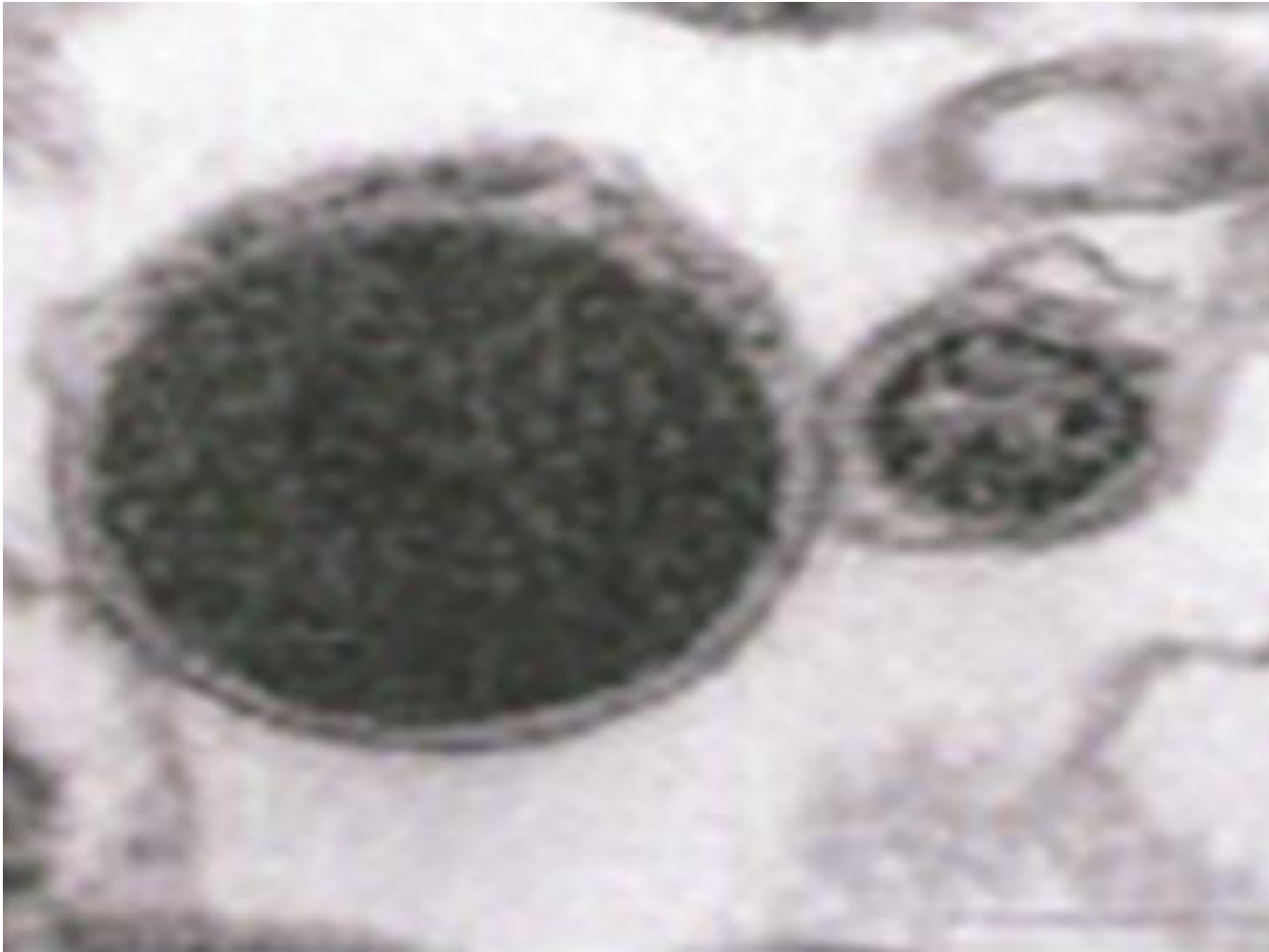


Granules de *Borrelia burgdorferi* après 24 h d'incubation dans ceftriaxone.

Kersten A; Poitschek C; Rauch S; Aberer E. 1995



Borrelia burgdorferi. Mursic VP;
Wanner G; Reinhardt S. et al.
1996



**Après 96 h d'exposition à la doxycycline –
développement de **corps sphériques**.
Kersten A; Poitschek C; Rauch S; Aberer D. 1995**



Un **spirochète** mobile normal qui à été transformé depuis un **kyste** est vu parmi des structures kystiques. Brorson O.

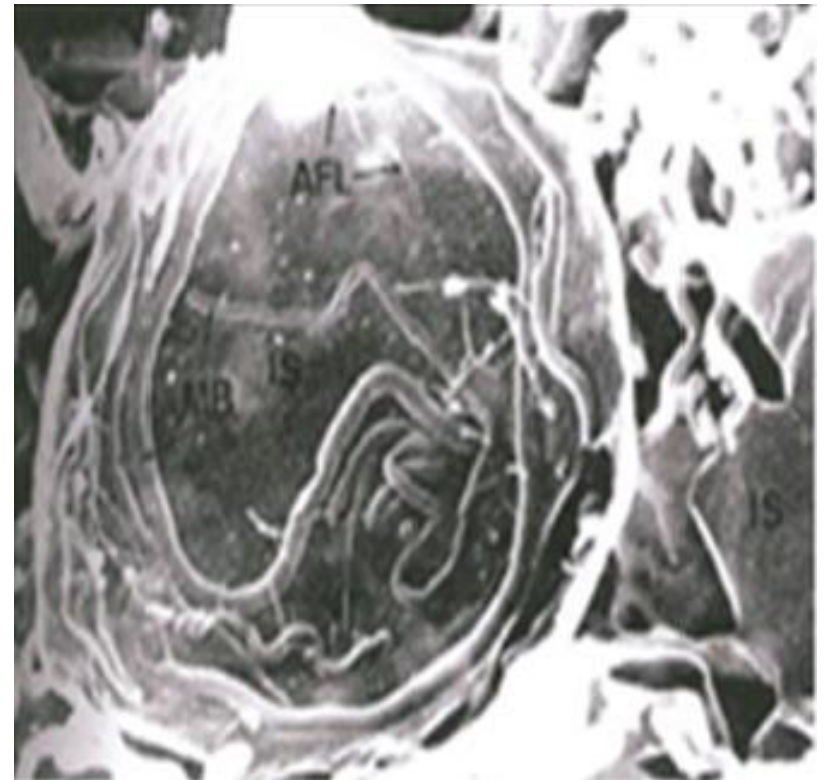


Borrélia burgdorferi, **spirochète** se développant à partir d'un **kyste**.



Borrélia burgdorferi après exposition à des concentrations de pénicilline de 0,125 mg/L. Enroulé, le spirochète forme une structure sphérique = **sphéroplaste**.

Schaller M; Neubert U. 1994



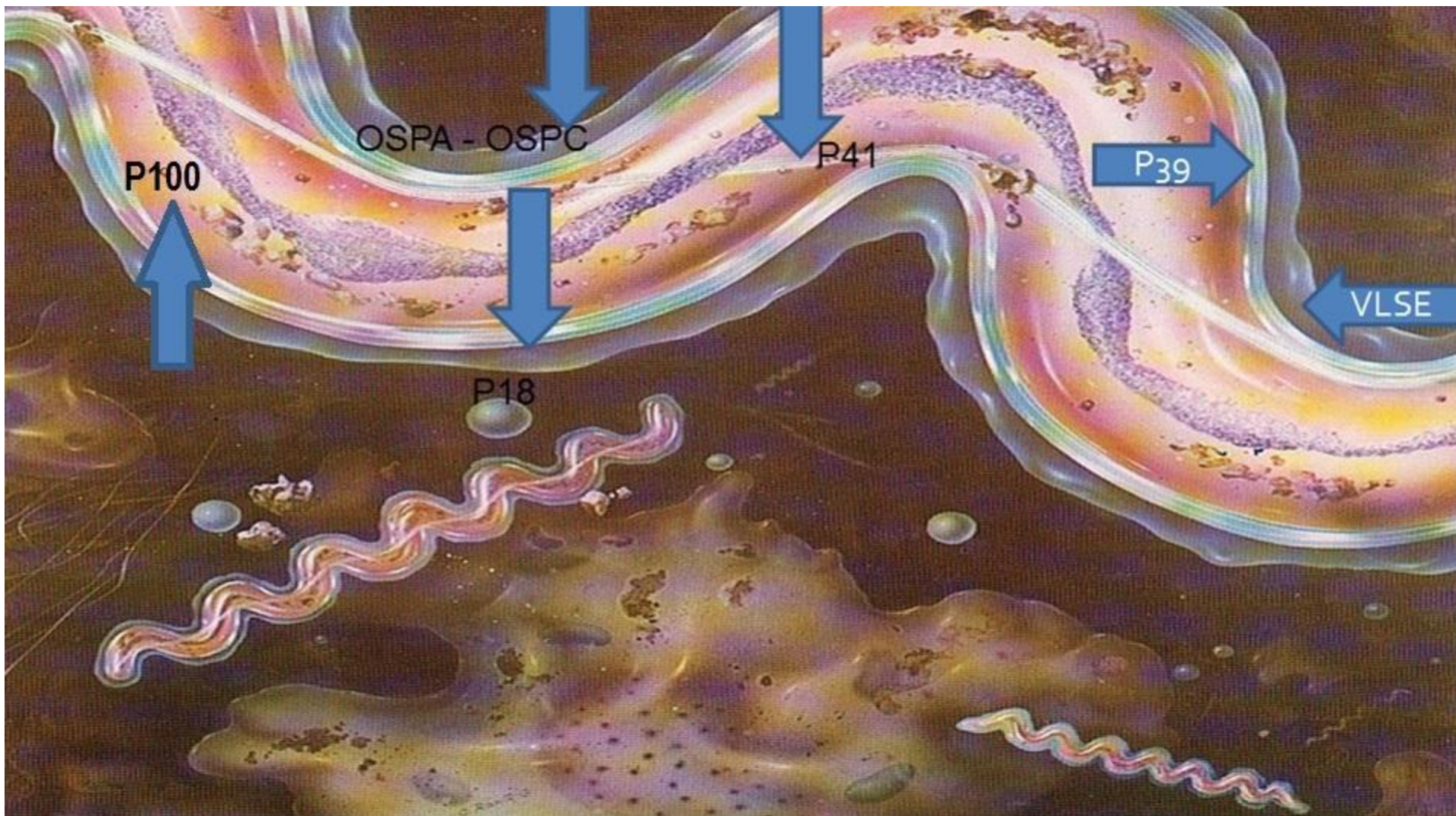
Kyste de **Treponema macrodentium** montrant des spirochètes enroulés à l'intérieur.

Umemoto T; Namikawa I; Yoshii Z; Konishi H. 1982

-V-PROTEINES IMMUNOGENES

- **P100** : protéine cytoplasmique/apparition tardive.
- **VLSE** : lipoprotéine responsable d'une grande partie de la pathogénicité/ immuno dominant dans la réponse **IgG**, dominant les autres marqueurs.
- **P58** : protéine issue de *B. garinii*.
- **P41**: flagelline=constituant du flagelle.
la moins spécifique-similitude avec la myéline
= reconnu à la phase initiale: EM.
IgM P41 persiste tant que la maladie est évolutive.

- **P39** : protéine de membrane très spécifique.
- **OSPC** : outer surface protéine C
est la plus spécifique
à la phase précoce : EM - neuroborréliose.
est immunodominante en **IgM**
OSPC IgM = dans phase persistante évolutive.
- **OSPA** : outer surface protéine A.
- **P18** : protéine de surface externe
d'apparition tardive en IgG, sauf dans les
neuroborrélioses où = d'apparition précoce.



immunogènes et les plus constants.

QUELS DIAGNOSTICS BIOLOGIQUES?

1-Il n'existe aucun test sérologique fiable, du fait de:

- La grande variabilité antigénique des B.
- La présence d'antigènes ubiquitaires(P41 flagelline= myéline)
- Les spécificités de souches
- La difficulté d'obtenir du matériel-réactif bactérien.

La période d'ascension et de persistance des Ac IgM et IgG sont plus ou moins longues, selon:

- les cas cliniques,
- la présence de complications articulaires,
- la précocité du traitement.

2-Les tests biologiques directs reposent sur la mée des Borréliés dans les humeurs: urines, sécrétions, sang .

A- SEROLOGIES CLASSIQUES

1) TESTS « ELISA »:

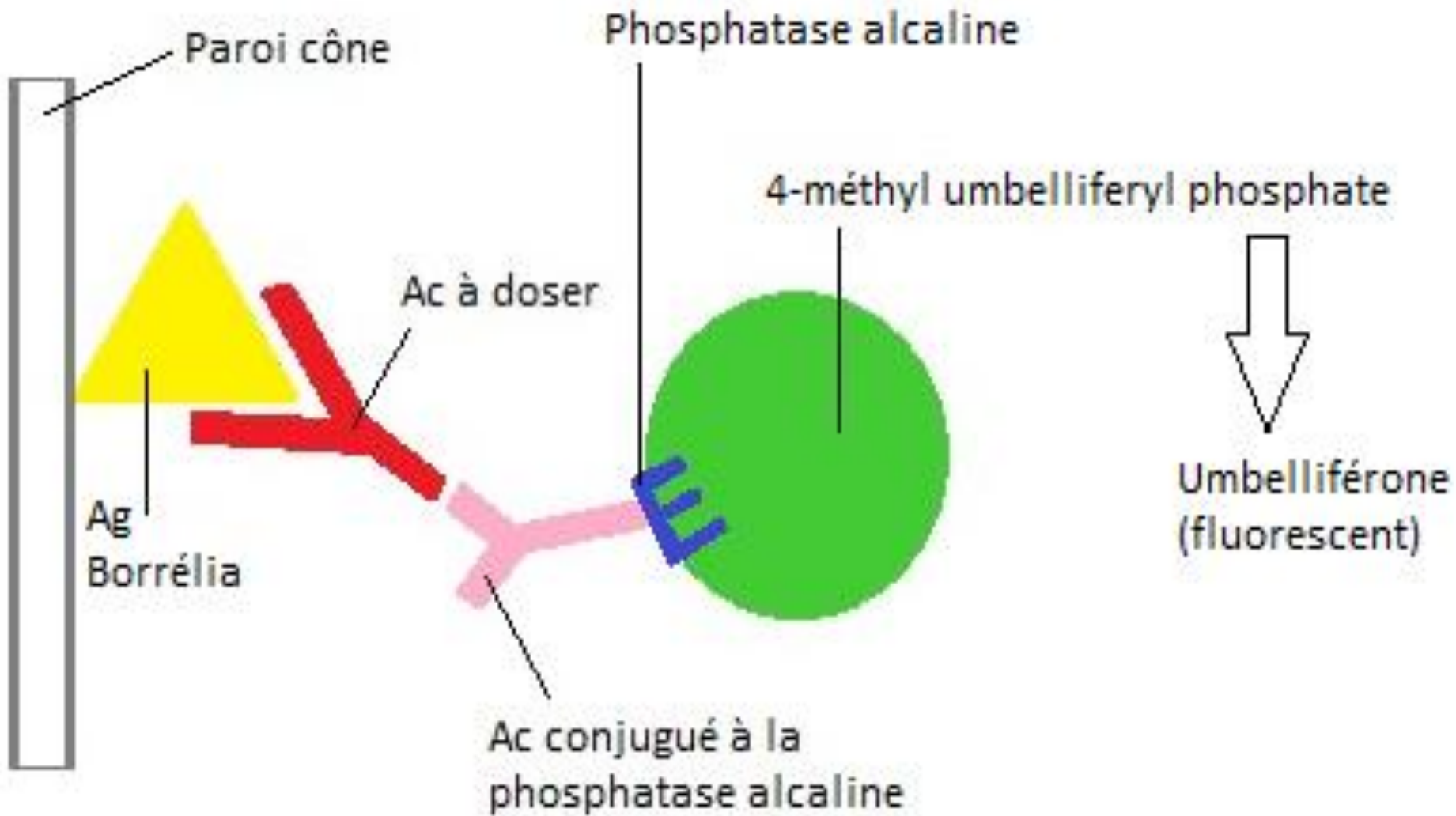
Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

- PRINCIPE DU TEST ELISA :

Test évaluant l'existence d'Ac dans le sérum du patient. Ces Ac sont mis en présence d'Ag = protéines issues des Borrélie fixés sur cupule

AG + AC + AC* + SUBSTRAT = FLUORESCENCE

L'intensité du signal de fluorescence est proportionnelle à la quantité d'Ac présents dans le sérum.



-EVOLUTION DES TECHNIQUES ELISA :

a) Méthodes anciennes (toujours utilisées):

- On fait appel à 1 seul Ag selon le choix du fabricant :

Ag B.burdorferi (variété américaine)

Ag B.afzelli , ou autres variétés.

La variabilité antigénique n'est pas prise en compte.

On recherche 1 seule variété de B. sur les 15.

- Recherche d'1 mélange d'Ac (IgM + IgG) : seuil de + ?

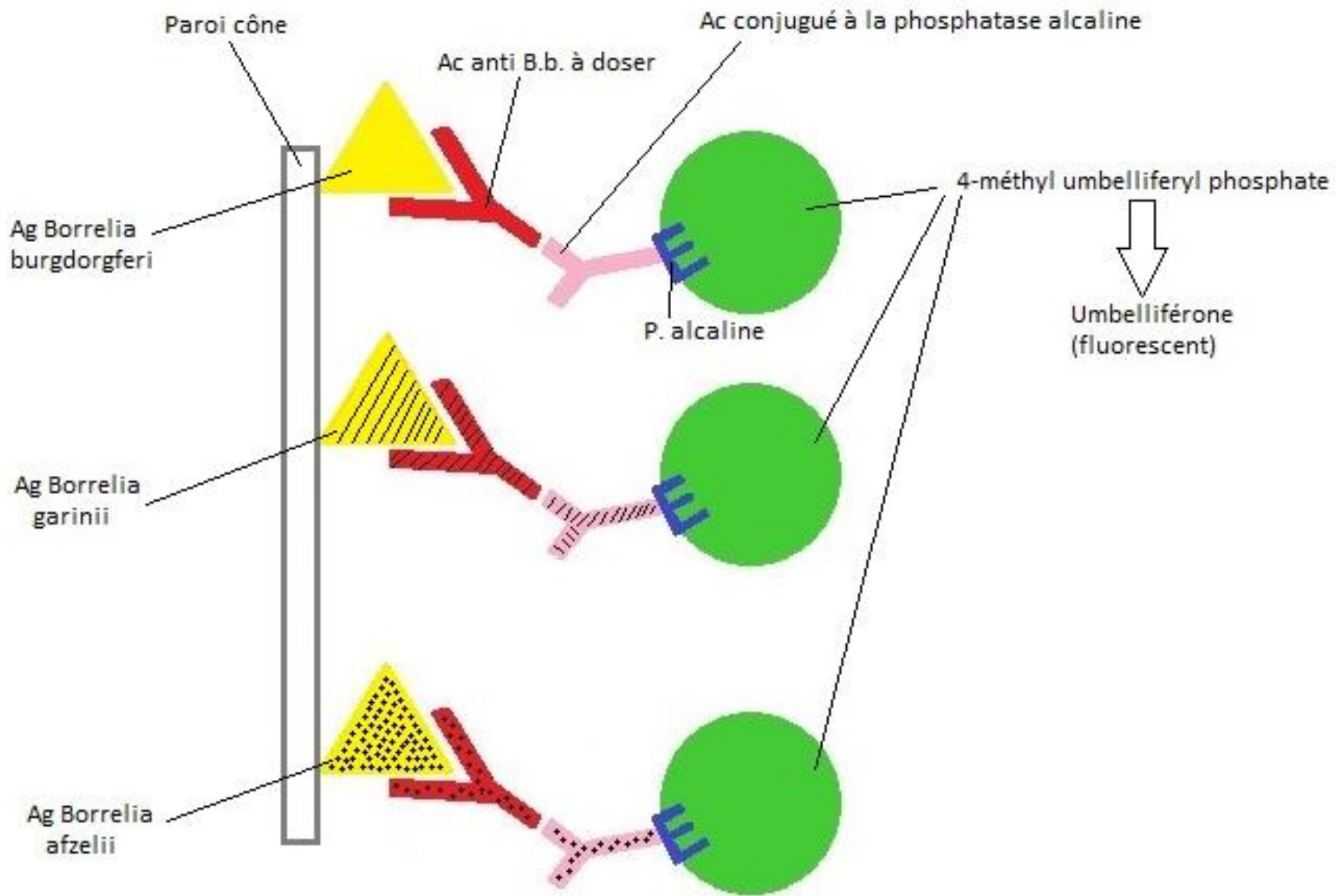
b) Méthodes récentes (après 2011):

- Plusieurs Ag utilisés:

- 3 variétés de Borrélie européennes: burgd.afz.garinii

- 3 protéines IgM: OsPC / IgG:VlsE / P18

- Les IgM et les IgG sont mesurés séparément, par 2 recherches différentes. Même question: seuil de + ?



- LIMITE DES TESTS ELISA:

a) FAUX NEGATIFS

1. stade précoce/chronique(immunodépression)
2. ttt Abio/corticoides
3. Ag utilisés ne correspondent pas aux Ac du patient
4. production d'Ac en quantité trop faible pour pouvoir être détectés
5. seuil détection lui-même trop élevé / arbitraire.
6. Proteines immuno en **IgM=OspC**/ en **IgG=VIsE+P18**seules

Tenir compte 1.symptômes cliniques 2. données épidémiologiques 3. résultats d'autres tests.

b) FAUX POSITIFS avec Syphilis, Leptospire, H. Pylori,
E.B.V / C.M.V. / Herpès
CRP / F. Rhumatoide
A.A.N. / Lupus éryth. Dissém.

B-Consensus applicable en France

La Conférence de Consensus de décembre 2006 fait toujours « loi », elle recommande:

« Démarche au diagnostic sérologique: comprend en première intention une recherche des Ac spécifiques par une technique de dépistage **Elisa.**

En cas de résultat négatif et en accord avec la nomenclature de Biologie Médicale, il n'y a pas lieu de la confirmer.

Dans la situation où le résultat au test de dépistage est positif ou **DOUTEUX, il doit toujours faire l'objet d'un test de **confirmation par Immunoempreinte**. »**

C-Méthode qualitative «Western-Blot»

1) PRINCIPE DU TEST:

Fait appel à 15 AG issus des différentes structures morphologiques des Borréliés,

a) WB faisant appel à des Ag « natifs » à partir d'**1 seule variété de Borréliés.**

b) WB faisant appel à des Ag « recombinants » à partir de **5 variétés de Borréliés.**

b) W.B. faisant appel à des Ag « natifs » :

Ag issus de la culture d'une seule souche :

- **B.burgdorferi B31.**
- **B. Garinii souche IBS 6 (actuellement)**

Cette souche unique est traitée par lyse puis extraction des protéines Agiques Immunogènes 18,22,28,32,34,39,41,47,50,55,60,66,75,83,100 kDa. Selon leur migration electrophorétique.

Résultat + si sup. à 4 bandes de réaction Ag-Ac en IgM ou IgG.

REMARQUE:

Ag « natifs » produits par **extraction** des différentes protéines immunogènes venant d'un **lysate** bactérien obtenu à partir d'une culture d'**1 seule souche de Borrélie**.

Mais ce procédé peut **dénaturer** les chaînes d'a.a. avec perte de la spécificité des Ag face aux Ac correspondants, et possibilité de:

- **réactions croisées**
- **non réaction.**

c) WB faisant appel aux Ag « recombinants » :

*** Ag produits par génie génétique:**

à partir de culture d'E.coli qui ont été programmés pour synthétiser en grande quantité des copies d'antigènes boréliens, strictement identiques au modèle initial, c'est à dire l'

***exacte reproduction en 3 dimensions des séquences d'acides aminés (environ 250) constituant les protéines bactériennes les plus « immunogènes ».**

***Limite du test W.B « recombinant »:**

- **Primo-infection EBV** pouvant interférer avec les IgM par stimulation immunologique polyclonale.
- **Du fait de l'utilisation d'Ag recombinants: il n'y a pas d'autres réactions croisées.**
- **Sont utilisées les variétés les plus courantes dans nos régions, sachant qu'il existe + d'une quinzaine de variétés pathogènes en Europe.**

***Résultats:**

- Compte-rendu des résultats:

Selon l'organotropisme préférentiel d'espèce:

B.burgdorferi: Articulaire, cardiaque.

B.afzelli: Peau, muqueuse, articulaire.

B.garinii/B.bavariensis: Neurologique.

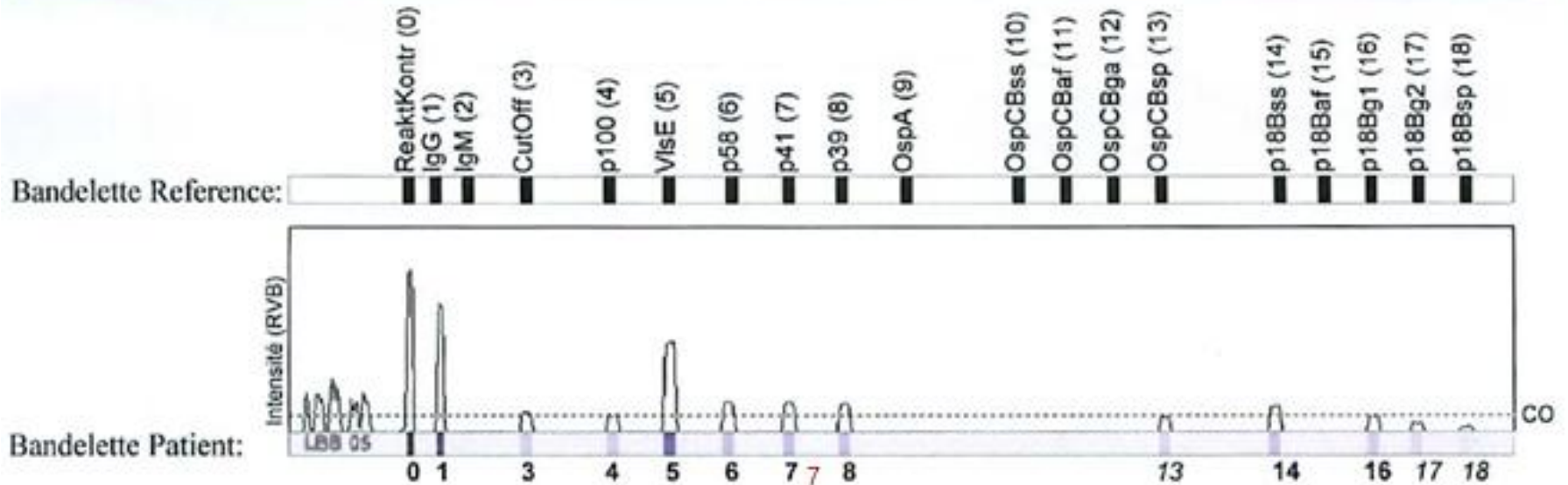
B.spielmanii: Articulaire.

- **Lecture laser :**

Les bandes sont soumises à un lecteur laser qui transforme le spot coloré en un signal de hauteur=valeur proportionnelle à l'intensité de coloration, donc à la quantité d'Ac spécifiques :

- **« cut-off » valeur = 1,0**
- **Valeurs de 0,0 à 0,9 sous le « cut off »**
- **Valeurs de 1,1 à 3,0 sup. au « cut-off »**

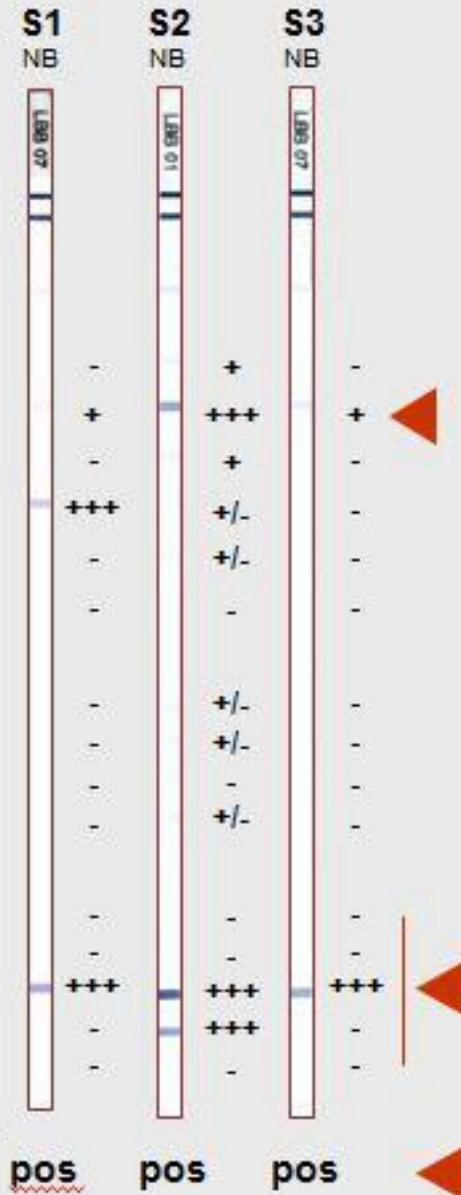
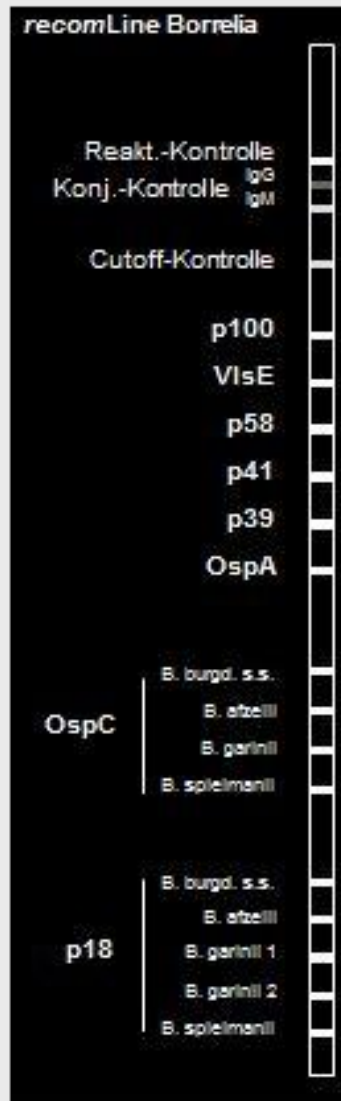
Bandelette et Diagramme



Lecture laser des bandes réactives.

Cut off **1,0** / P100 **1,0** / VLSE **3,1** / P58 **1,2** / P41 **1,2** / P39 **1,1** /
 OSPC Spielm. **1,0** / P18 Burgd. **1,1** / Garin. **1,0** / Bavar. 0,6 / Spielm. 0,2

IgG



- Lecture optique (à l'œil nu) :

absence de réaction : pas de bande visible

intensité sous le « cut-off » : positif +/-

intensité = au « cut-off » : positif +

intensité sup. au « cut-off » : positif ++

intensité forte: positif +++

Négatif ou +/- :

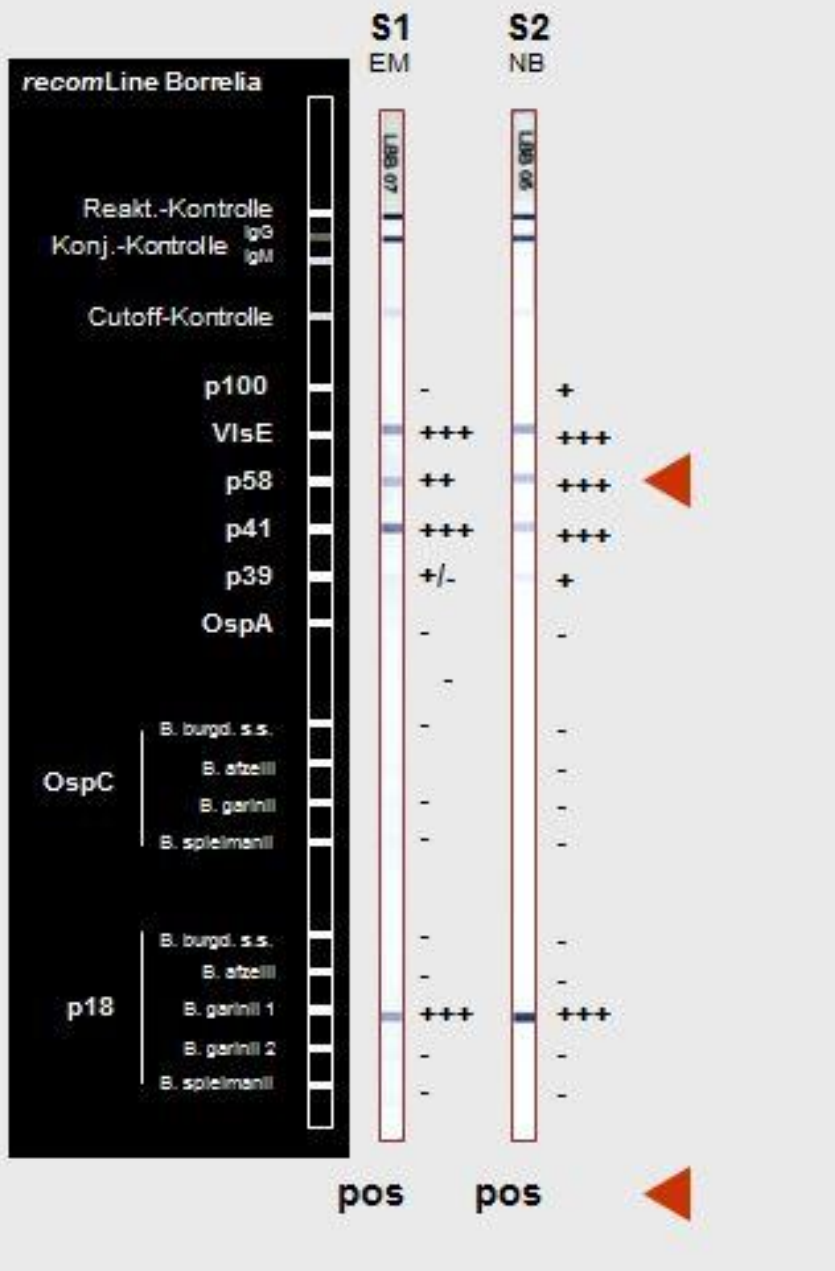
Immunité effondrée

Borréliés camouflées

Autres variétés de B. concernées.

Faire ttt d'épreuve et refaire sérologie à 3 mois

IgG



- Signification particulière de chaque Ac :

IgM seuls : - infection récente, ou
- infection réactivée, ou
- persistante, active, évolutive.

IgG seuls : - infection chronique ou
- cicatrice sérologique.

IgM + IgG : - chronique persistante, évolutive.
- ou réinfestation sur infection ancienne.

Ac P100/P58/P39/P18 : Infection stade tardif.
(sauf P18 IgG précoce dans neuroborréliose)

Ac VLSE : signe de pathogénicité des borrelies.

Ac OspC IgM : phase précoce ou persistante évolutive

- **Score statistique du W.B.**

1. Valeur statistique attribuée à chaque Ag:

IgM : P100: **5** / VLSE : **5** / P58 : **4** / P41 : **1** / P39 : **4**
OsPA : **5** / **OspC** : **8** / P18 : **5** points.

IgG : idem sauf : P39 : **5** / **OspC** : **5** points

2. Calcul mathématique statistique établi selon des études cliniques parallèles.

Réponse finale exprimée en total des points:

- inf. à 5 points : Ac « **non décelables** ».
- de 5 à 6 points : score **équivoque**, à contrôler.
- sup. à 6 points: sérologie **positive**.

WESTERN BLOT LYME (Technique All Diag)

Ig M :

Antigène P100 (5)	POSITIF +
Antigène VlsE (5)	POSITIF ++
Antigène P58 (4)	NEGATIF
Antigène P41 (B.burgdorferi) (1)	POSITIF ++
Antigène P39 (4)	NEGATIF
Antigène OspA (B.afzelli) (5)	NEGATIF
Antigène OspC (8)	POSITIF +++
B.burgd.s.s.	POSITIF +++
B.afz.	POSITIF +++
B.garinii	POSITIF +++
B.spielmanii	POSITIF +++
Antigène P18 (5)	NEGATIF
B.burgd.s.s.	NEGATIF
B.afz.	NEGATIF
B.gar.1	NEGATIF
B.gar.2	NEGATIF
B.spielmanii	NEGATIF

Ig G :

Antigène P100 (5)	POSITIF ++++
Antigène VlsE (5)	POSITIF ++++
Antigène P58 (4)	POSITIF +++
Antigène P41 (B.burgdorferi) (1)	POSITIF +++
Antigène P39 (5)	POSITIF +
Antigène OspA (B.afzelli) (5)	NEGATIF
Antigène OspC (5)	POSITIF ++
B.burgd.s.s.	POSITIF ++
B.afz.	POSITIF +
B.garinii	POSITIF ++
B.spielmanii	POSITIF ++
Antigène P18 (5)	POSITIF ++++
B.burgd.s.s.	NEGATIF
B.afz.	POSITIF ++++
B.gar.1	NEGATIF
B.gar.2	NEGATIF
B.spielmanii	NEGATIF
Score total	30 Points

Présence d'IgM : Infection récente ou persistante = maladie évolutive.

AC P100/P58/P39/P18 : Signe d'infection stade tardif.

AC VlsE : Signe de pathogénicité + + +

AC B.burgdorferi/B.spielmanii : Tropisme articulaire

AC B.afzelli: Tropisme peau/muqueuses /AC B.garinii: T.neurologique.

AC à suivre en fonction du contexte clinique et thérapeutique
 Chasseur, un peu de fatigue et vagues
 douleurs itinérantes articulations
 irritation de la gorge persistante

WESTERN BLOT LYME (Technique All Diag)

Ig M :

Antigène P100 (5)	NEGATIF
Antigène VlsE (5)	NEGATIF
Antigène P58 (4)	NEGATIF
Antigène P41 (B.burgdorferi) (1)	POSITIF + +
Antigène P39 (4)	POSITIF + +
Antigène OspA (B.afzelli) (5)	NEGATIF
Antigène OspC (8)	POSITIF + +
B.burgd.s.s.	POSITIF + +
B.afz.	POSITIF + +
B.garinii	POSITIF + +
B.spielmanii	POSITIF + +
Antigène P18 (5)	NEGATIF
B.burgd.s.s.	NEGATIF
B.afz.	NEGATIF
B.gar.1	NEGATIF
B.gar.2	NEGATIF
B.spielmanii	NEGATIF

Ig G :

Antigène P100 (5)	NEGATIF
Antigène VlsE (5)	NEGATIF
Antigène P58 (4)	NEGATIF
Antigène P41 (B.burgdorferi) (1)	POSITIF +
Antigène P39 (5)	NEGATIF
Antigène OspA (B.afzelli) (5)	NEGATIF
Antigène OspC (5)	NEGATIF
B.burgd.s.s.	NEGATIF
B.afz.	NEGATIF
B.garinii	NEGATIF
B.spielmanii	NEGATIF
Antigène P18 (5)	NEGATIF
B.burgd.s.s.	NEGATIF
B.afz.	NEGATIF
B.gar.1	NEGATIF
B.gar.2	NEGATIF
B.spielmanii	NEGATIF

Score total 13 Points

Présence d'IgM : Infection récente ou persistante-maladie évolutive.

AC P100/P58/P39/P18 : Signe d'infection stade tardif.

AC B.burgdorferi/B.spielmanii : Tropisme articulaire

AC B.afzelli:Tropisme peau/muqueuses /AC B.garinii:T.neurologique.

AC à suivre en fonction du contexte clinique et thérapeutique

SEP Endoxan, fatigue +++
Sclérose en plaques (institut de bactériologie réfute catégoriquement le lyme)

-VIII- AUTRES DIAGNOSTICS DE MDL

A- MEE DES BORRELIES PAR AMPLIFICATION GENIQUE :

1) Principe :

Recherche des **Borrélies elles-mêmes en mettant en évidence leur **ADN spécifique** par la méthode **PCR**=Polymérase Chain Réaction, sur:**

- ponction articulaire / LCR / urines / sang.**
- biopsie peau(ACA, EM, vésicules).**
- muqueuses ORL.**
- muscles, tendons.**

2) Technique :

- Une séquence d'ADN commune aux 15 types de *Borrélias* européennes utilisée, ne permet pas de faire la différenciation entre les espèces/ autres PCR testant plusieurs types.

- **1 brin d'ADN amplifié 1 M° de fois.**

- Causes de faux négatifs/positifs :

- **Faux -** : absence de B. dans l'échantillon prélevé/ il existe des **différences** entre les Ag des protéines reconnues dans les **f.végétatives** et dans les **kystes**, dont le génome a changé(?)

- **Faux +** : processus de catabolisme des B. et leur ADN permet leur évacuation des tissus et liquides corporels en seulement 4 semaines.

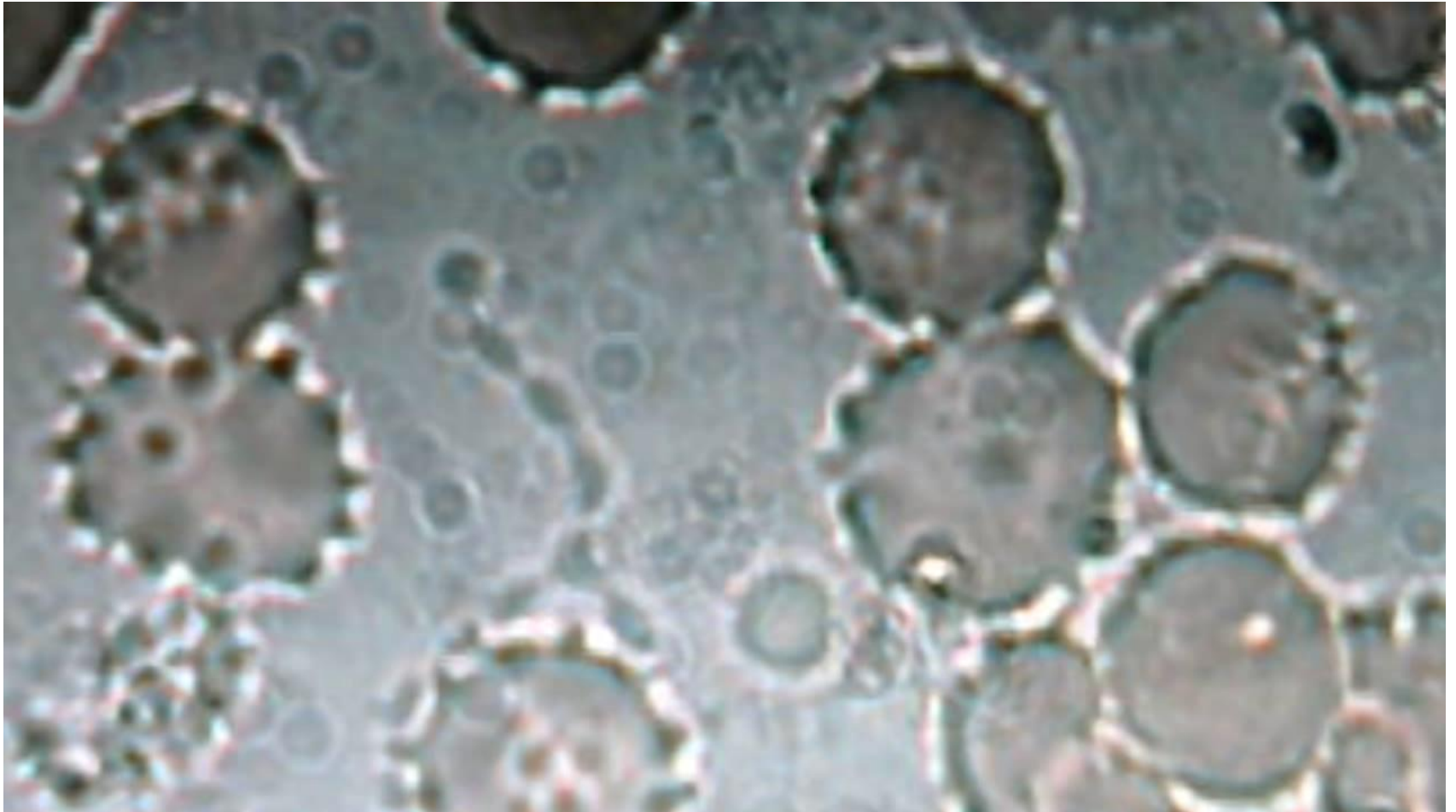
B- MEE DES BORRELIES PAR OBSERVATION MICROSCOPIQUE:

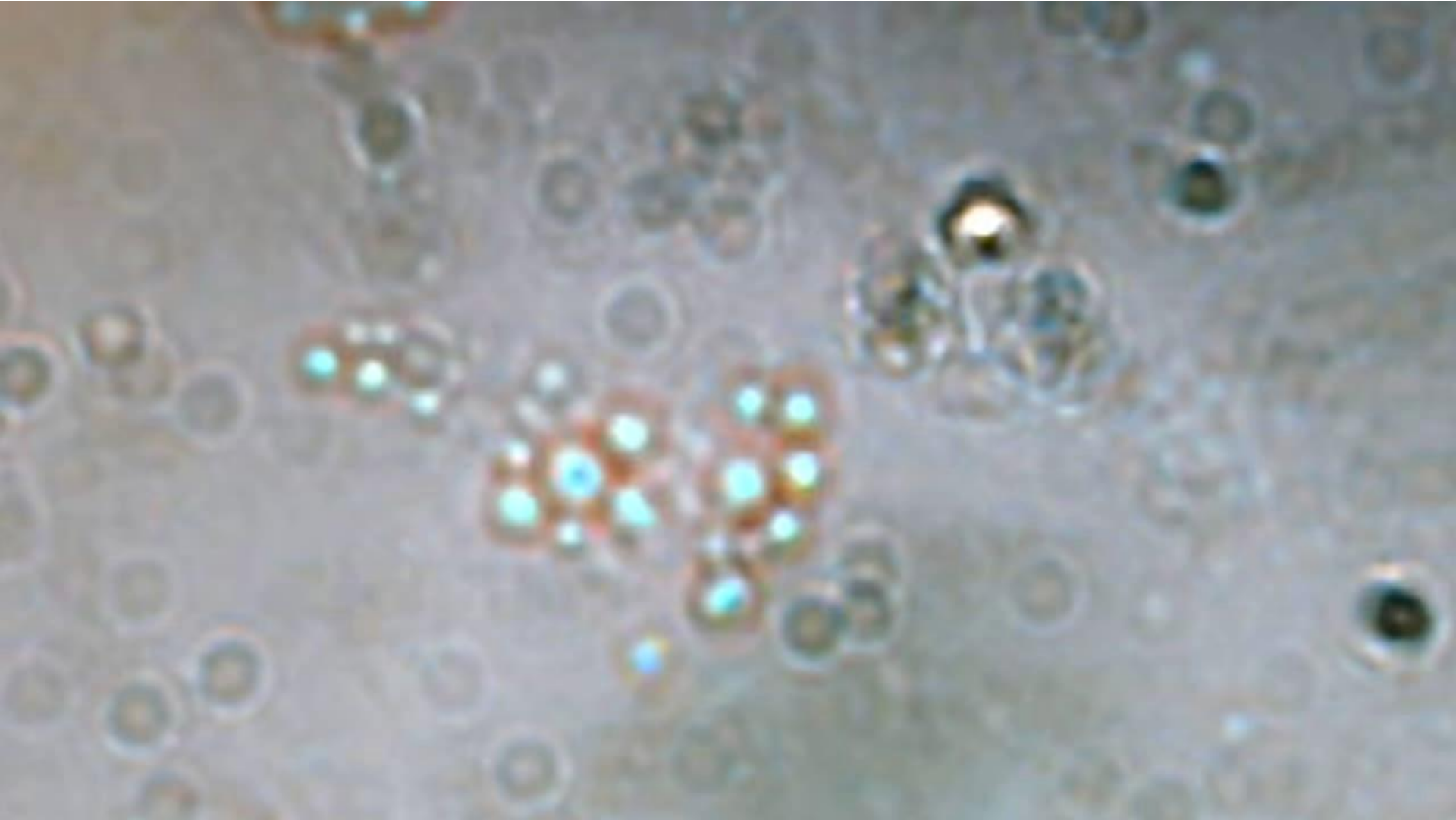
*** « Le diagnostic repose sur la **mee du parasite** dans les humeurs du malade, ou chez le vecteur, par **microscopie** en contraste de phase, en fond noir, ou, après coloration, **en lumière ordinaire** ou en fluorescence.**

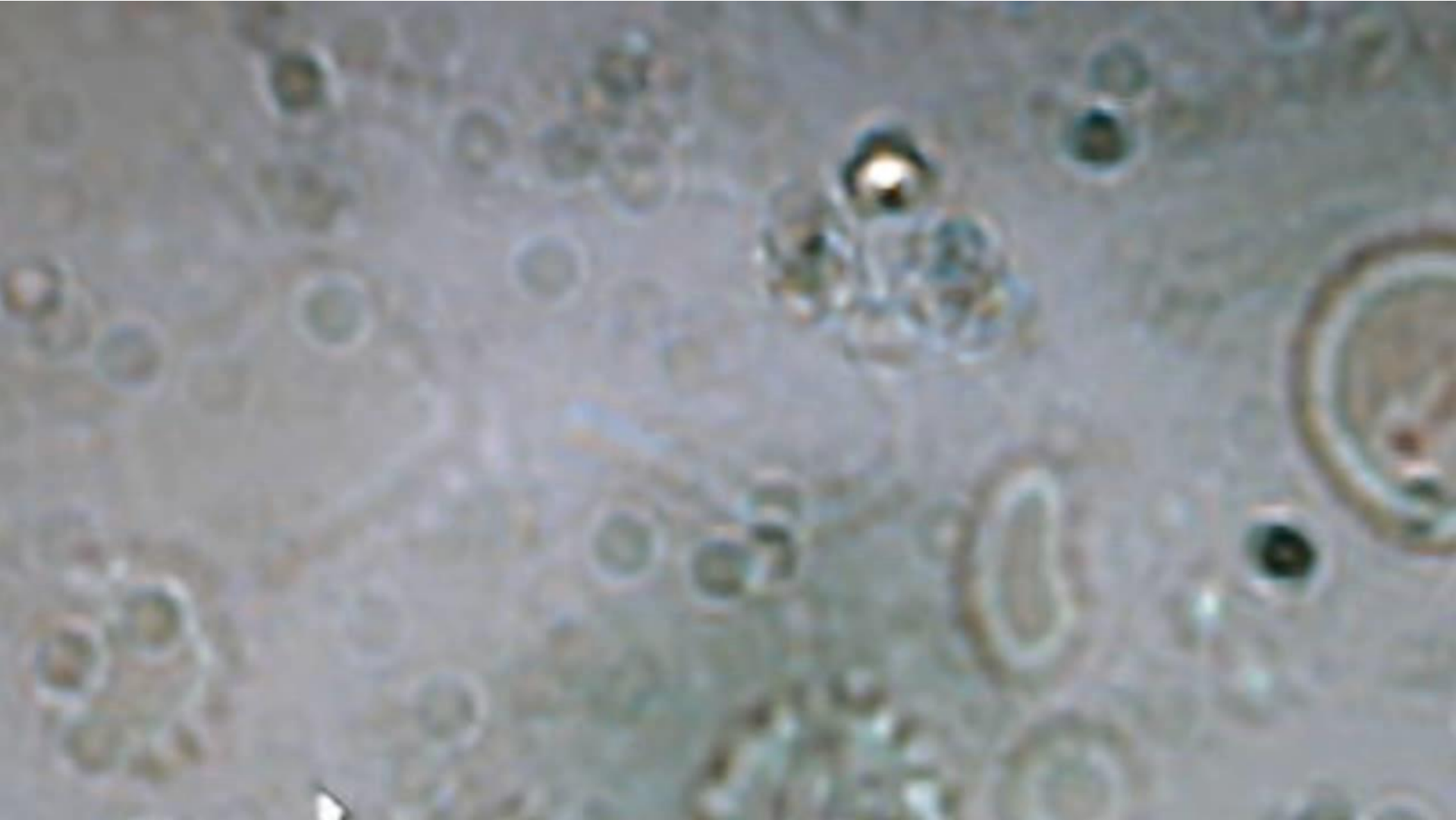
*** Si le taux de parasitémie est bas, on peut concentrer les germes par centrifugation ou utiliser le procédé de la **goutte épaisse** avec déshémoglobinisations.**

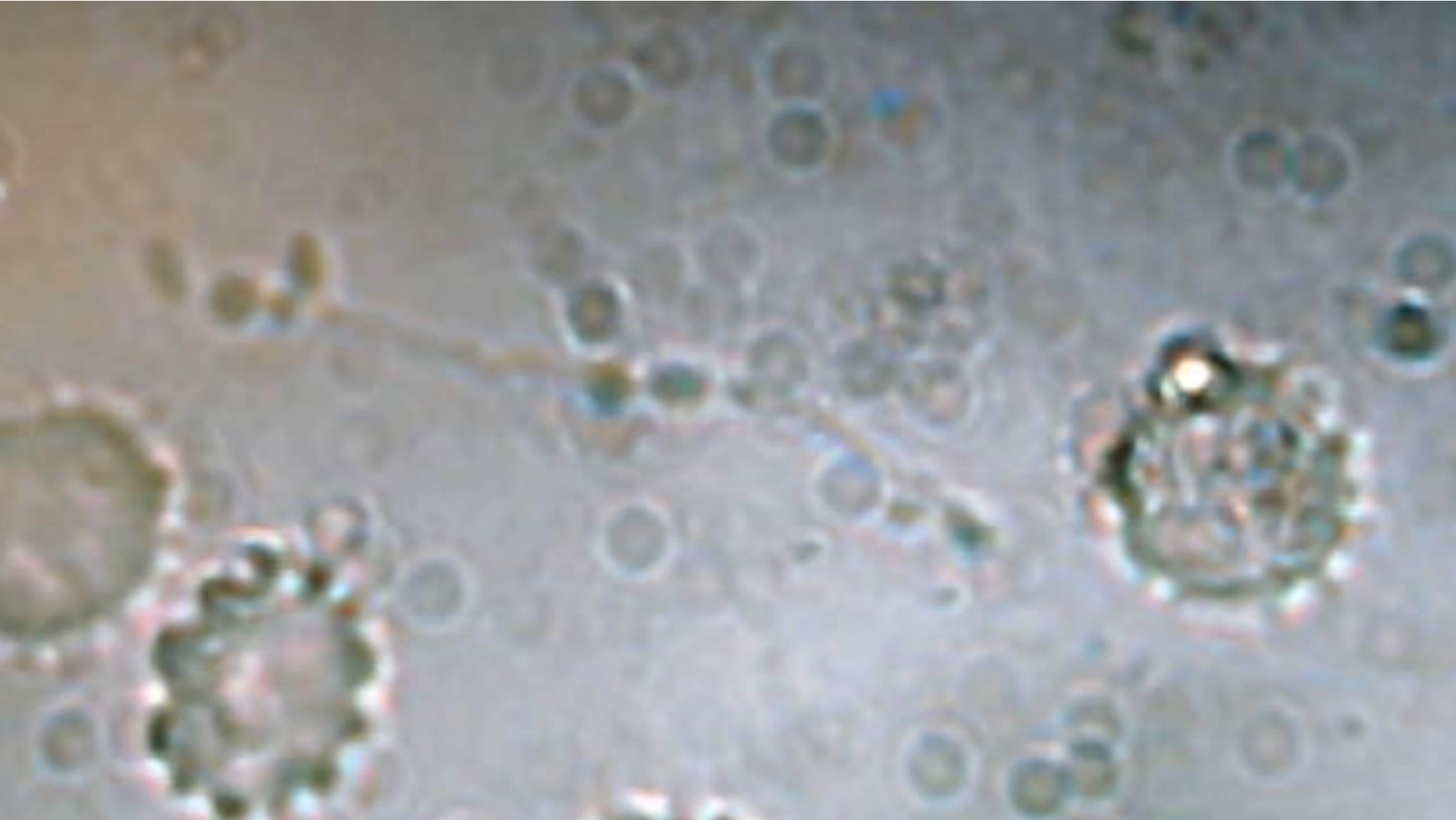
*** On doit parcourir soigneusement les lames et répéter les examens car, si **la présence du germe est un critère suffisant**, son absence n'infirmes pas le diagnostic. » Léon Le Minor.**

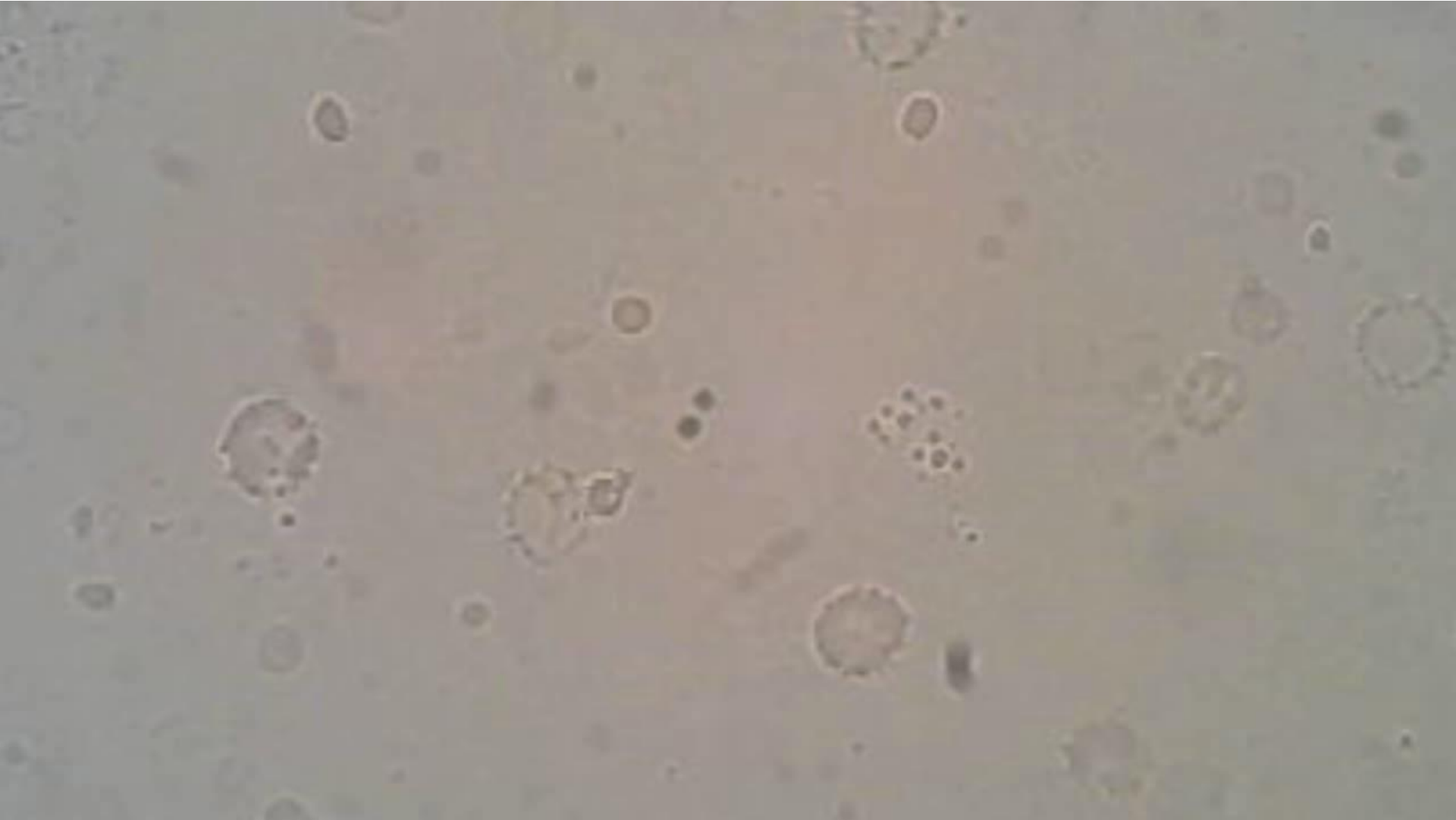
Vidéos sur gouttes épaisses







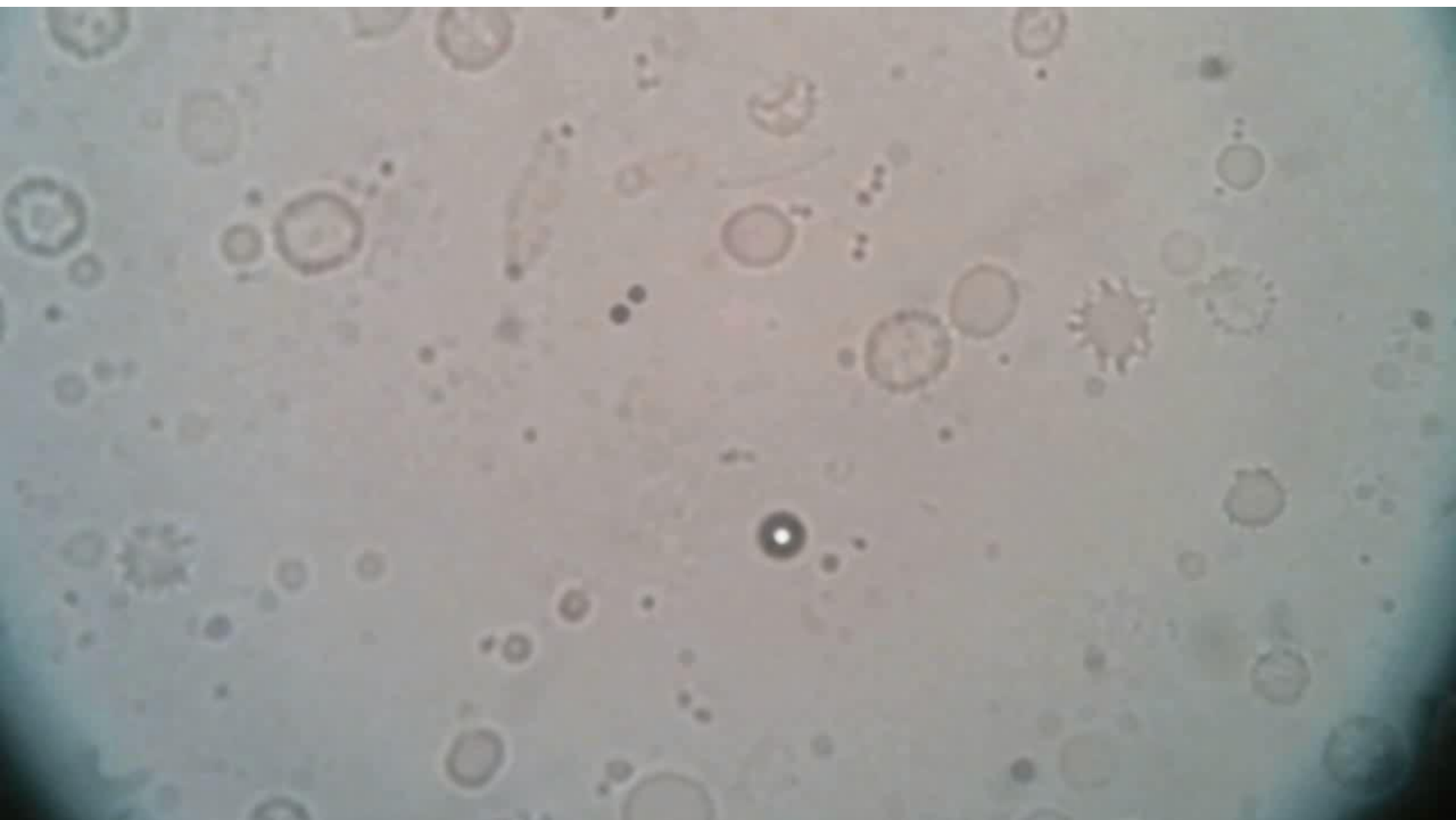








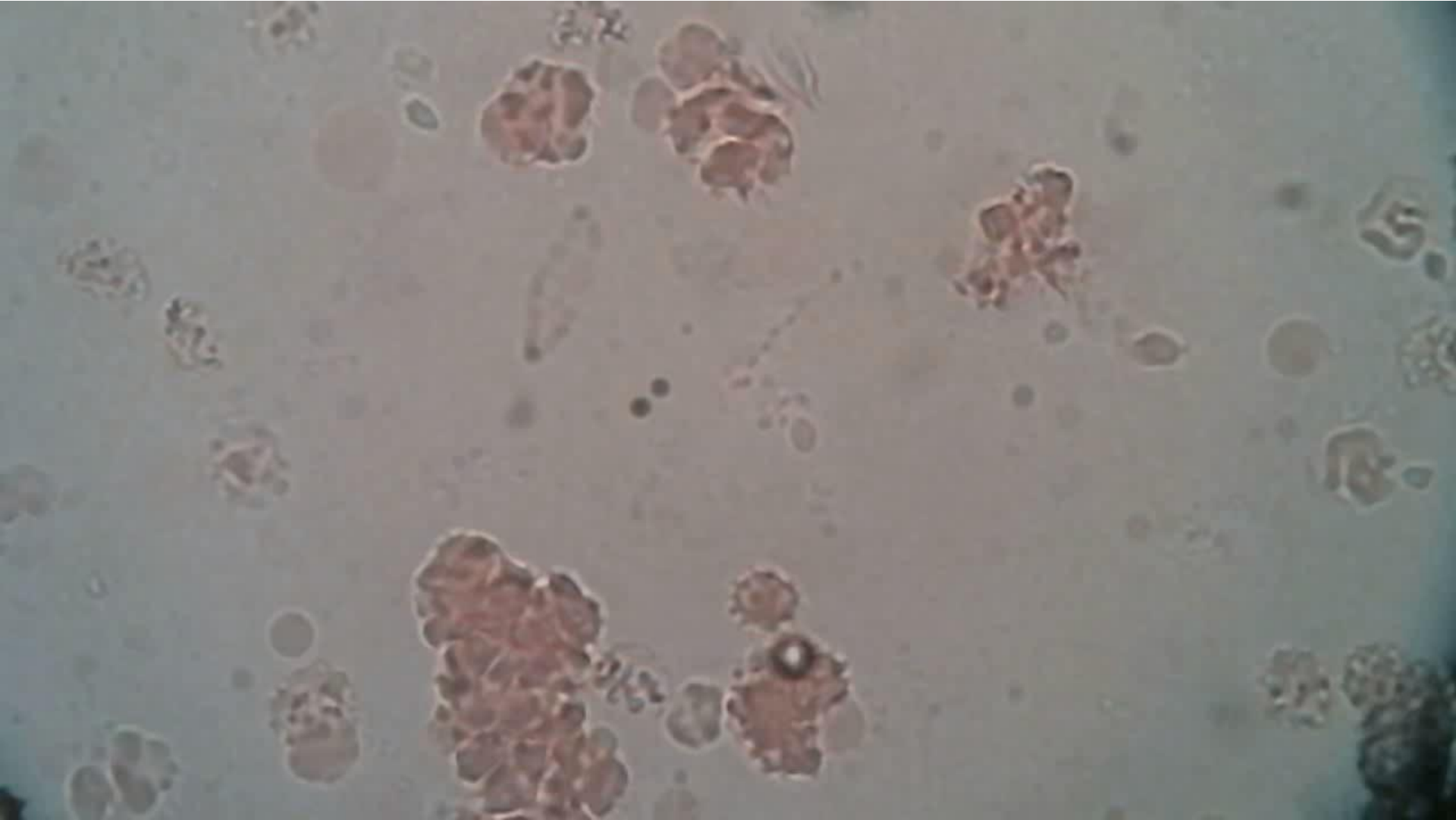


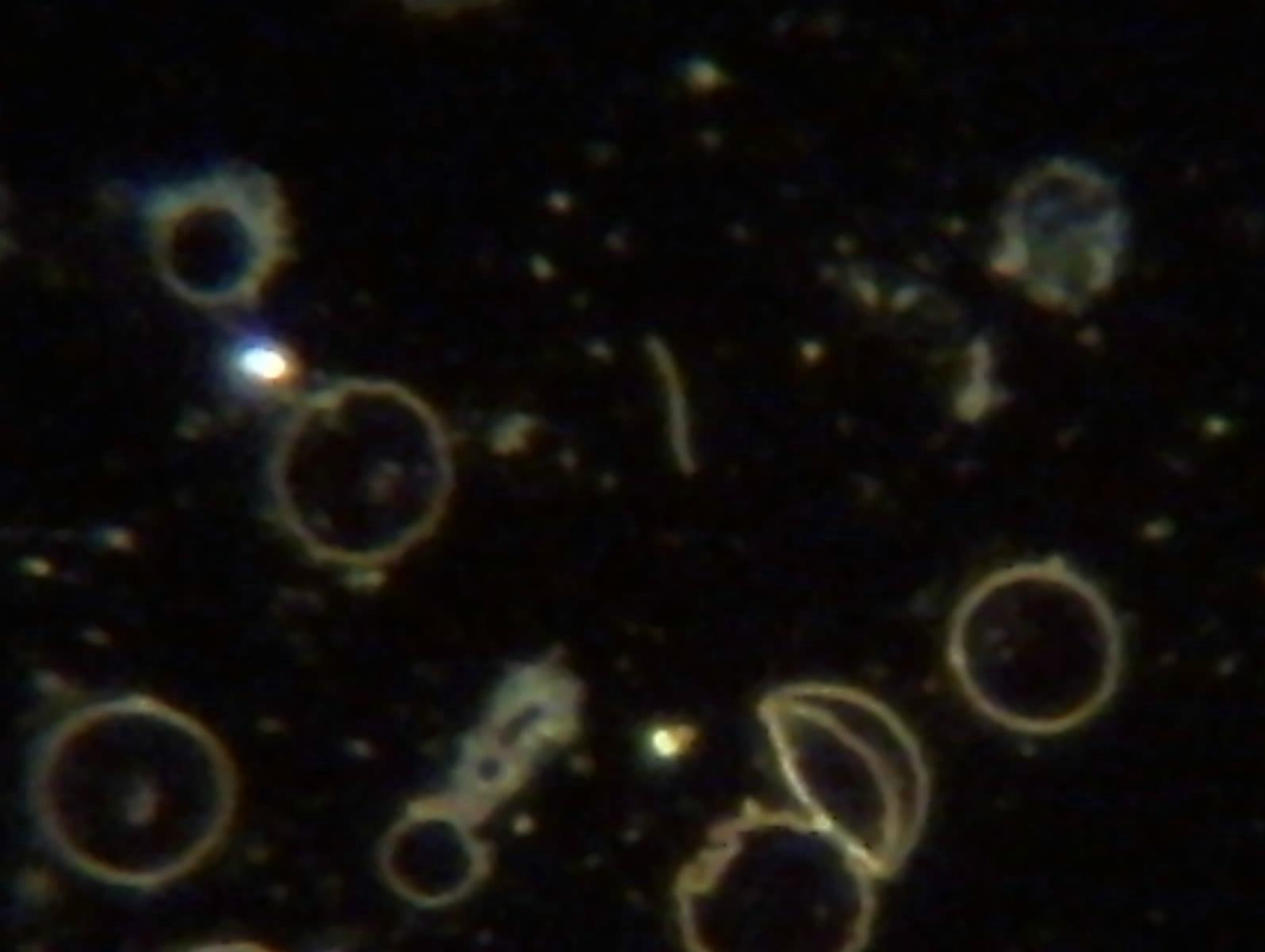












-VII- QUAND PRESCRIRE UN DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LYME ?

- **Arthrite (du genou) et arthralgies.**
- **Symptômes après pique de tique.**
- **Méningoradiculite et paralysie faciale.**
- **Atteintes neurologiques diverses: trouble comportement, dépression, fatigue chronique...**
- **ACA/ Lymphocytome cutané bénin.**
- **Cardiomyopathies.**

-IX- CONCLUSION

- **Maladie émergente/pandémie/découverte récente**, divise le monde scientifique médical.
- **Evolution des connaissances: 2 organismes référents s'opposent dans le monde:**
 - **IDSA**(Infectious Diseases Society of America)
 - **ILADS**(international Lyme and Associated Diseases Society). Dr Richard HOROWITZ
- **Diagnostic clinique difficile** car pathologies multiples: Le problème est de penser à Lyme.
- **Diagnostic biologique complexe**, en voie d'évolution technique et médico-légale.
- **Maladie posant un problème de santé publique**, car en pleine expansion.

Miviane SCHALLER