



HAL
open science

Place du Western-blot dans le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme

Marie Rohr

► **To cite this version:**

Marie Rohr. Place du Western-blot dans le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme. Sciences du Vivant [q-bio]. 2013. hal-01770930

HAL Id: hal-01770930

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01770930>

Submitted on 28 Mar 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

/Université de Lorraine
2013

/Faculté de Médecine de
Nancy

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement

dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

par

Marie ROHR

le 18 octobre 2013

/Place du Western-blot

dans le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur Thierry MAY

Président

Monsieur le Professeur Benoit JAULHAC

Juge

Monsieur le Professeur Christian RABAUD

Juge

Monsieur le Professeur Cyril SCHWEITZER

Juge

Président de l'Université de Lorraine : Professeur Pierre MUTZENHARDT

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Vice-Doyen « Pédagogie » : Mme la Professeure Karine ANGIOI
Vice-Doyen Mission « Sillon lorrain » : Mme la Professeure Annick BARBAUD
Vice-Doyen Mission « Finances » : Professeur Marc BRAUN

Assesseurs:

- 1 ^{er} Cycle :	Professeur Bruno CHENUÉL
- 2 ^{ème} Cycle :	Professeur Marc DEBOUVERIE
- 3 ^{ème} Cycle :	Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI
• « DES Spécialités Médicales, Chirurgicales et Biologiques »	Professeur Paolo DI PATRIZIO
• « DES Spécialité Médecine Générale »	Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT
- Commission de Prospective Universitaire :	Professeur Jean-Dominique DE KORWIN
- Développement Professionnel Continu :	M. Walter BLONDEL
- Filières professionnalisées :	Professeur Hervé VESPIGNANI
- Formation Continue :	Professeur Didier MAINARD
- Recherche :	Professeur Jacques HUBERT
- Relations Internationales :	M. Christophe NEMOS
- Universitarisation des études paramédicales et gestion des mono-appartenants :	Docteur Stéphane ZUILY
- Vie Étudiante :	Mme la Docteure Frédérique CLAUDOT
- Vie Facultaire :	M. Xavier LEMARIE
- Étudiants :	

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ - Professeur Jean-Bernard DUREUX - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY
 Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL - Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE
 Jean-Louis BOUTROY - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT -
 François CHERRIER Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE - Emile de LAVERGNE
 - Jean-Pierre DESCHAMPS
 Jean DUHEILLE - Adrien DUPREZ - Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE - Jean FLOQUET - Robert FRISCH
 Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone
 GILGENKRANTZ
 Oliéro GUERCI - Pierre HARTEMANN - Claude HURIET - Christian JANOT - Michèle KESSLER - Jacques
 LACOSTE
 Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Jacques LECLERE - Pierre
 LEDERLIN Bernard LEGRAS - Jean-Pierre MALLIÉ - Michel MANCIAUX - Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU -
 Michel MERLE
 Denise MONERET-VAUTRIN - Pierre MONIN - Pierre NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis

PENIN Giborréiose de Lymeert PERCEBOIS - Claude PERRIN - Guy PETIET - Luc PICARD - Michel PIERSON - Jean-Marie POLU - Jacques POUREL Jean PREVOT - Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER - Denis REGENT - Michel RENARD - Jacques ROLAND
René-Jean ROYER - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT - Michel SCHWEITZER - Claude SIMON - Danièle SOMMELET
Jean-François STOLTZ - Michel STRICKER - Giborréiose de Lymeert THIBAUT- Augusta TREHEUX - Hubert UFFHOLTZ - Gérard VAILLANT Paul VERT - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Michel WAYOFF - Michel WEBER

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Gérard BARROCHE Professeur Pierre BEY - Professeur Patrick BOISSEL
Professeur Michel BOULANGE - Professeur Jean-Louis BOUTROY - Professeur Jean-Pierre CRANCE
Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE - Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ - Professeure Simone GILGENKRANTZ Professeure Michèle KESSLER - Professeur Pierre MONIN - Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Luc PICARD Professeur Michel PIERSON - Professeur Michel SCHMITT - Professeur Jean-François STOLTZ - Professeur Michel STRICKER Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur Paul VERT - Professeure Colette VIDAILHET - Professeur Michel VIDAILHET Professeur Michel WAYOFF

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1- sous-section : (Anatomie)

Professeur Gilles GROSDIDIER - Professeur Marc BRAUN

2- sous-section : (Cytologie et histologie)

Professeur Bernard FOLIGUET - Professeur Christo CHRISTOV

3- sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Professeur François PLENAT - Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDECINE

1- sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Professeur Gilles KARCHER - Professeur Pierre-Yves MARIE - Professeur Pierre OLIVIER

2- sous-section : (Radiologie et imagerie médecine)

Professeur Michel CLAUDON - Professeure Valérie CROISÉ-LAURENT

Professeur Serge BRACARD - Professeur Alain BLUM - Professeur Jacques FEBORRÉLIOSE DE LYMELINGER - Professeur René ANXIONNAT

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1- sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Professeur Jean-Louis GUÉANT - Professeur Jean-Luc OLIVIER - Professeur Bernard NAMOUR

2- sous-section : (Physiologie)

Professeur François MARCHAL - Professeur Bruno CHENUÉL - Professeur Christian BEYAERT

3- sous-section : (Biologie Cellulaire)

Professeur Ali DALLOUL

4- sous-section : (Nutrition)

Professeur Olivier ZIEGLER - Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1- sous-section : (Bactériologie - virologie ; hygiène hospitalière)

Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIIEWSKI - Professeure Evelyne SCHVOERER

2- sous-section : (Parasitologie et Mycologie)

Professeure Marie MACHOUART

3- sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)

Professeur Thierry MAY - Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1- sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN
Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA

2- sous-section : (Médecine et santé au travail)

Professeur Christophe PARIS

3- sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)

Professeur Henry COUDANE

4- sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Professeur François KOHLER – Professeure Eliane ABORRÉLIOSE DE LYMEUISSON

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1- sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Professeur Pierre FEUGIER

2- sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY - Professeur Didier PEIFFERT

Professeur Frédéric MARCHAL

3- sous-section : (Immunologie)

Professeur Giborrélio de Lymeert FAURE – Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT

4- sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1- sous-section : (Anesthésiologie - réanimation ; médecine d'urgence)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Gérard AUDIBERT

Professeur Thomas FUCHS-BUDER – Professeure Marie-Reine LOSSER

2- sous-section : (Réanimation ; médecine d'urgence)

Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT - Professeur Bruno LÉVY – Professeur Sébastien GIBOT

3- sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4- sous-section : (Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)

Professeur François PAILLE – Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

1- sous-section : (Neurologie)

Professeur Hervé VESPIGNANI - Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE

Professeur Luc TAILLANDIER - Professeur Louis MAILLARD

2- sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE – Professeur Olivier KLEIN

Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COUBORRÉLIOSE DE LYMEOIS

3- sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

4- sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC – Professeur Bernard KABUTH

5- sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean PAYSANT

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1- sous-section : (Rhumatologie)

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

2- sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Daniel MOLE - Professeur Didier MAINARD - Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

3- sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeure Annick BARBAUD

4- sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

1- sous-section : (Pneumologie ; addictologie)

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT

2- sous-section : (Cardiologie)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE
Professeur Nicolas SADOUL - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET
3- sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)
Professeur Jean-Pierre VILLEMOT – Professeur Thierry FOLLIGUET
4- sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)
Professeur Denis WAHL – Professeur Sergueï MALIKOV

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1- sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)
Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET
3- sous-section : (Néphrologie)
Professeure Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT
4- sous-section : (Urologie)
Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET CHIRURGIE GÉNÉRALE

1- sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)
Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY - Professeur Athanase BENETOS
Professeure Gisèle KANNY – Professeure Christine PERRET-GUILLAUME
2- sous-section : (Chirurgie générale)
Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1- sous-section : (Pédiatrie)
Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET
Professeur Cyril SCHWEITZER – Professeur Emmanuel RAFFO – Professeure Rachel VIEUX
2- sous-section : (Chirurgie infantile)
Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE
3- sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)
Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Olivier MOREL
4- sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)
Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1- sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)
Professeur Roger JANKOWSKI – Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER
2- sous-section : (Ophtalmologie)
Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeure Karine ANGIOI
3- sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)
Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeure Muriel BRIX
=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

61^{ème} Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Professeur Walter BLONDEL

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeur Jean-Marc BOIVIN

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeur associé Paolo DI PATRIZIO

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1- sous-section : (*Anatomie*)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteure Manuela PEREZ

2- sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Docteur Edouard BARRAT - Docteure Françoise TOUATI – Docteure Chantal KOHLER

3- sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Docteure Aude MARCHAL – Docteur Guillaume GAUCHOTTE

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDECINE

1- sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Docteur Jean-Claude MAYER - Docteur Jean-Marie ESCANYE

2- sous-section : (*Radiologie et imagerie médecine*)

Docteur Damien MANDRY

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1- sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Docteure Sophie FREMONT - Docteure Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN

Docteure Catherine MALAPLATE-ARMAND - Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA

2- sous-section : (*Physiologie*)

Docteur Mathias POUSSSEL – Docteure Silvia VARECHOVA

3- sous-section : (*Biologie Cellulaire*)

Docteure Véronique DECOT-MAILLERET

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1- sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)

Docteure Véronique VENARD – Docteure Hélène JEULIN – Docteure Corentine ALAUZET

3- sous-section : (*Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales*)

Docteure Sandrine HENARD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1- sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteure Frédérique CLAUDOT – Docteur Cédric BAUMANN

2- sous-section : (*Médecine et Santé au Travail*)

Docteure Isabelle THAON

3^{ème} sous-section : (*Médecine légale et droit de la santé*)

Docteur Laurent MARTRILLE

4- sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Docteur Nicolas JAY

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

2- sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie : oncologie (type mixte : biologique)*)

Docteure Lina BOLOTINE

4- sous-section : (*Génétique*)

Docteur Christophe PHILIPPE – Docteure Céline BONNET

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

3- sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Docteure Françoise LAPICQUE – Docteur Nicolas GAMBIER – Docteur Julien SCALA-BERTOLA

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1- sous-section : (*Rhumatologie*)

Docteure Anne-Christine RAT

3- sous-section : (*Dermato-vénéréologie*)

Docteure Anne-Claire BURSZTEJN

4- sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie*)

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

3- sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire*)

Docteur Fabrice VANHUYSE

4- sous-section : (*Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire*)

Docteur Stéphane ZUILY

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1- sous-section : (*Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie*)

Docteure Laure JOLY

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

5- sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale*)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRE DE CONFÉRENCE DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteure Elisabeth STEYER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES

Monsieur Vincent LHUILLIER

19^{ème} Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Joëlle KIVITS

60^{ème} Section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE, GÉNIE CIVIL

Monsieur Alain DURAND

61^{ème} Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Monsieur Jean REBSTOCK

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Monsieur Nick RAMALANJAONA

65^{ème} Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE

Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE ISLA - Madame Nathalie MERCIER – Madame Céline HUSELSTEIN

66^{ème} Section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteure Sophie SIEGRIST - Docteur Arnaud MASSON - Docteur Pascal BOUCHE

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
*Research Institute for Mathematical Sciences de
Kyoto (JAPON)*

Professeure Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS
(1996)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume-Uni)
Professeur Yunfeng ZHOU (2009)
Université de Wuhan (CHINE)
Professeur David ALPERS (2011)
Université de Washington (U.S.A)
Professeur Martin EXNER (2012)
Université de Bonn (ALLEMAGNE)

A notre président du jury,

/Monsieur le Professeur Thierry MAY

Professeur de maladies infectieuses

Vous nous faites l'honneur de présider ce jury.

Nous vous remercions pour votre ouverture d'esprit et votre accueil dans votre équipe.

Nous vous sommes tout particulièrement reconnaissante de nous permettre d'être chef de clinique dans votre équipe.

Votre regard sur les maladies infectieuses nous a permis et nous permettra de nous améliorer dans cette spécialité passionnante que vous nous faites partager.

A notre juge et directeur de thèse,

/Monsieur le Professeur Benoit JAULHAC

Professeur de bactériologie
Chef de service de bactériologie du CHU de Strasbourg

Nous vous remercions de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'être notre directeur de thèse.

Nous vous remercions également de nous avoir permis de nous ouvrir sur une spécialité riche, importante en pédiatrie et en maladies infectieuses.

Le sujet que vous nous avez attribué est un sujet riche en histoire et en actualités, nous espérons avoir réussi à répondre à vos attentes concernant ce travail.

Votre regard sur ce travail nous a été indispensable à son élaboration.

A notre juge,

/Monsieur le Professeur Christian RABAUD

Professeur de maladies infectieuses

Nous vous remercions d'avoir accepté d'être membre de ce jury.
Votre implication auprès du CCLIN Est nous permettra d'approfondir nos connaissances en matière d'hygiène hospitalière et de lutte contre les infections nosocomiales.

A notre juge,

/Monsieur le Professeur Cyril SCHWEITZER

Professeur de pédiatrie

Vous nous avez toujours soutenue dans nos démarches et permis de réaliser nos envies professionnelles depuis que vous êtes responsable du DES de pédiatrie.

Nous vous remercions pour votre enseignement.

Votre présence dans ce jury est pour nous un grand honneur et nous espérons que la lecture de ce document, qui s'éloigne de la pédiatrie classique, ne vous sera pas trop indigeste.

A notre Maître,

/Monsieur le Professeur Emmanuel GRIMPREL

Professeur de pédiatrie

Chef de service de pédiatrie générale de l'Hôpital Armand TROUSSEAU

Vous nous avez permis de découvrir le versant pédiatrique des maladies infectieuses en nous accueillant dans votre service.

Vous nous avez donné des missions particulièrement intéressantes que nous avons accomplies avec plaisir au jour le jour.

Notre immersion dans votre service a été très enrichissante pour nous.

Nous sommes très heureuse d'avoir été si bien intégrée à votre équipe et nous nous réjouissons de collaborer avec vous dans le futur.

Aux personnes qui m'ont aidée lors de la réalisation de cette thèse :

A Michèle Gelis, bibliothécaire de l'hôpital Armand Trousseau.

Aux Docteurs Hélène Jeulin, Tahar Haddou et Marie Machouart pour leurs conseils concernant le regard transversal de l'utilisation du Western-blot.

A mes collègues et chefs

Un grand merci à l'équipe médicale et paramédicale du Dr Pinault de néonatalogie du CHR de Metz qui m'a accueillie à bras grands ouverts à peine tombée du nid.

Un hommage tout particulier au Docteur Marie-Thérèse Kneib pour son enseignement et sa gentillesse.

A tous les médecins du CH d'Epinal qui m'ont permis de découvrir la pédiatrie générale et la jolie petite ville d'Epinal (comme une image) : Dr Popelard, Dr Mougenot, Dr Krier, Dr Serrat, Dr Auburtin... Et bien sûr à toute l'équipe paramédicale.

Aux équipes de Médecine Infantile I et de Néonatalogie du CHU de Nancy et particulièrement à Monsieur le Professeur Monin et Monsieur le Docteur Jellimann pour leur enseignement.

A toute l'équipe du service de maladies infectieuses du CHU de Nancy que je suis très heureuse de retrouver après ces quelques années d'absence.

A ceux qui ont quitté le service et qui m'ont beaucoup appris : Lorraine, Vincent et le Docteur Lecomte.

Et à celles qui sont toujours là : Sandrine et Emilia.

A ma famille de bactériologie de Nancy : Annie, Fabienne, Vanina, Angélique, Sabrina, Astrid et Cycy : Pour votre patience et pour toutes les connaissances que vous m'avez transmises; pour les "petits goûters" bonbons-chocolats et pour votre amitié : MERCI !

A Monsieur le Professeur Lozniewski pour son accueil.

Au Docteur Nejla Aissa : merci pour tes conseils, pour nos discussions toujours passionnantes de bactériologie (et autre) et pour ton amitié.

Au Docteur Corentine Alauzet, à notre future collaboration et à d'autres bons petits restos!

A ma famille de bactériologie de Strasbourg : Elody, Cathy, Laurence et Chantal.

Je ne vous vois pas assez, mais je pense à vous bien souvent...

Au Docteur Nathalie Boulanger, je vous remercie de m'avoir intégrée dans votre équipe pendant mon année de Master 2.

A toute l'équipe de réanimation pédiatrique du CHU de Nancy pour leur enseignement :
Aux Docteurs Maria, Girard, Denis et Thomas.

Au Docteur Le Tacon : Je te remercie pour toutes nos conversations plus ou moins enflammées concernant la prise en charge infectieuse de nos petits patients, pour ton soutien lors des différentes étapes de la réalisation de mon mémoire de DES et pour toutes les connaissances que tu m'a transmises.

A toute l'équipe de pédiatrie générale de l'hôpital Armand Trousseau :

Au Docteur Quinet pour tout ton enseignement, pour ton soutien lors de mes missions dans les autres services et lors de nos Staff à "Rob' Deb".

Au Docteur Lesprit pour nos week-end d'astreinte et pour tout ce que tu m'apprends concernant les patients drépanocytaires.

A l'équipe de Réanimation pédiatrique du Professeur Renolleau de l'hôpital Armand Trousseau qui m'a accueillie pendant ces 6 mois d'inter-CHU pour mes gardes.

A Monsieur le Professeur Antoine Bourrillon : à notre rencontre lors du congrès de l'association des juniors en pédiatrie. Je vous remercie de m'avoir guidée et soutenue lors de mon choix de stage inter-CHU. Je suis enchantée à chaque fois que je peux assister à votre enseignement lors de congrès.

A tous mes assistants et chefs de cliniques : Laetitia, Amandine, Vincent et Sandrine, Aude et Benoit, Alexia et Emilie, Mélusine et Céline.

A mes co-internes :

A Sophie, Claire et Romain, nos concours de collants et nos journées Converse.

A Thibault et surtout Oliv' et Clo' et notre trio gagnant, nos aprem' courriers/Deezer.

A Aïssata, Maher, Emilie M., Amélie G., Caro, Marjo, Zineb... et nos contre-café.

A Amélie S.A., Delph, et Anne-So.

A Fanny pour ses bons plans mode à Paris, Juliette pour son optimisme perpétuel, Anaïs et Anne-Aurélié.

A Monsieur Vicente, chef des services administratifs de la faculté de médecine de Strasbourg, pour tous ses conseils administratifs et techniques.

Je vous remercie de m'avoir permis de partir au Vietnam.

A la mémoire de Tatie Amour et Georges et René, mes papys.

A mes parents,

Pour votre soutien perpétuel à tout point de vue, malgré mes idées farfelues.

(c'était pas bien l'Asie?)

Merci pour toutes les valeurs que vous m'avez transmises, je n'aurai jamais assez de mots pour vous remercier.

Plus particulièrement à Maman pour être dispo au téléphone jusqu'à 10 fois par jour quand mon ordi plante et à Papa pour m'accompagner (physiquement) dans mes grandes étapes depuis la maternelle...

A Coco mon petit frère et Marjo (ma quasi sœur) qui sont toujours là quoi qu'il arrive; Merci Coco pour ce très beau carton d'invitation!

A Annick et Yves pour tous les bons moments que nous passons et passerons ensemble.

A mes mamies Mariette et Madeleine que j'aime tant :

- A Mamie Mariette qui me demande toujours d'où je l'appelle.
("Tu es à Nancy?" "Non Mamie, je suis à Paris aujourd'hui..." "Quoi!? Mais tu as la bougeotte ma parole!" dialogue véridique...)
- A Mamie Madeleine qui me donnera je l'espère toutes ses recettes de bons gâteaux.

A tous les autres membres de ma famille :

Yves et Sonia, Siegfried et Edith, Sylvain Sophie et leur petite Elsa...

A mes Amis,

A Christelle et sa petite famille : qui aurait cru qu'une amitié débutée à 5 ans sur les bancs de la salle de danse nous mène si loin... (Enfin, pas en danse...)

Au Club des 6 (Devenu le Club 10+2) :

A Sandra : être ton amie est une grande chance et un honneur.

A Lisa, Jean et ma filleule Aline : Merci pour votre amitié et merci de m'accueillir toujours à bras grands ouverts.

A Morgane et Coach (Hervé) : et toutes ces années d'amitié. Spéciale dédicace à Coach pour tes pique-niques tip top à l'arrière d'une certaine Smart...

A Anaïs, Lionel et Perrine : Au moins 2 (+1) qui m'ont suivie lors de ma migration!

A Manu et Christophe : et nos grandes discussions spéciales "véhicules" (hippiques avec l'une, automobiles avec l'autre).

A ma famille nancéienne (dernière thèse du groupe, dernière dédicace) :

A Marie et Marjo dans l'espoir de voir se reconstituer très bientôt les M&M's pour de nouveaux périples...

A Romina et Jean, et leur retour aux sources au pays des paillettes et du Bling-Bling...

Je suis bien contente de venir m'immerger chez vous de temps en temps!

A Gaëlle et son iphone (si si, ils ne font qu'un!)

A Caro, Roro et Léa : en espérant que vous passerez de temps en temps par la Lorraine pour venir nous voir!

A Emilie, Baptiste et Louise et nos bonnes petites soirées pétanque-BBQ.

A mes potes de Nancy, Strasbourg et Paris :

Les globe-trotters Amélie et Olivier, Delph' (et pourtant c'était pas gagné d'avance...), Olivia, Lise, Taymme (pour tes bons plans resto à Paris), Caro et Jeff, Claudia, Pascal et Léopold.

Et à celles qui sont encore plus loin : Geneviève, Zineb, Ha Minh, Hoi et Huan.

/SERMENT

« **A**u moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque ».

Table des matières

/SERMENT	19
<u>/PREMIERE PARTIE : GENERALITES</u>	22
1. <u>INTRODUCTION</u>	22
2. <u>PHYSIOPATHOLOGIE : INTERRELATION ENTRE TROIS PROTAGONISTES</u>	24
2.1. <u>LE PATHOGENE :</u>	24
2.2. <u>LE VECTEUR :</u>	25
2.3. <u>L'HOTE :</u>	26
3. <u>PRESENTATION CLINIQUE CHEZ L'HOMME :</u>	27
3.1. <u>PHASE LOCALISEE</u>	27
3.2. <u>PHASE DISSEMINEE PRECOCE</u>	28
3.2.1. <u>ATTEINTES DERMATOLOGIQUES</u>	28
3.2.2. <u>ATTEINTES NEUROLOGIQUES</u>	29
3.2.3. <u>ATTEINTES CARDIAQUES</u>	31
3.2.4. <u>ATTEINTES OPHTALMIQUES</u>	31
3.3. <u>PHASE DISSEMINEE TARDIVE</u>	32
3.3.1. <u>ATTEINTES DERMATOLOGIQUES</u>	32
3.3.2. <u>ATTEINTES ARTICULAIRES</u>	32
3.3.3. <u>ATTEINTES NEUROLOGIQUES</u>	33
3.4. <u>SYNDROME POST LYME</u>	33
4. <u>TECHNIQUES UTILISEES POUR LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE :</u>	34
<u>MISE AU POINT</u>	
4.1. <u>METHODES D'IMMUNO-ASSAY</u>	34
4.1.1. <u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE</u>	35
4.1.2. <u>RADIO-IMMUNO-ASSAY</u>	35
4.1.3. <u>METHODES EIA/ELISA</u>	36
4.2. <u>WESTERN-BLOT ET IMMUNOBLOT</u>	38
5. <u>DIAGNOSTIC DE LA BORRELIOSE DE LYME</u>	39
<u>/DEUXIEME PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE</u>	41
1. <u>INTRODUCTION</u>	41

2. MATERIELS ET METHODES	42
3. RESULTATS	44
4. DISCUSSION	68
5. CONCLUSION	76
/BIBLIOGRAPHIE	78

/PREMIERE PARTIE : GENERALITES

1. Introduction

La borréliose de Lyme, maladie transmise suite à une piqûre infectée de tique dure du genre *Ixodes*, est une des infections émergentes du XXème siècle, elle constitue la maladie à transmission vectorielle la plus fréquente en Amérique du Nord (endémique dans 15 états américains¹) et dans les pays tempérés eurasiens.^{2, 3}

Cette pathologie causée par des bactéries du groupe *Borrelia burgdorferi* sensu lato⁴, n'a été rattachée à ce micro-organisme que dans les années 1982 et 1983.⁵

En 2006, 19 931 cas ont été reportés aux Etats unis, ce qui représente une hausse de 101% en 15 ans (de 1991 à 2006).⁶ Le nombre annuel de cas dans le monde est estimé à 255 000 personnes en 2011.⁷

L'incidence annuelle du New-Jersey, état de la côte Est des Etats-Unis où la maladie est endémique, est de 26 cas/100 000 habitants. En Europe, les incidences les plus élevées sont répertoriées en Allemagne, Autriche, Suisse, Suède et l'ouest de la Russie (tableau 1).^{8, 9} Une étude suédoise trouve une incidence dans de sud de la Suède de 69/100 000 habitants par année en moyenne.¹⁰

En Alsace cette incidence atteint 200 cas pour 100 000 habitants par an (données InVS, observatoire 2002-2003).



Figure 1 : Zones d'endémie de la borréliose de Lyme
(www.maxisciences.com/maladie-de-lyme)

Pays	Incidence pour 100 000 habitants
Allemagne	25 (111 Baden-Wurtemberg)
Autriche	300
Slovénie	155
Suisse	30,4
Suède	80 (sud)

Tableau 1 : Incidences de la borréliose de Lyme dans différents pays européens. (Données OMS)⁹

Une interaction étroite entre le pathogène, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, la tique, et les hôtes est nécessaire pour la persistance et la transmission du pathogène dans la nature (Figure 2).¹¹

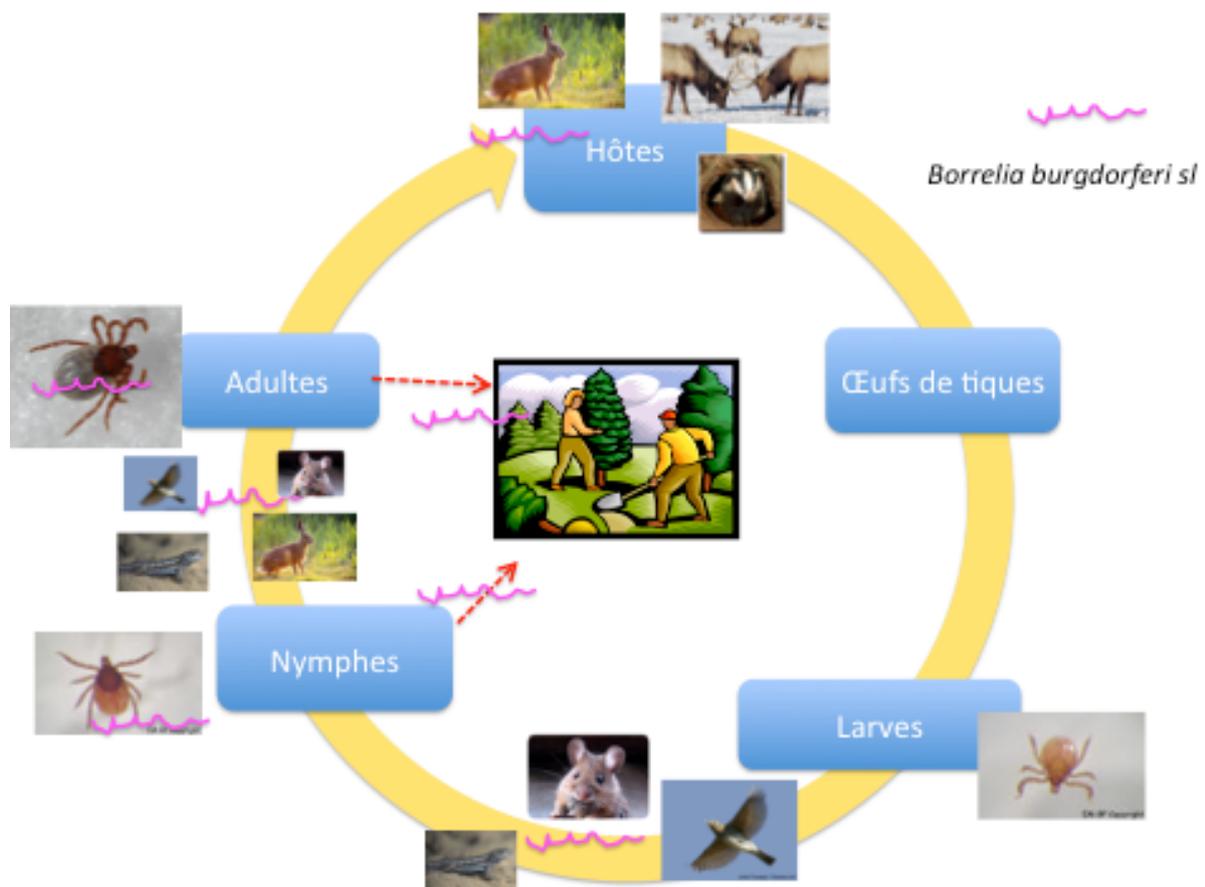


Figure 2 : Interrelation entre le vecteur, l'hôte et le pathogène. (Schéma personnel)

2. Physiopathologie : Interrelation entre trois protagonistes

2.1. Le pathogène :

Actuellement, le groupe *B. burgdorferi* si est constitué de 18 espèces de spirochètes dont la répartition varie selon la localisation géographique⁷. Pour les espèces isolées chez l'homme, on détecte en Amérique du Nord, *B. burgdorferi* sensu stricto (ss) qui est la seule espèce pathogène de *Borrelia burgdorferi* présente, alors que le nombre d'espèces de *Borrelia* en Europe est plus important : *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi*, *B. spielmanii* et *B. bavariensis*, avec cliniquement une surreprésentation de *B. afzelii* et *B. garinii*². Quatre autres espèces peuvent être retrouvées chez des patients, *B. bissetii*, *B. lusitaniae*, *B. spielmanii* et *B. valaisiana*,^{8, 12} mais de façon rare ou exceptionnelle et ne sont pas reconnues comme des pathogènes importants. En Asie, *B. garinii* est la principale espèce de *Borrelia* pathogène.⁵

Borrelia burgdorferi est une bactérie flagellaire, mobile, micro-aérophile, visible au microscope à fond noir et mesurant de 10 à 20 µm de long et 0,2 à 0,5 µm de large (figure 3).^{13, 14}

Cette bactérie est constituée d'une membrane cytoplasmique qui entoure le cylindre protoplasmique, du peptidoglycane et des flagelles puis d'une membrane externe. Son chromosome fait moins de 1 mégabase et son génome est composé de 9 plasmides circulaires et 12 plasmides linéaires (ces plasmides correspondent à 40% de son ADN total).

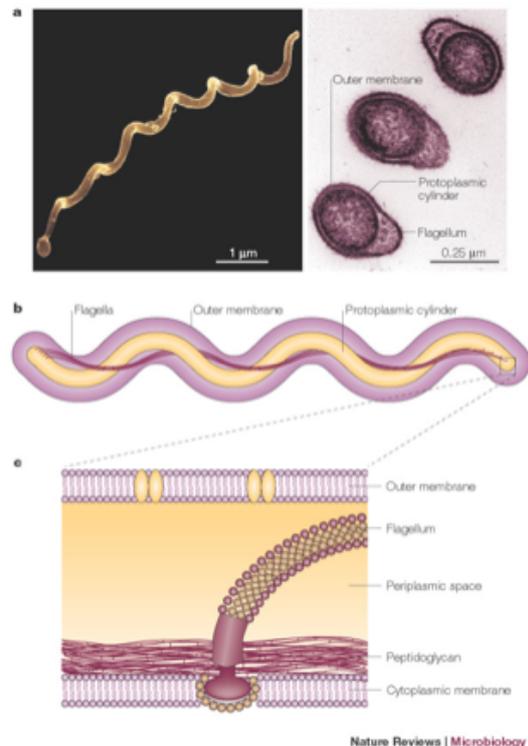


Figure 3 : Structure et morphologie de *Borrelia burgdorferi*.¹⁵

Le génome de *Borrelia* code de nombreuses protéines de surface de la membrane externe et interne, mais a peu d'activité de synthèse : il dépend donc de l'hôte pour se procurer certains nutriments nécessaires à sa multiplication.⁴

La régulation de l'expression des protéines de surface (OspA, OspC, VlsE) intervient surtout pendant la transmission du pathogène de la tique à l'hôte. OspA est une protéine de surface exprimée dans le tube digestif de la tique hors repas sanguin ou *in vitro* alors qu'OspC et VlsE sont plus abondants dans les glandes salivaires de tiques. Dans les études réalisées, les auteurs constatent une diminution de l'expression d'OspA pendant le repas sanguin, parallèlement à l'augmentation d'expression d'OspC.¹⁶

Cette bactérie est *a priori* extracellulaire, et doit sa pathogénicité à sa capacité de migration à travers les tissus, son attachement aux cellules de l'hôte et sa capacité d'évasion au système immunitaire, notamment par adhérence de la lipoprotéine BBK32, aux glycosaminoglycanes et à la fibronectine au niveau des jonctions intercellulaires et de la peau.

La dissémination de la bactérie se fait de la peau vers les organes profonds.^{17, 18}

Certaines de ces protéines de surface sont utilisées dans le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme.

2.2. Le vecteur :

Le vecteur de la borréliose de Lyme est une tique appartenant au genre *Ixodes*, dont l'espèce change selon la localisation géographique : *I. scapularis* au Nord-Est de l'Amérique du Nord et *I. pacificus* à l'Ouest des Etats-Unis, *I. ricinus* et *I. persulcatus* en Europe, *I. persulcatus* et *I. ovatus* en Asie.^{5, 8, 19}

La morphogenèse de la tique évolue en 4 stases (image 1) : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte.



Image 1 : Morphogenèse de la tique : stase larvaire, nymphale et adulte (femelle et mâle).¹¹

La durée du repas sanguin varie selon les différentes stases : 3j pour les larves, 5j pour les nymphes, et 7j pour les femelles adultes.

Le passage d'une stase à une autre après un repas sanguin dure plusieurs mois et la durée moyenne de vie d'une tique est de 2 à 6 ans.⁵

En Europe le vecteur principal est une tique de l'espèce *I. ricinus* et 5 espèces bactériennes du groupe *B. burgdorferi* si infectent cette tique : *B. burgdorferi* ss, *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. lusitaniae* et *B. valaisiana*.

La transmission de la bactérie entre les différentes stases des tiques se fait grâce à la persistance des spirochètes dans le tube digestif de la tique. Cette persistance est essentielle pour la pérennité des spirochètes. Dans la grande majorité des cas, après un repas infectant, il y a uniquement une contamination du tube digestif de la tique, mais lors d'infections systémiques chez les femelles, la bactérie peut atteindre les ovaires et les embryons : la transmission transovarienne de *Borrelia* est possible mais rare²⁰ et représente 1% de la totalité des œufs d'*Ixodes ricinus*.¹¹

2.3. L'hôte :

Borrelia infecte de nombreux vertébrés sauvages compétents (petits rongeurs et certains oiseaux¹¹) qui permettent un maintien de l'espèce concernée et agissent comme un réservoir.²⁰

Aux Etats-Unis, ces hôtes réservoirs sont spécifiques de l'espèce *B. burgdorferi* ss : au Nord des Etats-Unis : les souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*), et à l'Ouest : mulot sylvestre (*Neotoma fuscipes*) et les lézards des palissades (*Sceloporus occidentalis*). En Europe par contre, les hôtes "réservoir" sont moins spécifiques : petits rongeurs, oiseaux, hérissons, lièvres... sauf pour *B. valaisiana* qui contamine uniquement les oiseaux.⁸

L'homme étant un hôte accidentel, il constitue une impasse pour le pathogène.

La contamination de l'hôte se fait soit par des larves de tiques infectées en transovarien, soit par des nymphes contaminées à la stase larvaire. Les spirochètes présentes dans le tube digestif migrent jusqu'aux glandes salivaires et sont inoculées avec la salive de tique 2 à 3 jours après l'attachement.¹¹

3. Présentation clinique chez l'homme :

Borrelia burgdorferi si a un tropisme pour de nombreux tissus de l'organisme et par conséquent, la borréliose de Lyme est associée à des atteintes cliniques variées : dermatologiques, neurologiques, articulaires, cardiaques, ophtalmiques ou ORL.

Certaines manifestations semblent plus particulièrement causées par des espèces différentes. En effet certaines atteintes dermatologiques, comme l'acrodermatite chronique atrophiante, sont plus souvent décrites avec *Borrelia afzelii*, les atteintes articulaires avec *Borrelia burgdorferi* ss et neurologiques avec *Borrelia garinii*.^{7, 21-23}

Les différences de présentation clinique entre les Etats-Unis et l'Eurasie semblent découler de cette différence de pathogénicité entre les espèces; *Borrelia burgdorferi* ss étant la seule sous espèce pathogène présente aux Etats-Unis.

Il existe également une différence d'atteinte clinique entre les sexes : l'acrodermatite chronique atrophiante est plus souvent décrite chez les femmes (68,6% des cas) alors que les atteintes extra-cutanées et notamment l'arthrite de Lyme l'est plus chez l'homme (75%)²³. L'incidence de la borréliose de Lyme est bimodale avec un pic à 5-9 ans et un à 55-59 ans.⁶

Cette infection bactérienne évolue à court, moyen et long terme en 3 phases cliniques¹:

- la phase localisée
- la phase disséminée précoce
- la phase disséminée tardive

3.1. Phase localisée

Cette phase est caractérisée par une seule présentation clinique pathognomonique de la maladie : l'érythème migrant. Il s'agit d'une atteinte cutanée circulaire centrée par le point de piqûre de la tique et évoluant de façon centrifuge. Cette lésion est à différencier de l'atteinte inflammatoire très locale qui survient au point de piqûre dans les 48h.²⁴

L'érythème migrant apparait 3 à 180 jours après piqûre avec une médiane à 17 jours, mesure au minimum 5 cm, en moyenne de 10 à 16 cm et peut atteindre plus de 80 cm.²⁵⁻²⁷ Un syndrome pseudo grippal peut accompagner l'éruption : céphalées, asthénie, arthralgies, myalgies, fièvre, lymphadénopathies.²⁸

L'évolution se fait sur une quinzaine de jours aux Etats Unis mais peut se chroniciser notamment en Europe et persister jusqu'à 10 mois.^{25, 29} La présentation clinique varie également selon les espèces : *Borrelia burgdorferi* ss entraîne plus fréquemment un érythème migrant par rapport à *Borrelia garinii* ou *afzelii*, avec plus souvent des symptômes cliniques et biologiques associés.^{30, 31} Par contre les lésions d'érythème migrant décrites avec *Borrelia garinii*, sont plus larges avec une moindre inflammation centrale et moins de signes généraux³⁰; celles décrites avec *Borrelia afzelii* sont similaires en taille à celles décrites avec *Borrelia burgdorferi* ss mais l'évolution est plus longue avec un centre plus clair.³²

Borrelia afzelii est l'espèce le plus souvent isolé dans les biopsies d'érythème migrant en Europe.³³

Histopathologiquement, l'épiderme est normal; le derme est le lieu d'un infiltrat inflammatoire périvasculaire superficiel et profond avec plasmocytes en périphérie et éosinophiles en central.^{25, 34}

Cette atteinte pathognomonique peut être dans 30% des cas, des formes atypiques d'érythème migrant avec une coloration ou une éruption non commune, lésion annulaire interrompue ou aspect hémorragique; dans ces cas la biopsie cutanée pour culture/PCR permet le diagnostic.²⁴⁻²⁶

L'érythème migrant peut également être absent de l'histoire clinique du patient et la maladie peut se déclarer directement à ses phases disséminées.³³

3.2. Phase disséminée précoce

3.2.1. Atteintes dermatologiques

- Érythème migrant multiple (EMM)

L'érythème migrant multiple pose un véritable problème diagnostique car les lésions sont moins caractéristiques que l'érythème migrant unique.³⁵ Il survient chez des patients d'âge moyen (53 ans) au niveau des membres inférieurs et du tronc et est plus commun aux Etats Unis qu'en Europe.^{35, 36} *Borrelia burgdorferi* ss est plus susceptible de causer cette atteinte multiple que *Borrelia garinii* ou *afzelii*.³⁰

La présentation clinique change également selon la répartition géographique, 20% des patients américains ayant un EMM ont plus de 70 lésions cutanées, alors que le nombre moyen de lésions en Europe est inférieur à 6.²⁹

Sa proportion est de 4 à 20% des érythèmes migrants.²⁶

Le diagnostic se fait sur la présentation clinique et la réponse à un traitement antibiotique bien conduit.³⁴ Chez l'enfant, dans une étude ayant inclu 553 patients, l'érythème migrant multiple touche les plus jeunes (4,5 versus 6,5 ans), l'incubation est plus longue (22 versus 13 jours) et les lésions annulaires sont plus fréquentes que pour un érythème migrant unique (99 versus 86%).³⁷

- Lymphocytome borrélien

Le lymphocytome borrélien, causé majoritairement par *Borrelia afzelii* ou *garinii*^{26, 38}, est localisé principalement au niveau du pavillon de l'oreille, du mamelon, du scrotum ou de la face (par ordre de fréquence)³⁹. Cette lésion apparaît 30 à 45 jours après piqûre de tique et jusqu'à 6 mois plus tard. Sa taille varie de 1 centimètre à quelques centimètres de diamètre.⁴⁰

C'est une lésion unique plus fréquente chez l'enfant et qui représente 5% des atteintes dermatologiques de la borréliose de Lyme.^{26, 39} Dermatologiquement, il s'agit d'une plaque violacée à brun-jaune, apparaissant quelques semaines à mois après la contamination. Histologiquement il s'agit d'un pseudo lymphome en réponse aux antigènes borréliens dans la peau.⁴¹

3.2.2. Atteintes neurologiques

Les atteintes neurologiques sont regroupées sous le terme de neuroborrélioses, et sont multiples : méningites lymphocytaires, encéphalites, radiculonévrites sensitives ou motrices⁴², diplégies faciales, ataxies cérébrales ou myélites. Toutes les paires crâniennes peuvent être touchées, l'atteinte de la VIIe paire crânienne est la plus fréquente, des atteintes de la IIIe et Ve paire crânienne ont également été décrites.⁴³

Les encéphalites et les myélites sont des manifestations cliniques plus rares dans la borréliose de Lyme.^{44, 45} La neuroborréliose concerne 15% des patients américains touchés par la borréliose de Lyme, mais est la manifestation la plus fréquente à la phase disséminée précoce chez les patients européens.⁴² Le diagnostic de neuroborréliose est posé grâce à la présence d'anticorps anti-*Borrelia* dans le liquide céphalorachidien (LCR) avec mise en évidence d'une synthèse intrathécale d'anticorps, que ce soit pour les méningoradiculites, les paralysies faciales ou les

méningites de Lyme. *Borrelia garinii* est l'espèce la plus représentée dans cette présentation clinique, mais *Borrelia burgdorferi* ss et *afzelii* peuvent également être à l'origine d'une atteinte neurologique.⁷

Chez l'adulte les symptômes évoluent en moins de 6 semaines pour 82,2% des cas, les méningites sont plus fréquentes chez le patient de moins de 50 ans alors que les polyradiculites le sont plus chez ceux de plus de 50 ans. Il n'y a pas de différence de composition chimique ou cytologique du LCR entre les différentes atteintes cliniques neurologiques. La pléiocytose peut être absente dans de rares cas : à la phase très précoce de la maladie, chez le patient immunodéprimé ou lors d'une paralysie faciale isolée chez l'enfant.⁴⁶

Certaines manifestations sont très précoces dans l'évolution et peuvent survenir concomitamment à l'érythème migrant. Il s'agit des méningites lymphocytaires qui sont plus souvent associées à une infection à *Borrelia garinii* et cliniquement à des douleurs radiculaires et un syndrome méningé lors de l'éruption cutanée.⁴⁷ Elles apparaissent après 7 jours d'évolution, surviennent périodiquement avec un pic de juin à septembre, sont souvent associées à une paralysie d'une paire crânienne et au plan cytologique, les cellules mononuclées prédominent à plus de 70% dans le LCR.⁴⁸

Les paralysies faciales décrites chez l'adulte représentent 2 à 25% des paralysies faciales en zone d'endémie.⁴⁹

Chez l'enfant, les atteintes neurologiques survenant de 4 jours à 3 mois et demi après la piqûre sont les plus fréquentes. Les principales présentations cliniques sont la paralysie faciale⁵⁰ parfois bilatérale⁵¹ ou à bascule et les méningites lymphocytaires sans signes de radiculite, qui peuvent représenter de 50 à 67% des méningites de l'enfant en zone de forte endémie avec une incidence pour ces "méningites de Lyme" à 26 cas/100 000 habitants en période d'activité des tiques.⁵²

⁵³ La neuroborréliose de Lyme est la première étiologie dans les paralysies faciales de l'enfant (30 à 50% des cas) et est liée aux saisons. Dans l'étude de Drack⁵⁴, les paralysies faciales causées par *Borrelia* évoluent par pic au cours de l'année et sont plus fréquentes en juin, août et septembre qu'en hiver.

Vingt et un pour cent de ces patients ont des neuroborrélioses sans signe neurologique clinique systématisé mais avec uniquement des signes généraux à type de céphalées, asthénie, perte de poids, arthralgies et signes gastro-intestinaux. Le diagnostic est suspecté en cas de pléiocytose dans le liquide céphalo-rachidien ou de synthèse intrathécale d'immunoglobulines.⁵⁰

3.2.3. Atteintes cardiaques

Les premières descriptions d'atteinte cardiaque de Lyme ont été décrites par Steere et coll en 1980⁵⁵, elles représentaient 4 à 10% des manifestations cliniques de la borréliose de Lyme chez les patients non traités aux Etats-Unis. L'évolution dans la population est bimodale avec un pic à 5-14 ans et un pic à 44-59 ans.⁵⁶ Plusieurs présentations cliniques sont décrites : troubles de la conduction, atteinte du péricarde, du myocarde et/ou de l'endocarde, défaillance cardiaque.^{1, 56-59} Les troubles de la conduction sont les manifestations cardiaques les plus fréquentes, avec des blocs atrio-ventriculaires de gravité variable, nécessitant pour les cas les plus sévères (bloc atrio-ventriculaire (BAV) de type I avec espace PR>0,3sec, BAV II et III) une prise en charge en unité de surveillance continue de cardiologie avec une antibiothérapie intraveineuse et pour certains patients implantation d'un pacemaker de façon transitoire.^{60, 61} La récupération totale des troubles conductifs se fait à 6 semaines d'évolution en moyenne et de très rares cas de blocs atrio-ventriculaires complets et permanents nécessitent l'implantation définitive d'un pacemaker.⁵⁶ D'autres troubles conductifs sont décrits tels les tachycardies et rythmes jonctionnels, et les tachycardies et fibrillations ventriculaires.^{58, 62-64} Un cas de choc cardiogénique après un bloc atrio-ventriculaire complet est décrit, il est consécutif à une défaillance biventriculaire, avec un épisode de tachycardie ventriculaire.⁶⁵

3.2.4. Atteintes ophtalmiques

L'atteinte ophtalmique est très variée : uvéite, névrite optique, conjonctivite, épisclérite, kératite, inflammation intraoculaire chronique, paralysies oculomotrices.^{43, 66-69} Dans certains cas, l'augmentation de la pression intracrânienne dans la neuroborréliose entraîne un œdème papillaire qui affecte dans la majorité

des cas l'enfant.⁷⁰ À l'inverse de rares cas d'œdème papillaire sans hypertension intracrânienne ont été décrit chez l'adulte.⁶⁷ La sévérité de l'atteinte ophtalmologique est probablement plus causée par la réponse immunitaire consécutive à l'infection que par les dommages causés par les spirochètes.²⁷

3.3. Phase disséminée tardive

3.3.1. Atteintes dermatologiques

L'acrodermatite chronique atrophiante est la principale manifestation du stade disséminé tardif, apparaissant des mois à années après l'infection par *Borrelia afzelii* (beaucoup plus rarement *Borrelia garinii* et *burgdorferi* ss)⁷, dans une population principalement féminine d'âge moyen 63 ans.⁷¹ Son incidence est de 4 cas pour 100 000 habitants.²⁶ Elle se développe au site de piqûre⁷², la plupart du temps sur la face des extenseurs en distalité. Deux phases cliniques sont décrites : la phase filtrante, œdème violacé non inflammatoire, puis la phase d'atrophie, avec un amincissement de la peau en papier de cigarette.⁷³ D'autres formes cliniques sont décrites : télangiectasique, fibreux, et atrophique avec une prédilection pour les zones acrales. Dans 2/3 des cas, l'acrodermatite chronique est associée à une neuropathie périphérique avec allodynie.^{74, 75}

Les variations cliniques sont probablement dues à la variété d'espèces.⁷¹

L'acrodermatite chronique atrophiante au niveau des membres inférieurs est confondue avec de l'insuffisance veineuse chronique et souvent associée à une allodynie et des douleurs nociceptives exagérées.²⁶

3.3.2. Atteintes articulaires

Les arthrites chroniques de Lyme correspondent à la principale manifestation clinique de la phase tardive aux Etats Unis et à l'atteinte historique décrite par Steere en 1977.^{76, 77} Cette manifestation est présente chez 37 à 60% des patients américains non traités initialement et évolue jusqu'à 2 ans après apparition d'un érythème migrant.^{6, 78, 79 22} Les arthrites de Lyme sont des mono voire des oligoarthrites qui touchent surtout les grosses articulations.¹ Dans deux études de 2009 et 2011 les arthrites de Lyme sont localisées au genou dans 85-86% des cas,

à la hanche dans 11-13% des cas, au coude dans 3% des cas et à la cheville dans 0,8% des cas.^{78, 80, 81}

En zone d'endémie (études américaines) et dans la population pédiatrique, 22-51% des arthrites mono-articulaires sont causées par *Borrelia burgdorferi* ss chez des enfants d'âge médian de 7,8ans.^{78, 80, 82-85} Les formes cliniques pédiatriques ont une présentation classique de synovite épisodique ou une présentation d'arthrite aiguë qui peut entraîner une erreur diagnostique.⁸⁶

En Europe l'atteinte articulaire est moins fréquente, causée par *Borrelia burgdorferi* ss. Deux cas d'arthrite de Lyme résistante à une première ligne d'antibiothérapie ont été décrits à *Borrelia garinii* en 2001.⁸⁷

L'évolution sans traitement conduit aux récurrences alors qu'avec traitement 90 à 93% des patients ont une très bonne évolution en 1 à 2 mois. Pour les cas restants, les arthrites de Lyme résistantes à 2 cures d'antibiotiques bien conduites, répondent bien aux corticostéroïdes ainsi qu'au méthotrexate faisant suspecter une réaction immunitaire inappropriée au pathogène, plutôt qu'à une arthrite persistante.^{81, 88}

3.3.3. Atteintes neurologiques

Borrelia garinii peut être la cause de certaines encéphalomyélites chroniques : paraparésie spastique, neuropathie des paires crâniennes ou atteinte cognitive, irritabilité et signes neurologiques focaux.^{89, 90} La myosite orbitaire est également décrite au stade disséminé tardif.⁴³

3.4. Syndrome post Lyme

Il s'agit de symptômes subjectifs d'évolution longue après un traitement adapté contre *Borrelia burgdorferi*. Les symptômes présents sont l'asthénie, les douleurs musculo-squelettiques et les dysfonctions cognitives.⁹¹

Il survient dans la majorité des cas chez l'adulte mais peut être retrouvé chez l'enfant notamment suite à une paralysie faciale. Une étude sur les paralysies faciales causées par *Borrelia burgdorferi* si chez l'enfant, menée en Suède, démontre une absence de séquelles dans 73% des cas, des séquelles neurologiques (à type de paralysies faciales persistantes) dans 19% des cas et des

séquelles sensibles ou motrices possibles dans 8% des cas. Il n'y a pas d'augmentation significative de vertiges, faiblesses d'un membre et signes subjectifs (céphalées, asthénie, troubles de la mémoire ou de la concentration, insomnie..) entre les patients du groupe neuroborréliose versus les témoins.⁴⁶

Chez l'adulte, la persistance de signes neurologiques 6 mois après le traitement d'une neuroborréliose pourrait correspondre à un syndrome post Lyme. Dans plusieurs études, le syndrome post Lyme est caractérisé par plusieurs signes cliniques peu spécifiques : asthénie, troubles cognitifs, myalgies, arthralgies, et altération de la qualité de vie.⁹²⁻⁹⁴ L'étude européenne de Eikland et coll, a évalué les fonctions neuropsychologiques de façon contrôlée avec des tests standardisés chez les patients ayant été atteint de neuroborréliose, 30 mois après traitement. Il y a des différences significatives entre les patients cas et les témoins avec des déficits d'attention, de mémoire et d'articulation verbale.⁴⁴

4. Techniques utilisées pour le diagnostic sérologique :

Mise au point

4.1. Méthodes d'immuno-assay

En 1942, Coons et col, fondent les prémices de l'immuno-histochimie en détectant un matériel antigénique grâce à la fixation spécifique d'un anticorps marqué (dans ce cas à la fluorescéine). Ils se basent sur l'observation qu'un anticorps peut être couplé à un simple composant chimique sans détruire sa capacité spécifique à réagir avec l'antigène.

En 1950 Coons et Kaplan décrivent la méthode d'immunofluorescence permettant de localiser les antigènes dans des tissus cellulaires grâce à des anticorps couplés à une molécule fluorescente, la fluorescéine.⁹⁵ Cette méthode consiste à utiliser une solution d'anticorps fluorescents comme colorant histochimique sur des coupes tissulaires entraînant une interaction antigène anticorps. Il s'en suit une phase de lavage avant visualisation de l'émission fluorescente au microscope. Cette méthode est basée sur la synthèse d'isocyanate de fluorescéine, puis conjugaison de l'isocyanate à l'anticorps par fixation aux hydrates de carbones aromatiques. Les coupes histologiques préparées sont ensuite mises en contact du conjugué ainsi

créé avant visualisation au microscope à fluorescence. Cette idée d'utiliser une substance colorante couplée à un anticorps, pour visualiser des antigènes, vient de Sabin en 1939 (anticorps couplés à un colorant "*purplish-red*").⁹⁶ Les différentes méthodes d'immuno-assay, l'immunofluorescence, la radioimmuno-assay et les méthodes EIA et ELISA, se basent toutes sur des principes identiques, d'interaction antigène-anticorps.⁹⁷

4.1.1. Immunofluorescence indirecte

Cette méthode datant de 1955-57, inspirée de celle de Coons & Kaplan, permet de déterminer la présence d'anticorps en suspension dans du sérum. C'est un test d'inhibition en une étape, l'antigène est exposé à l'échantillon à tester, avant une phase de lavage. L'anticorps marqué par un fluorochrome est ensuite ajouté avant une deuxième phase de lavage puis examen au microscope à fluorescence.⁹⁸ Une des limites de cette technique est la présence de bruit de fond causé par la dispersion de la lumière, faussant les mesures; une des autres limite est le phénomène de *quenching* de fluorescence lié aux changements de pH, polarité, oxydation.⁹⁷

4.1.2. Radio-immuno-assay

La méthode de radioimmuno-assay, découverte par Berson & Yalow en 1968,⁹⁹ exploite la capacité d'un antigène non marqué dans le plasma ou une autre solution à entrer en compétition avec l'antigène marqué pour se fixer à l'anticorps spécifique et inhiber la fixation de l'antigène marqué. Le ratio de l'anticorps fixé aux antigènes marqués diminue lors d'une augmentation de la quantité d'antigènes non marqués. Il y a ensuite comparaison d'émission de rayonnement gamma à une gamme de rayonnements observés pour des concentrations connues d'antigènes.¹⁰⁰ Cette technique a un coût plus élevé, une accessibilité plus limitée que les méthodes d'immuno-assay enzymatiques, nécessite la manipulation d'Iode 131 et donc expose à un risque sanitaire lié à son émission radioactive.^{101, 102}

4.1.3. Méthodes EIA/ELISA

La technique initialement découverte par Engvall et Perlmann en 1971¹⁰³, l'*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*, s'est basée sur la méthode utilisée jusque-là pour réaliser les radioimmuno-assay, associé aux techniques d'immunohistochimie. Il s'agit d'une méthode compétitive. La méthode initiale utilise un antigène marqué par une enzyme, la phosphatase alcaline, qui entre en compétition avec l'antigène d'intérêt de l'échantillon par liaison aux anticorps covalents fixés initialement sur des particules de cellulose. Suit une phase de séparation entre les antigènes fixés et libres par lavage et centrifugation. Le substrat de l'enzyme est ensuite ajouté et entraîne une réaction enzymatique se mesurant au spectrophotomètre qui permet de quantifier de façon inversement proportionnelle à la réaction lumineuse, la quantité d'antigène d'intérêt dans l'échantillon.¹⁰⁴

La méthode initiale de l'ELISA utilisait des tubes à essai¹⁰⁵, rapidement remplacés par des plaques de *coating* puis des microplaques contenant 96 puits¹⁰⁶.

Parallèlement à cette découverte suédoise, la méthode d'enzyme immuno-assay a été développée la même année aux Pays-Bas par Schuurs et Van Weemen¹⁰⁷. Cette méthode inventée pour remplacer la méthode d'*haemagglutination inhibition assay* utilisée pour la détection de l'hormone gonadotrophine chorionique (HCG) humaine, est basée sur l'utilisation d'une autre enzyme, la peroxidase de raifort (*horse radish peroxidase* = HRP). Dans un premier temps, l'antigène d'intérêt l'HCG est couplé à l'enzyme. Un antisérum est réalisé en injectant l'HCG aux lapins. Les anticorps anti-HCG sont fixés à des microcristaux de cellulose. Les échantillons à tester sont mis en contact avec les anticorps anti-HCG, puis incubés. Dans un second temps, il y a adjonction de l'HCG marquée, puis après une nouvelle incubation, et centrifugation, une partie du surnageant est récupéré, dilué et l'activité de l'HRP est visualisée au spectrophotomètre à 450 nm. Il s'agit donc du dosage de la fraction non fixée de l'HCG couplé à l'enzyme qui correspond à la fraction fixée d'HCG de l'échantillon. La quantification de l'activité de HRP au spectrophotomètre, correspond donc à la quantité d'HCG dans l'échantillon.¹⁰⁷

Il est nécessaire pour ces deux méthodes d'élaborer une série de dilution des échantillons test et/ou évaluation de la dégradation du substrat au spectrophotomètre.¹⁰⁸

Plusieurs méthodes d'enzyme immuno-assay découlent de ces découvertes parallèles et des techniques précédemment utilisées en radio-immuno-assay :¹⁰⁹

- L'enzyme immuno-assay (EIA) compétitive pour l'antigène : l'antigène marqué entre en compétition avec l'antigène de l'échantillon pour une quantité limitée d'anticorps. C'est la méthode initiale d'Engvall et Perlmann.¹⁰³
- L'immunoenzymometric assay pour l'antigène : L'antigène de l'échantillon est incubé avec l'anticorps marqué présent en excès. L'antigène en phase solide est ajouté en excès pour réagir avec les anticorps libres restants. Après séparation des phases, la mesure spectrophotométrique de l'activité de la phase liquide permet de quantifier les antigènes de l'échantillon.¹¹⁰
- La méthode d'EIA sandwich pour l'antigène : l'antigène réagit avec des anticorps en excès fixés sur une phase solide. Après incubation, phase de lavage et ajout d'un deuxième anticorps marqué, reconnaissant l'antigène, il y a une deuxième phase de lavage avant mesure colorimétrique. Cette méthode permet la mesure directe de la quantité d'antigènes présents dans l'échantillon. Elle nécessite la présence de 2 épitopes sur l'antigène d'intérêt.¹¹¹
- La méthode EIA pour les anticorps : cette méthode est identique à celle décrite dans la méthode sandwich pour l'antigène à part le fait que l'antigène soit fixé en excès sur la phase solide pour détecter l'anticorps cible. La révélation se fait grâce à un anticorps secondaire marqué, anti-anticorps cible.¹¹²

Ces méthodes d'enzyme immuno-assay sont utilisées dans de très nombreux domaines en virologie ¹¹³, en parasitologie ^{106, 114}, en bactériologie ¹¹⁵ et dans d'autres domaines non "infectiologiques" (endocrinologie, gastroentérologie..) ¹⁰⁸... 107 187 articles ont été publiés jusqu'à présent sur ce sujet (recherche Pubmed, du 28 juillet 2013), et plus de 100 licences déposées utilisent ces techniques. ¹¹⁶

4.2. Western-blot et immunoblot

La technique de Western-blot, qui correspond à un transfert protéique, a été inventée par Burnette et publiée pour la première fois en avril 1981.¹¹⁷ Elle fait écho à la technique de Southern-blot, inventée par Edwin Southern en 1971, qui permettait la séparation des nucléotides et oligonucléotides par migration sur cellulose imprégné de polyéthylèneimine.¹¹⁸ L'objectif du Western-blot est d'identifier, quantifier et déterminer la taille de protéines spécifiques.

Cette méthode se base sur la production d'un réplica de protéines, qui ont été séparées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide puis transférées sur une membrane de nitrocellulose, membrane qui est mise au contact d'un antisérum pour la détection de protéines spécifiques.^{119, 120}

La technique de Western-blot se décompose en plusieurs étapes :^{121, 122}

- l'extraction protéique et la préparation de l'échantillon : l'extraction se fait par lyse cellulaire et l'échantillon est chauffé pour obtenir une dénaturation protéique; toutes les protéines sont chargées négativement après dénaturation.
- la séparation sur gel d'électrophorèse se fait selon le poids moléculaire, le point isométrique, ou la combinaison des deux, avec migration protéique vers la cathode.
- le transfert sur membrane de nitrocellulose (le plus courant), la membrane étant placée entre le gel et une électrode positive.
- l'étape de blocage par sérum albumine bovine ou lait écrémé dilué pour empêcher les fixations non spécifiques d'anticorps.
- l'ajout des anticorps primaires, spécifiques des protéines d'intérêt, suivi d'une première phase de lavage.
- l'ajout des anticorps secondaires marqués, puis une deuxième phase de lavage.
- révélation des anticorps marqués, détection par colorimétrie, fluorescence, ou radioactivité.

L'immunoblot correspond à la fixation des protéines d'intérêt et au test des anticorps présents dans le sérum.

5. Diagnostic de la borréliose de Lyme

Depuis la découverte de la bactérie *Borrelia burgdorferi* sl en 1981 par Willy Burgdorfer, un des enjeux principaux de la borréliose de Lyme a été son diagnostic. Le diagnostic de cette pathologie est un diagnostic multifactoriel, à la fois clinique, corrélé à une histoire de la maladie compatible et à un diagnostic biologique concordant.⁸⁹

A la phase localisée, avec une présentation d'érythème migrant typique, aucun examen complémentaire n'est nécessaire.¹²³

Le diagnostic direct peut se faire par plusieurs méthodes : par microscopie, par détection d'acides nucléiques/protéines spécifiques (*Polymerase Chain Reaction*) ou par culture. La microscopie est peu sensible du fait de la rareté de *Borrelia* dans les échantillons analysés.¹²⁴ La culture bactérienne à partir de peau, sang ou LCR sur milieu de Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) est laborieuse, l'incubation se fait à 30-34°C en milieu micro-aérophile et dure souvent 12 semaines, pendant lesquelles il y a une vérification hebdomadaire des cultures pour détecter leur positivité.¹²⁴ La visualisation bactérienne à l'examen direct après coloration de Gram est impossible, *Borrelia* est visible uniquement à l'état frais sur microscope à fond noir et nécessite donc un matériel adapté.¹²⁵ Cet examen est par contre le seul confirmant l'infection active causée par *Borrelia burgdorferi* sl.¹²⁴

La *Polymerase Chain Reaction* (PCR) spécifique de *Borrelia* a été développée en 1989.¹²⁴ Elle est utilisée pour la recherche de la bactérie dans les liquides de ponction articulaire avec une bonne sensibilité (66 à 83%), dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) avec une moindre sensibilité (23 à 76%) et dans quelques cas dans les biopsies cutanées chez des patients atteints d'érythème migrant atypique ou d'acrodermatite chronique atrophiante (sensibilité de 36 à 88%).^{1, 123-126} La PCR sanguine a une mauvaise sensibilité (18,4%) et n'est positive qu'à la phase précoce de l'infection au stade d'érythème migrant, elle a donc peu d'intérêt en pratique courante.^{124, 127}

Les diagnostics sérologiques (ou diagnostics indirects) du plasma et du LCR constituent dès lors la clef du diagnostic biologique de la borréliose de Lyme, dès la phase disséminée précoce de la maladie.¹

Cet examen est positif chez 20 à 50% des patients à la phase localisée alors que sa positivité atteint 70 à 90% et 100% aux phases disséminées précoce et tardive.¹²⁵ Historiquement les premières sérologies ont été réalisées par méthode immunofluorescence indirecte puis *Enzyme Immuno-assay* (EIA) et *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) puis dans un deuxième temps un Western-blot de deuxième intention a été utilisé.

Les titres d'anticorps persistent des mois voire années dans le sang malgré un traitement bien conduit, la réponse IgM ne peut donc pas être la démonstration d'une infection ou réinfection récente si l'histoire de la maladie ainsi que les signes cliniques ne concordent pas.⁹¹ La répétition de sérologies pour vérifier l'efficacité du traitement ou la guérison n'a donc aucun intérêt.^{1, 90, 123}

Différentes sources antigéniques peuvent être utilisées pour la réalisation des techniques d'immuno-assay (immunofluorescence/ELISA) ou de Western-blot :

- à partir de bactéries entières lysées : "*whole cell sonicated*"
- à partir d'antigènes bactériens purifiés
- à partir d'antigènes recombinants

Ou l'association de deux de ces techniques.

Dans certains cas, l'absorption préalable des sérums testés par des antigènes de *Treponema* est réalisée pour augmenter la spécificité du test utilisé.

/DEUXIEME PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE

1. Introduction

Pour rappel, *B. burgdorferi* ss est la seule espèce présente sur le continent américain, alors que *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* et à moindre niveau *B. spielmanii*, le sont en Europe.^{7, 125} Il y a une grande variabilité antigénique d'une espèce à l'autre, d'un stade à l'autre, d'une protéine à l'autre.¹²⁸ L'important dans ces études épidémiologiques est de tenir compte également de l'écologie nationale/locale, car une même espèce n'est pas présente partout et à la même incidence en Europe (tableau 1).

Une des difficultés dans le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme est la variabilité antigénique d'une espèce à une autre mais également parfois d'une souche à une autre. Les passages bactériens nombreux (c'est à dire le nombre de fois où la souche a été "repiquée") modifient également les conformations et compositions protéiques et peuvent entraîner une variabilité de la réponse en ELISA/IFA versus en Western-blot selon les antigènes utilisés. Les difficultés diagnostiques surviennent principalement en Europe où la variabilité d'espèces et d'incidence de la maladie selon les régions/pays, est grande. L'analyse des différentes études sérologiques nécessite de tenir compte de l'écologie locale, des espèces présentes et de l'incidence de la maladie dans la population.

Dans ce travail les études européennes et américaines ont été séparées pour l'analyse des résultats car peu superposables du fait de la diversité antigénique chez les patients entre les deux continents.

D'un point de vue statistique, la sensibilité d'un test correspond à la capacité d'identifier correctement comme malades ceux qui ont la maladie; la spécificité, la capacité d'identifier les non malades parmi ceux qui n'ont pas la maladie. Un test avec une forte sensibilité entrainera peu de faux négatifs alors qu'un test avec une spécificité élevée, entrainera peu de faux positifs. Un test très sensible permet d'éviter un retard diagnostic.^{129, 130} Un test biologique à spécificité élevée permet, s'il est positif, de confirmer l'hypothèse diagnostique, alors qu'un test à sensibilité

élevée négatif élimine le diagnostic. Sensibilité et spécificité varient en sens inverse, quand l'une augmente, l'autre baisse.

L'objectif de l'étude était d'évaluer les différences intrinsèques des tests d'immuno-assay comparés au Western-blot, pour définir le meilleur examen ou la meilleure association d'examens permettant le diagnostic le plus juste avec le moins de faux négatifs et positifs.

2. Matériels et méthodes

Type d'étude :

Il s'agissait d'une revue de la littérature des articles concernant le diagnostic sérologique sanguin de la borréliose de Lyme, dans une population suspecte d'être atteinte de borréliose de Lyme, en employant les méthodes d'immuno-assay et Western-blot.

Sources utilisées :

Il s'agissait d'articles publiés dans la littérature scientifique en langue anglaise.

Quatre bases de données ont été utilisés "Pubmed" (*US National Library of Medicine National Institutes of Health*), "Hinari" (le programme d'accès à la recherche dans le domaine de la santé de l'organisation mondiale de la santé) et les références accessibles par version électronique ou papier de la bibliothèque interuniversitaire de santé de Paris et de la bibliothèque de médecine de l'hôpital Armand Trousseau (dépendante de la faculté de médecine Pierre et Marie Curie de Paris).

L'analyse exhaustive de la littérature a été faite initialement via le moteur de recherche Pubmed; les articles étaient extraits en globalité via Pubmed (accès libre) ou grâce au moteur de recherche Hinari ou grâce aux ressources des bibliothèques universitaires de Paris.

Les mots clefs utilisés pour la réalisation de ce travail sont répertoriés dans le tableau 2. La recherche a été exhaustive correspondant au thème. Les sources utilisées de ces articles ont été vérifiées, en reprenant les articles princeps cités dans l'article original.

Tableau 2 : mots clefs analysés dans Pubmed.

Mots clefs utilisés dans Pubmed
"Immunoblot" "Lyme"
<i>"Western blot in the serodiagnosis of Lyme disease"</i>
<i>"Comparison of Western Blot and ELISA for the serodiagnosis of Lyme disease"</i>
Western blot (<i>Title</i>) & Lyme borreliosis (<i>Title</i>)
Western Blot (<i>Title</i>) & Lyme borreliosis
Western Blot (<i>Title</i>) & <i>Borrelia burgdorferi</i>
Western Blot (<i>Title</i>) & <i>Borrelia</i> (<i>Title</i>)
Western blot (<i>Title</i>) & diagnosis of Lyme borreliosis
Immunoblot (<i>Title</i>) & Lyme borreliosis (<i>Title</i>)
Immunoblot (<i>Title</i>) & <i>Borrelia</i> (<i>Title</i>)

Bornes de temps :

Tous les articles parus dans la littérature sur ce thème ont été inclus jusqu'au 18 août 2013.

Critères d'inclusion des articles :

- articles concernant des études de la sérologie de Lyme avec étude de la place du Western-blot dans ce sérodiagnostic
- ET articles concernant des études originales (après contrôle des sources)
- ET patients suspects de borréliose de Lyme

Critères d'exclusion :

Les méta analyses, revues de la littérature, reprises d'études antérieures, et tous les articles qui n'étaient pas des articles de recherche clinique ou fondamentale (éditoriaux, lettre à la rédaction) ont été exclus mais ont été utilisés lors de la discussion. Les études concernant l'évaluation des ces tests sérologiques dans le cadre du dépistage, et notamment concernant l'évaluation de la séroprévalence dans une population donnée ont été exclues.

Détails du recueil de données :

Les informations répertoriées pour chaque étude analysée étaient : l'origine géographique, le stade de la maladie étudiée, la méthode de choix des cas, le type de test sérologique étudié (*Whole sonicate*, antigènes recombinants ou purifiés), la souche bactérienne et les antigènes utilisés, les règles de positivité du test, le nombre de cas positif selon le test (en IgM et IgG ou IgM+G), le nombre de témoins positifs à risque de réactivité croisée, le type de témoins inclus (réactivité croisée), le nombre de témoins sans antécédents connus (donneurs de sang), la sensibilité/spécificité du test en IgM/IgG, et le nombre total d'échantillons testés par méthode sérologique.

3. Résultats

Cinq cent quatre vingt un articles ont été étudiés. Seize études étaient spécifiquement des études prospectives ou rétrospectives évaluant les caractéristiques (sensibilité, spécificité) des techniques d'immuno-assay et de Western-blot dans le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme chez des patients suspects d'être malades. Les détails concernant cette recherche sont répertoriés dans le tableau 3.

Mots clefs utilisés dans Pubmed	Nombre d'articles analysés	Date de recueil des articles
"Immunoblot" "Lyme"	262	13 juin 2013
"Western blot in the serodiagnosis of Lyme disease"	168	14 juin 2013
"Comparison of Western Blot and ELISA for the serodiagnosis of Lyme disease"	18	14 juin 2013
Western blot (Title) & Lyme borreliosis (Title)	12	14 août 2013
Western Blot (Title) & Lyme borreliosis	31	15 août 2013
Western Blot (Title) & <i>Borrelia burgdorferi</i>	21	17 août 2013
Western Blot (Title) & <i>Borrelia</i> (Title)	6	17 août 2013
Western blot (Title) & diagnosis of Lyme borreliosis	26	17 août 2013
Immunoblot (Title) & Lyme borreliosis (Title)	11	18 août 2013
Immunoblot (Title) & <i>Borrelia</i> (Title)	26	18 août 2013

Tableau 3 : Nombre d'articles correspondant aux mots clefs de cette étude

Pour l'analyse des résultats, devant une variabilité de souches et par conséquent, une possibilité de variation antigénique importante, les patients issus d'études européennes et américaines ont été séparés en 2 groupes.

En EUROPE

Neuf études¹³¹⁻¹³⁹ correspondaient aux critères d'inclusion et ont été publiées entre 1990 et 2012. Ces études ont été réalisées dans plusieurs pays européens endémiques pour la borréliose de Lyme : la Suède¹³¹, l'Allemagne^{132, 134}, la Suisse¹³³, les Pays-Bas^{135, 136, 138}, la Slovénie¹³⁷ et la Belgique¹³⁹.

Une étude évaluait immunofluorescence et Western-blot à la phase d'érythème migrant,¹³⁷ dans 2 autres études seuls les cas de neuroborrélioses étaient inclus.^{131,}

¹³⁴ Les 6 autres publications étudiaient les réactions sérologiques à tous les stades

(dans 4 études il y avait une séparation entre stade précoces et tardifs) ^{132, 134-136}. L'objectif de toutes ces études était d'évaluer les caractéristiques telles que sensibilité et spécificité, permettant par la suite de définir la place de chacun des tests réalisés dans le diagnostic sérologique sanguin de la borréliose de Lyme. Chaque étude réalisée utilisait des tests sérologiques différents (Immunofluorescence, EIA, ELISA, et Western-blot); l'antigène était produit soit à partir de bactéries complètes soniquées, soit à partir d'antigènes purifiés, soit à partir de protéines recombinantes d'une ou de plusieurs espèces différentes de *Borrelia* soit par association de deux de ces méthodes, avec ou sans hémagglutination ou pré-absorption pour *Treponema*, qui peut croiser avec les protéines de surface de *Borrelia*.

Les tableaux 4A, 4B, 5A et 5B, synthétisent les caractéristiques de chacun de ces tests (par étude) pour les études européennes.

- Etude européenne à la phase précoce de la borréliose de Lyme

Une étude slovène, de Ruzic-Sabljić et coll¹³⁷ (2002), concernait le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme à sa phase la plus précoce et pathognomonique de la maladie, l'érythème migrant (tableaux 4B et 5B). Les techniques d'immunofluorescence et de Western-blot étaient comparées en terme de sensibilité et spécificité (IgM et IgG). Le gold standard était le critère clinique avec présence d'un érythème migrant au moment de la sérologie. La sensibilité par l'immunofluorescence (IFA) (avec une souche de *B. afzelii*) était de 1,7% en IgM et 2,5% en IgG, alors que celle du Western-blot (protéines recombinantes, à partir de *B. afzelii* et *B. garinii*) était respectivement de 48 et 31% en IgM et IgG. La spécificité n'était pas calculée mais pouvait être déduite par une simple soustraction des informations données dans l'étude. En effet, tous les cas positifs pour ces deux méthodes étaient répertoriés, il suffisait de déduire les cas positifs en IFA et Western-blot chez la population contrôle pour avoir les spécificités de ces tests. En IFA, la spécificité déduite était de 100% en IgM et 98% en IgG, alors qu'elle n'était que de 78% en Western-blot IgM et 73% en Western-blot IgG.

Le Western-blot était significativement plus sensible ($p < 0,0001$) mais moins spécifique (p non calculé).

Tableau 4A : Caractéristiques techniques des études européennes de 1990 à 1999.
(NB : neuroborréliose)

Référence	Origine géographique	Stade de la maladie étudiée	Méthode de choix des cas	Test sérologique utilisé	Souche/ Antigènes cibles	Règles de positivités du test
KARLSSON 1990	Suède	Neuroborréliose	Clinique+Biologique (pléiocytose du LCR)	ELISA	Antigène flagellaire purifié de <i>B. burgdorferi</i>	IgM DO=0,8 IgG DO=0,6
				Western blot IgM et IgG	<i>B. burgdorferi</i> souche SL42	IgM ou IgG p41 +≥1 bande parmi 18, 21,5 et 23 kDa
WILSKE 1993	Allemagne	Tous les stades, séparation aigu/chronique	Clinique+Biologique (Index sérique LCR≥2)	IFA adsorbée	<i>B. burgdorferi</i> souche Pko	≥1:32 IgM ou G
				FLA-ELISA OGP-ELISA	FLA-ELISA : Flagelline native de <i>B. burgdorferi</i> souche ACA1 OGP-ELISA : <i>B. burgdorferi</i> souche Pko	cut-off variable selon les donneurs sains (99° percentile en IgM et 96° en IgG)
				Western blot recombinant	p100, flagelline, p41, OspA (41), OspC (22) (clonage protéique)	Analyse bande par bande +≥1 bande spécifique
RYFFEL 1998	Suisse	Tous les stades	Clinique + Screening ELISA IgG+M positif	Western blot	<i>B. garinii</i> souche V102	IgM : selon l'intensité bande + OspC + Flagelline IgG : selon intensité bande et ≥3 bandes
KAISER 1999	Allemagne	Tous les stades, séparation aigu/chronique	NB et hemagglutination+IFA positifs	EIA sonicated+ pré-absorption	<i>B. burgdorferi</i> ss souche GeHo	+ de 2DS de la médiane de 80 donneurs sains
			NB et hemagglutination+IFA positifs	RECO-EIA	Protéines recombinantes de <i>Borrelia</i>	+ de 2DS de la médiane de 80 donneurs sains
			NB et hemagglutination+IFA positifs	Western blot	<i>B. burgdorferi</i> ss souche GeHo	IgM + ≥3bandes, IgG + ≥3bandes critères Engström critères Hauser
GOOSSENS 1999	Pays-Bas	Tous les stades, séparation aigu/chronique	Clinique	11 EIA	Préparations Antigènes, vs protéines recombinantes et Whole sonicated	varie selon les fabricants
			Clinique	2 Western blot en IgM+G (un allemand, Genzyme, un américain, MRL)	whole sonicated	Genzyme IgM ou IgG+ si≥2 (83, 39, 34, 31, 25, 22, 20 ou 18kDA) MRL IgM + si réactivité 23 et/ou39kDA IgG + ≥4 bandes (93, 45, 41, 39,37,23 ou 21kDa)

Tableau 4B : Caractéristiques techniques des études européennes de 1999 à 2012.
(EM : érythème migrant)

Référence	Origine géographique	Stade de la maladie étudiée	Méthode de choix des cas	Test sérologique utilisé	Souche/ Antigènes cibles	Règles de positivities du test
BLAAUW 1999	Pays-Bas	Tous les stades, séparation actif/ancien	Clinique	ELISA IgG (avec hémagglutination pour T. pallidum)	<i>B. burgdorferi</i>	pas de précisions
				Western blot IgG	<i>B. burgdorferi</i>	≥4 bandes ou 3 bandes parmi 11, 22, 39 ou 92 kDa
RUZIC-SABLJIC 2002	Slovénie	Précoce (EM)	Clinique (EM)	IFA	<i>B. afzelii</i> souche SA/91	+ Titres ≥ 1:512
				Western blot	Western blot Microgen : protéines recombinantes (p100, p41, p39, OspA, OspC, p18, p41 de <i>B. afzelii</i> et <i>B. garini</i>)	selon le fabricant
ANG 2011	Pays-Bas	Tous les stades	Clinique	8 ELISA : 3 sonicated, 3 Sonicated+VlsE, 2 recombinant	variable selon les fabricants (pas de précisions)	selon les données du fabricant
				5 Western blot : 1 whole cell, 1 whole cell+VlsE, 3 recombinants	idem	idem
BUSSON 2012	Belgique	Tous les stades (diagnostics certains)	Clinique (+sérologie antérieure positive)	Chemiluminescent immunoassay IgM/IgG	OspC et VlsE	selon le cut-off des fabricants
				ELISA IgM/IgG (+VlsE)	IgM recombinant antigènes <i>B. burgdorferi</i> ss, <i>B. afzelii</i> , <i>B. garinii</i> IgG idem+ VlsE	idem
				10 Western blot (en IgM et IgG)	Mix antigéniques de plusieurs espèces, <i>B. afzelii</i> , <i>B. garini</i> , <i>B. burgdorferi</i> ss et <i>B. spielmanii</i> (1Western blot). 1Western blot avec 1 bande EBV; 1Western blot avec 1 bande Treponema	selon les fabricants

Tableau 5A : Caractéristiques statistiques des études européennes de 1990 à 1999.

Référence	Stade de la maladie étudiée	Test sérologique utilisé	Diagnostics, réactivité croisée	Sensibilité	Spécificité	Nombre total d'échantillons testés
KARLSSON 1990	Neuroborréliose	ELISA	Méningite, encéphalite non borrélienne	74% (IgM ou IgG)	86% (déduite d'après les faux positifs)	112
		Western blot IgM et IgG	Idem	78% (IgM ou IgG)	82% (déduite d'après les faux positifs)	112
WILSKE 1993	Tous les stades, séparation aigu/chronique	IFA adsorbée	syphilis, EBV, facteur rhumatoïde	IgM : 23% IgG : 76%	IgM : 97% IgG : 97%	276
		FLA-ELISA OGP-ELISA	Idem	FLA-ELISA : IgM 36%, IgG 71% OGP-ELISA : IgM 46%, IgG 60%	FLA-ELISA : IgM 96% IgG 94% OGP-ELISA : IgM+G 97%	276
		Western blot recombinant	Idem	IgM 13 à 43% IgG 14 à 51%	IgM 97 à 99% IgG 94 à 99%	276
RYFFEL 1998	Tous les stades	Western blot	syphilis (12) EBV (9) Autoimmunité (29)	En IgG+M : EM 90%, NB 92%, ACA 96%, 100% arthrites	En IgG 88% (tous patients confondus)	en IgM 346 en IgG 394
KAISER 1999	Tous les stades, séparation aigu/chronique	EIA sonicated+ pré-absorption	Neurosyphilis (20) EBV (20)	IgM 53%, IgG 52%	en IgM et IgG 67,5 à 100%	216
		RECO-EIA	Idem	IgM 84%, IgG 80%	en IgM et IgG 82,5 à 100%	216
			Idem	Engström IgM 29%, IgG 27% Hauser IgM 64%, IgG 54%	en IgM et IgG Engström 65 à 100% Hauser 65 à 100%	216
GOOSSENS 1999	Tous les stades, séparation aigu/chronique	11 EIA	EBV, CMV, polyarthrite rhumatoïde, anticorps anti nucléaires, syphilis, VIH	ELB IgM 31 à 81% IgG 31 à 69% LLB IgM 46 à 69% IgG 54 à 92%	IgM 75 à 89% IgG 84 à 98% (contrôles)	229
		2Western blot en IgM+G (un D, un US)	Idem	ELB IgM 46 à 50% IgG 4 à 27% LLB IgM 54 à 62% IgG 46%	IgM 80 et 90% et IgG 91 et 100% (contrôles)	229

Tableau 5B : Caractéristiques statistiques des études européennes de 1999 à 2012.
(EM : érythème migrant)

Référence	Stade de la maladie étudiée	Test sérologique utilisé	Diagnostics, réactivité croisée	Sensibilité	Spécificité	Nombre total d'échantillons testés
BLAAUW 1999	Tous les stades, séparation actif/ancien	ELISA IgG (avec hémagglutination pour <i>T. pallidum</i>)	sypphilis, leptospirose, maladies dysimmunitaires	51% (/49 anciens) 100% (/10 actifs)	/	103
		Western blot IgG	Idem	72% (/49 anciens) 100% (/10 actifs)	/	103
RUZIC-SABLJIC 2002	Précoce (EM)	IFA	/	IgM 1,7% IgG 2,5%	/	212
		Western blot	/	IgM 48% IgG 31%	/	212
ANG 2011	Tous les stades	8 ELISA : 3 sonicated, 3 Sonicated+VlsE, 2 recombinant	Syphilis, infection à <i>M. pneumoniae</i>	34 à 64%	62 à 100% (contrôles)	89
		5 Western blot : 1 whole cell, 1 whole cell+VlsE, 3 recombinants	Idem	/	/	31
BUSSON 2012	Tous les stades (diagnostics certains)	Chemiluminescent immunoassay IgM/IgG	sypphilis, leptospirose, EBV, fièvreQ, <i>B. henselae</i> , <i>Rickettsia</i> , grossesse, paludisme, lupus, toxoplasmose, rubéole, CMV, HSV	Screening tests en IgM 92,3 à 100% en IgG 100%	Screening tests IgM 67,11 à 91% IgG 91 à 97,4%	196
		ELISA IgM/IgG (+VlsE)	idem	Screening tests en IgM 92,3 à 100% en IgG 100%	Screening tests IgM 67,11 à 91% IgG 91 à 97,4%	196
		10 Western blot (en IgM et IgG)	idem	en IgM 95 à 100% en IgG 100%	en IgM 76 à 96% en IgG 94,8 à 99%	196

- Etudes européennes à toutes les phases de la borréliose de Lyme

L'étude la plus ancienne (datant de 1990), était une étude suédoise, celle de Karlsson.¹³¹ Elle évaluait les caractéristiques de l'ELISA versus le Western-blot sur le sang dans la neuroborréliose (tableaux 4A et 5A). Le gold standard était la présentation clinique compatible avec une neuroborréliose associée à une pléiocytose du liquide céphalo-rachidien. La sensibilité était de 74% en ELISA (IgM et IgG confondus) alors que celle en Western-blot était de 78%. En IgM, le Western-blot était plus sensible que l'ELISA (68 versus 40%) de façon significative ($p=0,002$), mais pas en IgG ou en combinant IgM et IgG. La spécificité de ces tests n'était pas calculée pour la population générale. Seuls les patients positifs pour l'un ou l'autre de ces tests avec un diagnostic différentiel prouvé étaient évalués (méningites, encéphalites non borréliennes). Il y avait 14% de faux positifs dans ce groupe en ELISA contre 18% en Western-blot (p non calculé).

Dans l'étude de Wilske et coll (1993),¹³² un test en IFA était comparé à deux tests ELISA (FLA-ELISA et RECO-ELISA) et un Western-blot (tableaux 4A et 5A). Tous les stades de borréliose de Lyme étaient inclus à l'étude. Le gold standard était clinique (sauf pour les neuroborrélioses où il était mixte clinique et biologique). La sensibilité mesurée de ces quatre tests était meilleure en technique immuno-assay (60 à 76%) qu'en Western-blot IgG (14 à 51%) et comparable en Western-blot IgM. La spécificité de ces quatre tests dans la population générale était par ailleurs comparable en IgM et IgG. Lors de l'évaluation des faux positifs parmi les patients à risque d'avoir une pathologie croisant avec une borréliose de Lyme, le nombre de faux positifs en FLA-ELISA était plus important qu'en IFA et qu'avec la méthode RECO-ELISA et non évalué en Western-blot. L'analyse des 4 tests sérologiques utilisés s'était faite sans comparaison de sensibilité/spécificité entre ces différents tests.

Le Western-blot étudié dans cette étude était difficilement comparable à une autre méthode diagnostique car analysé bande positive par bande positive et non selon des règles précises de positivité du test (selon le nombre/type de bandes positives).

Il y avait un biais de sélection des patients car ceux suspects de neuroborréliose étaient sélectionnés selon la synthèse intra-thécale d'immunoglobulines, ce qui entraînait une absence d'indépendance des tests étudiés.

Dans l'étude de Ryffel et coll¹³³ (1998) la méthode Western-blot était comparée à une méthode ELISA, associée à la clinique, qui correspondait au gold standard (tableaux 4A et 5A). La sensibilité, tous diagnostics confondus, était de 50% en IgM et 84% en IgG. En associant les résultats obtenus en IgM+IgG et en séparant selon la forme clinique, la sensibilité augmentait : 90% dans l'érythème migrant, 92% dans les neuroborrélioses, 96% dans les acrodermatites chroniques atrophiantes et 100% dans les arthrites de Lyme. La spécificité (calculée uniquement en IgG) était de 88% tous diagnostics confondus (pathologies pouvant croiser avec le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme).

Dans cette étude, le Western-blot était plus sensible que spécifique, il pourrait donc convenir au diagnostic initial de la borréliose de Lyme par ces qualités.

Un biais de sélection) de cette étude était le gold standard utilisé : il s'agissait d'un test ELISA positif associé à une présentation clinique compatible avec la borréliose de Lyme. La méthode Western-blot n'avait pas été analysée de façon indépendante par rapport à la méthode ELISA.

Les patients témoins inclus étaient des patients atteints de maladie pouvant croiser avec *Borrelia* et non des patients qui cliniquement avaient des présentations proches de borréliose de Lyme. Un autre biais de sélection était l'analyse seulement d'une partie des échantillons en IgM.

Dans l'étude de Blaauw et coll¹³⁶ (1999), l'objectif de l'étude était de définir l'intérêt du Western-blot dans le cadre du sérodiagnostic et sa place dans une méthode de diagnostic en 2 étapes (tableaux 4B et 5B). Le *gold standard* pour inclure les patients dans l'étude était la présentation clinique évaluée par des médecins rhumatologues, mais on se rend compte qu'ils analysaient ou pas les sérums en Western-blot selon les résultats initiaux en ELISA et non de façon indépendante.

Il y avait eu uniquement des recherches d'IgG en Méthode ELISA et Western-blot. Tout ELISA positif était testé par hémagglutination pour *Treponema pallidum* pour éliminer une réaction croisée liée à une syphilis.

L'étude incluait des patients avec antécédents de borréliose de Lyme, avec borréliose de Lyme active ou sans antécédent de borréliose de Lyme. Chez les patients aux antécédents de borréliose de Lyme, 51% avaient un ELISA IgG positif, contre 100% de ceux avec une borréliose de Lyme active cliniquement et 27% sans antécédents. Les sérums positifs en ELISA étaient testés secondairement en Western-blot IgG. Concernant les patients présentant des antécédents de Lyme, 72% avaient un Western-blot positif, ceux ayant une présentation clinique de borréliose de Lyme étaient tous positifs, et 58% des patients faux positifs en ELISA l'étaient aussi en Western-blot. La spécificité des tests n'était pas calculée.

Les auteurs concluaient à l'inutilité du Western-blot dans le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme alors que tous les échantillons n'étaient pas analysés et que peu de patients étaient inclus.

Un des points de cette étude qui semblait discordant, était la faible spécificité du Western-blot constatée lors de l'analyse des faux positifs en ELISA. En effet la spécificité de ce test était de 98% (annoncée dans le matériels et méthodes) alors que 58% des patients faux positifs en ELISA l'étaient aussi en Western-blot.

Dans l'étude de Goossens et coll¹³⁵ (1999), 11 tests EIA étaient analysés parallèlement à 2 Western-blot IgM et IgG (un fabriqué en Allemagne par Genzyme®, un fabriqué aux Etats Unis par MRL®) (tableaux 4A et 5A). Cette étude analysait tous les tests sérologiques industriels disponibles sur le marché européen à cette époque. Les sensibilités en EIA variaient de 31 à 81% en phase précoce, et 46 à 92% en phase tardive (IgM et IgG associés), alors qu'en Western-blot elles variaient de 4 à 50% en phase précoce et 46 à 62% en phase tardive (IgM et IgG associés). Ces variations au sein de la même méthode étaient très probablement liées aux différences d'antigènes utilisés pour chaque test. Les spécificités calculées chez les donneurs de sang sains étaient dans les mêmes proportions en EIA et Western-blot, de même que celles calculées chez les témoins malades (infection par CMV, EBV, polyarthrite rhumatoïde, anticorps anti-nucléaires positifs, syphilis, VIH).

En analysant de façon séparée les Western-blot fabriqués en Allemagne et aux Etats Unis, la sensibilité était meilleure pour le Western-blot allemand en IgM et en IgG à la phase précoce en comparaison au Western-blot américain et inversement pour la spécificité chez les témoins malades. On pouvait constater une grande diversité de sensibilité et de spécificité des différents tests entre eux autant en EIA qu'en Western-blot et en IgM et IgG, ne permettant pas de conclure sur la supériorité d'une technique plutôt qu'une autre dans le diagnostic sérologique de la borréliose de Lyme.

Dans l'étude de Kaiser et coll¹³⁴ (1999), comme dans l'étude de Karlsson¹³¹, seuls les patients atteints de neuroborréliose étaient inclus dans l'étude selon des critères cliniques associés à un test en hémagglutination passive positif et en immunofluorescence positif (utilisant la souche *B. burgdorferi* ss, GeHo comme antigène) (tableaux 4B et 5B). Un test EIA avec protéines provenant de bactéries soniquées (et pré-absorption), était comparé à un test EIA avec protéines recombinantes et à un Western-blot analysé selon différentes règles (selon les auteurs, selon Engstrom¹⁴⁰ et selon Hauser¹²⁸). La sensibilité des tests était analysée et séparée selon les phases précoces et tardives : elle variait en EIA avec antigènes soniqués de 53 et 52% en IgM et G quelque soit le stade de la maladie, alors qu'en EIA avec antigènes recombinants, elle variait de 84 à 80% en IgM et G. L'EIA recombinant (RECO-EIA) était le test diagnostique avec la meilleure sensibilité de façon globale en IgM et G dans toutes les phases et également de façon particulière en séparant réaction de type IgM et IgG selon la phase précoce ou tardive.

En Western-blot, les sensibilités variaient en IgM et G entre 29 et 27% selon les critères d'Engstrom¹⁴⁰ et 64 et 54% selon les critères de Hauser.¹²⁸

La spécificité était définie pour chaque groupe de témoins en IgM et en IgG : volontaires sains, patients atteints de neuro-syphilis, et patients infectés par EBV. Elle était de 67,5 à 100% en EIA avec antigènes soniqués, de 82,5 à 100% en EIA avec antigènes recombinants et de 65 à 100% en Western-blot selon les critères de Engstrom ou de Hauser, les valeurs de spécificité de ces tests étaient similaires sauf pour les patients atteints d'infection à EBV, pour lesquels les faux positifs étaient plus nombreux en Western-blot qu'en EIA.^{128, 140}

Les qualités du Western-blot étaient variables selon les règles de positivité du test, mais de façon globale meilleures selon les critères de Hauser¹²⁸ (critères européens) que d'Engstrom¹⁴⁰ (critères américains).

Dans cette étude l'analyse n'était pas indépendante de toute sérologie antérieure et ne correspondait pas à une pratique courante, ne permettant pas d'utiliser de façon brute et directe les conclusions de cette étude. La population analysée était déjà présélectionnée ce qui ne correspond pas à la réalité des difficultés diagnostiques pour les praticiens.

Dans une étude de 2011, réalisée par Ang et coll¹³⁸, le gold standard était la clinique, et tous les stades étaient inclus (tableaux 4B et 5B). Huit tests ELISA différents sur le plan antigénique (3 *whole cell sonicated*, 3 *whole cell sonicated*+VlsE, 2 recombinants) et 5 Western-blot (1 *whole cell*, 1 *whole cell*+VlsE et 3 recombinants) étaient analysés. Les 8 ELISA étaient comparés entre eux, la sensibilité variait de 34 à 64% et la spécificité pour les témoins malades (syphilis, infection à *Mycoplasma pneumoniae*) de 62 à 100% et de 93 à 100% chez les donneurs de sang sains. Il y avait une variabilité entre les tests, 43% des sérums étaient positifs dans 1 à 7 ELISA, 18% positifs dans tous les ELISA et 39% des sérums étaient négatifs. Les 5 Western-blot étaient également analysés mais aucun calcul de sensibilité ou de spécificité n'était exposé dans l'étude. Cette analyse en Western-blot ne concernait que 31 sérums. Il n'y avait pas de précisions concernant les critères de choix de ces 31 sérums qui regroupaient autant des prélèvements avec ELISA positifs que négatifs selon les auteurs. Avec les Western-blots européens de cette étude, 36% (4/11) des ELISA négatifs (8 tests sur 8) étaient positifs en Western-blot. Mais les auteurs précisaient également un manque de sensibilité dans certains autres cas car certains (nombre non précisé) Western-blot étaient négatifs avec 6 (/8) ELISA positifs malgré des échantillons provenant de borréliose de Lyme précoces avec symptômes évoluant depuis peu de temps.

Seule la concordance des tests entre eux était analysée. Elle était très variable à la fois en ELISA et en Western-blot.

Le problème de cette étude était que toutes les données affirmées n'étaient pas chiffrées, et qu'il était donc difficile d'analyser et de contrôler les données

annoncées. Les auteurs déduisaient que devant la positivité de plusieurs tests ELISA avec analyse en Western-blot négative, la méthode ELISA avait une meilleure sensibilité, alors qu'aucun chiffre n'était donné et aucun calcul de différence réalisé.

L'étude de Busson et coll¹³⁹ (2012), analysait 2 techniques d'immuno-assay (techniques de screening) en IgM et IgG (1 chemiluminescent assay et un ELISA recombinant) parallèlement à 10 Western-blot différents avec antigènes recombinants (tableaux 4B et 5B). Le gold standard de l'étude était la présentation clinique compatible associée à une sérologie antérieure positive.

La sensibilité des tests dits de screening variait de 92,3% à 100% en IgM et était de 100% en IgG. Celle en Western-blot variait de 95 à 100% en IgM et était de 100% en IgG. La spécificité des tests de screening était de 67,11% à 91% en IgM et 91 à 97,4% en IgG. En Western-blot, la spécificité en IgM était de 76 à 96% versus 94,8 à 99% en IgG. Le calcul de la différence de sensibilité et de spécificité entre ces différents tests n'était pas réalisé, le Western-blot semblait plus spécifique que l'ELISA dans le groupe comprenant tous les témoins confondus. Lors de l'analyse, 0,57 à 27,6% des résultats étaient des faux positifs tous tests confondus, sans pouvoir discriminer telle ou telle technique.

Peu de cas étaient inclus (moindre valeur de la sensibilité) et les patients inclus comme suspects de borréliose de Lyme étaient inclus selon des résultats sérologiques antérieurs ce qui biaise l'étude, car l'analyse des deux tests ELISA/Western-blot n'était pas indépendante.

L'analyse de l'association des deux tests, ELISA et Western-blot, réalisés conjointement permettait de définir un nombre moins important de faux positifs et dans une proportion moindre de faux négatifs. En analysant les tableaux de faux positifs et faux négatifs, on se rendait compte que tous les patients (cas comme témoins) étaient inclus pour réaliser ces tableaux. On avait donc l'impression que l'association des deux techniques permettait d'éviter surtout de diagnostiquer des faux positifs (sur 160 témoins en tout, donneurs de sang sains et patients malades non atteints de borréliose de Lyme), alors que peu de faux négatifs (sur 30 patients atteints de borréliose de Lyme) étaient récupérés par l'association des deux techniques.

Aux ETATS-UNIS :

Sept articles ont été analysés¹⁴⁰⁻¹⁴⁶, 3 étudiaient spécifiquement la phase précoce^{140, 141, 143}; les autres étudiaient toutes les phases confondues. Les tableaux 6A, 6B, 7A et 7B précisent les caractéristiques de ces études.

- A la phase précoce :

L'étude de Grodzicki¹⁴¹ (1988), analysait les différences de réponse sérologique en ELISA et Western-blot à la phase précoce de la borréliose de Lyme (chez 30 patients dont 8 patients avec érythème migrant) (tableaux 6A et 7A). Les réponses sérologiques étaient évaluées à la phase initiale puis à la phase de convalescence (2 à 4 semaines plus tard). En ELISA, la sensibilité en IgM+IgG était de 40% en phase précoce versus 63% à la phase de convalescence. La sensibilité combinée en IgM+IgG était de 53% pour les phases précoces et 83% à la phase de convalescence pour la technique Western-blot. Les calculs de spécificité n'étaient pas réalisées, seuls les faux positifs étaient définis : 11 patients sur 64 étaient des faux positifs en ELISA versus 4 sur 64 en Western-blot (dont 3 patients atteints de syphilis). La sensibilité du Western-blot pour les symptômes évoluant depuis moins de 2 semaines était meilleure qu'en ELISA ($p=0,02$), de même qu'en phase de convalescence ($p=0,04$).

Quand on se penche sur la sensibilité des deux tests à la phase de convalescence post traitement de ces affections, on avait l'impression d'avoir également une différence significative entre les deux tests (p calculé à 0,04) alors qu'à la lecture du texte, on se rendait compte de l'inclusion de patients dit "Western-blot positif" alors que les critères de positivité de ce test n'étaient pas respectés et étaient modifiés en cours d'étude (toute apparition de nouvelle bande entre la phase précoce et de convalescence était considérée comme positive alors même que cette règle ne figurait pas dans les critères initiaux).

Il y avait également une meilleure spécificité (moins de faux négatifs) du Western-blot dans les cas de fièvre récurrente à *Borrelia hermsii* ($p=0,04$).

Dans une étude de Aguero-Rosenfeld et coll¹⁴³ (1993), le diagnostic sérologique était également évalué au stade de Lyme précoce (tableaux 6A et 7A). Le test ELISA

était un test pour les anticorps totaux de *Borrelia burgdorferi* et le test Western-blot était réalisé à partir de *whole cell sonicated*. Sur 100 sérums de patients avec érythème migrant, 49 étaient positifs en ELISA et 65 en Western-blot. Les patients avaient été séparés en érythème migrant (EM) précoce (moins de 7 jours d'évolution) et tardif. Il n'y avait pas de différence significative de sensibilité entre les deux tests en phase précoce, même si dans cette étude le Western-blot semblait plus sensible ($p=0,310$). La réponse immunitaire en ELISA et Western-blot était par contre corrélée de façon significative à la durée de l'EM ($p<0,005$). L'évaluation des réactions croisées n'était réalisée que pour le Western-blot. Quatre-vingt pour cent des patients syphilitiques étaient faiblement réactifs en Western-blot IgG (1,7 bandes), 39% des patients ayant un lupus et 56% des patients ayant une polyarthrite rhumatoïde avaient des sérums réactifs en Western-blot IgG (1,2 et 1,3 bandes en médiane). Le calculs des faux positifs réels n'était pas réalisé (c'est à dire plus de 5 bandes sur 10 en IgG), seules les réactivités étaient décrites.

Dans une étude de Engstrom¹⁴⁰, datant de 1995, l'objectif initial de l'étude était de comparer les techniques ELISA et Western-blot à la phase précoce de l'érythème migrant (tableaux 6B et 7B); l'objectif final de l'étude étant de définir des règles standardisées d'interprétation du Western-blot dans le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme.

Le gold standard de l'étude était la clinique et la présence d'un érythème migrant. Dans cette étude prospective, les sérums des patients étaient prélevés à chaque visite de contrôle pour évaluer la cinétique d'apparition/disparition des anticorps. La sensibilité en IgM lors du début du traitement (phase initiale de l'érythème migrant) était meilleure en Western-blot qu'en ELISA : 43,6% versus 34,5% (p non calculé) de même que lors de la première consultation de contrôle, 8 à 12 jours après le début du traitement : sensibilité 74,5 versus 63,6% (p non calculé). En IgG également, la sensibilité du Western-blot était meilleure à la phase initiale de façon significative (43,6 versus 23,6% $p=0,026$) et lors de la première consultation de contrôle (80 versus 41,8% $p<0,01$). La spécificité n'était pas calculée seuls les faux positifs étaient répertoriés : 10 en ELISA IgM et 17 en ELISA IgG (dont 15 syphilis) et 5 en Western-blot IgM et IgG.

Cette différence de capacités des deux tests pouvait être liée (comme précisé par les auteurs) à la différence de souche utilisée entre l'ELISA et le Western-blot. En effet, une souche de *B. burgdorferi* ss 297 avec faible passage était utilisée pour la réalisation du Western-blot, alors que cette même souche avec fort passage était utilisée pour la réalisation de l'ELISA; cette différence pourrait expliquer de moins bons résultats par modifications progressives protéiques (suite à des mutations). Cette différence pouvait également être liée à la différence de test utilisé, sous entendant que dans l'érythème migrant le Western-blot était un examen plus sensible et plus spécifique que l'ELISA.

Tableau 6A : Caractéristiques techniques des études américaines de 1988 à 1993.
(EM : érythème migrant)

Référence	Stade de la maladie étudié	Méthode de choix des cas	Test sérologique utilisé	Souches/Antigènes cibles	Règles de positivités du test
GRODZICKI 1988	précoce	Clinique (stade précoce) +Sérologie	ELISA	<i>B.burgdorferi</i> ss souche 297 (whole cell, 50° passage)	>3DS médiane de 20 donneurs sains
			Western blot	<i>Idem</i>	≥2 bandes + en IgM ≥4 bandes + en IgG ou ≥1 bande IgM + ≥1 bande IgG
DRESSLER 1993	Tous les stades	Clinique	EIA (capture IgM) ELISA indirecte IgG	<i>B.burgdorferi</i> ss souche G39/40 (sonicated)	en IgM > 5DS (de 8 sérums standards) En IgG > 3DS (de 8 sérums)
			Western blot	<i>B.burgdorferi</i> ss souche G39/40 (sonicated)	en IgM > 2 bandes (parmi 18, 21, 28, 37, 41, 45, 58 et 93kDa) en IgG > 5 bandes (parmi 18, 21, 28, 30, 39, 41, 45, 58, 66 et 93kDa)
AGUERO-ROSENFELD 1993	EM (phase précoce et tardive)	Clinique (EM)	ELISA	<i>B. burgdorferi</i> ss (polyvalent)	selon instructions fabricant
			Western blot en IgM et IgG	<i>B. burdorferi</i>	IgM≥2 parmi 8 bandes (18, 21, 28, 37, 41, 45, 58 et 93kDa) IgG≥5 parmi 10 bandes (18, 21, 28, 30, 39, 41, 45, 58, 66 et 93 kDa)

Tableau 6B : Caractéristiques techniques des études américaines de 1995 à 2001.
(EM : érythème migrant)

Référence	Stade de la maladie étudié	Méthode de choix des cas	Test sérologique utilisé	Souches/Antigènes cibles	Règles de positivités du test
ENGSTROM 1995	précoce (cutané)	Clinique (EM)	ELISA	<i>B. burgdorferi</i> ss B31 (haut passage)	>3DS médiane de 200 donneurs sains
			Western blot	<i>B. burgdorferi</i> ss B31 (faible passage)	IgM ≥ 2 bandes/3 (41, 39 et 21kDa) IgG ≥ 2 bandes/5 (88, 39, 35, 24, 20kDa)
CRAVEN 1996	Tous les stades	Clinique	5 ELISA (1 CDC, 4 commerciaux)	ELISA CDC <i>B. burgdorferi</i> ss B31 (haut passage) et FLA-ELISA pour les autres whole cell sonicated	pas de précisions
			3 Western blot	non précisé	pas de précisions
TREVEJO 2001	Tous les stades	Clinique	EIA + Western blot	<i>B. burgdorferi</i> ss B31 (faible passage)	Critères du CDC EIA selon instructions fabricant +/- WB (+ si plus de 5 bandes/10)
			Western blot seul	<i>B. burgdorferi</i> ss B31 (faible passage)	+ si plus de 5 bandes/10

Tableau ZA : Caractéristiques statistiques des études américaines de 1988 à 1993.
(EM : érythème migrant)

Référence	Stade de la maladie étudié	Test sérologique utilisé	Diagnostics, réactivité croisée	Sensibilité	Spécificité	Nombre total d'échantillons testés
GRODZICKI 1988	précoce	ELISA	Rocky Mountain Spotted Fever (12), syphilis (9)	en IgM et IgG : ELB 53% convalescence 60%	/	63
		Western blot	Idem	en IgM et IgG : ELB 53% convalescence 83%	/	63
DRESSLER 1993	Tous les stades	EIA (capture IgM) ELISA indirecte IgG	/ (témoins signes cliniques pouvant faire suspecter une LB)	ELB IgM 40% LLB IgG 89%	ELB IgM 94% LLB IgG 72%	297
		Western blot	/ (idem)	ELB IgM 32% LLB IgG 83%	ELB IgM 100% LLB IgG 95%	297
AGUERO-ROSENFELD 1993	EM (phase précoce et tardive)	ELISA	Syphilis, Lupus, PR		49% /	228
		Western blot en IgM et IgG	Idem		65% /	228

Tableau 7B : Caractéristiques statistiques des études américaines de 1995 à 2001.

Référence	Stade de la maladie étudié	Test sérologique utilisé	Diagnostics, réactivité croisée	Sensibilité	Spécificité	Nombre total d'échantillons testés
ENGSTROM 1995	précoce (cutané)	ELISA	Sclérose en plaque, polyarthrite rhumatoïde, lupus, syphilis, fièvres récurrentes, syndrome mononucléosique, leptospirose, infections à Streptocoque du groupe A	Phase précoce IgM 34,5% IgG 23,6% Contrôle IgM 63,6% IgG 41,8%	/	489
		Western blot	Idem	Phase précoce IgM 43,6% IgG 43,6% Contrôle IgM 74,5% IgG 80%	/	489
CRAVEN 1996	Tous les stades	5 ELISA (1 CDC, 4 commerciaux)	/	40 à 93%	71 à 99,5%	394
		3 Western blot	/	non calculée	non calculée	394
TREVEJO 2001	Tous les stades	EIA + Western blot	Patients vaccinés pour Borrelia (20) et 60 patients sans LD, mais signes cliniques suspects	non calculée	100% (IC 95,5-100%)	80
		Western blot seul	Idem	non calculée	98,7% (IC 93-100%)	80

- A toutes les phases de borréliose de Lyme

Dans l'article de Dressler et coll¹⁴² (1993), l'objectif de l'étude rétrospective était de développer des critères de positivité du Western-blot pour des manifestations variables de borréliose de Lyme (tableaux 6A et 7A). Il s'agissait ensuite de définir la sensibilité/spécificité de ces critères dans des études prospectives de patients avec manifestations précoces ou tardives et de comparer les résultats ELISA/Western-blot.

Dans l'étude rétrospective, 25 patients malades étaient inclus par groupe de symptômes (EM, méningite, arthrite, syndrome post-Lyme), 25 patients avaient participé à une campagne de vaccination, et 100 avaient des diagnostics différentiels établis (sclérose en plaque, sclérose latérale amyotrophique, polyarthrite rhumatoïde, lupus, asthénie chronique et syphilis). Au stade d'érythème migrant, en IgM, 40% étaient positifs en ELISA ou en Western-blot (40 versus 44%) respectivement; à la phase de convalescence, 72% étaient positifs en IgM ELISA, versus 60% en IgM Western-blot. Concernant les patients atteints de méningite borrélienne, tous les patients étaient positifs en ELISA IgG, contre 64% en Western-blot IgG, pour les encéphalopathies 87 versus 84% (IgG) et arthrites 100% en IgG (en ELISA et Western-blot). Concernant les patients contrôles, aucun n'avait un Western-blot positif selon les critères définis au cours de cette étude (6% des patients présentaient 2 ou 3 bandes positives et 8 patients syphilitiques sur 25 avaient plus de 5 bandes positives en IgG mais non spécifiques) tandis que 6 sérums étaient positifs ou intermédiaires en ELISA. Après analyse en courbe ROC, les critères retenus pour un Western-blot positif en IgM étaient : plus de 2 bandes parmi 8 bandes spécifiques (18,21, 28, 37,41, 45, 58 et 93 kDa) et en IgG : plus de 5 bandes parmi 10 bandes spécifiques (18, 21, 28, 30, 39, 41, 45, 58, 66 et 93 kDa). L'étude prospective faisait suite à cette étude rétrospective : elle incluait 237 patients. Pour les atteintes précoces de Lyme, la sensibilité des tests en IgM était de 40% en ELISA versus 32% en Western-blot, pour une spécificité de 94 et 100% respectivement, alors que dans les atteintes tardives en IgG, la sensibilité était de 89% en ELISA versus 83% en Western-blot, pour des spécificités de 72 et 95% respectivement.

Il en ressortait que le test ELISA utilisé dans cette étude était plus sensible, alors que le test Western-blot était plus spécifique. Ces données soutenaient les critères CDC qui découlaient de cette étude avec¹³¹ un test ELISA en première intention puis un contrôle en Western-blot, pour pouvoir dans un second temps discriminer les faux positifs.

Dans l'étude de Craven¹⁴⁴ (1996), l'objectif était d'évaluer l'exactitude de différents tests de sérodiagnostic et de comparer la précision de ces différents tests (tableaux 6B et 7B). L'exactitude d'un test correspond au résultat de mesure coïncidant avec la valeur vraie que l'on cherche à mesurer. La précision correspond à l'aptitude d'un appareil de mesure/d'un test à donner des mesures exemptes d'erreurs accidentelles.¹⁴⁷

Les différents sérums étaient analysés en aveugle dans différents laboratoires de recherche /référence. Six tests ELISA (dont 2 provenant du *Center for Disease Control (CDC)*) et 3 Western-blot étaient également analysés. Cette étude analysait les caractéristiques de chaque laboratoire, la sensibilité, spécificité, la précision et la mesure de concordance des tests. Il y avait 194 échantillons positifs, 200 contrôles hors zone d'endémie et 200 cas hors zone d'endémie suspects d'une borréliose de Lyme et adressés au CDC pour un test sérologique. Les 3 méthodes ELISA étaient les plus spécifiques (98-99,5%) mais aucun échantillon de patient atteint d'une maladie pouvant entraîner une réaction croisée n'avait été inclus (syphilis, lupus, infection à EBV). La sensibilité de ces tests était mauvaise car incluant au même niveau les patients atteints de borrélioses de Lyme précoces et ceux atteints de borrélioses de Lyme tardives sans distinction entre les 2.

La précision de ces 3 méthodes était élevée pour les vrais cas (92-93%). Dans ces 3 cas, un Western-blot était utilisé pour confirmer un ELISA ce qui permettait d'augmenter la sensibilité du test de 20 à 30% (par rapport à l'ELISA seul) sans affecter la spécificité.

La disparité était majeure entre les tests ELISA effectués : sensibilité 40-93%, spécificité 71 à 99,5%. Le test le plus sensible de cette étude était celui proposé par le CDC, c'était également celui ayant la moins bonne spécificité. Ce test pourrait donc plutôt être utilisé en zone de faible endémie et permettre un diagnostic le plus

précis possible sans engendrer de "sur" traitement massif. Au contraire ce type de test est beaucoup moins adapté en zone de forte endémie et serait à tester dans de telles conditions car engendrant probablement un nombre majeur de faux positifs. Les autres données étaient répertoriées dans les tableaux 5 et 6 et aucune analyse précise du Western-blot n'était réalisée dans cette étude.

Dans l'étude de Trevejo¹⁴⁵ (2001), l'objectif était d'évaluer la valeur des critères définis par le *Center for Disease Control* en 1995 en zone de forte endémie (c'est à dire une approche sérologique en deux temps), en utilisant des tests avec forte spécificité chez des patients avec des signes cliniques aspécifiques, non originaires de zones d'endémie (tableaux 6B et 7B). Cette étude évaluait le sérodiagnostic en 2 approches parallèlement à la réalisation d'un Western-blot seul. Les patients inclus étaient ceux sans antécédents de borréliose de Lyme mais avec des symptômes possiblement compatibles, ainsi que des patients sans aucun signe clinique et des patients ayant été vaccinés contre la borréliose de Lyme (vaccins retirés depuis). Quatre vingt sérums de patients sans antécédents diagnostiques de borréliose de Lyme et 20 patients ayant été vaccinés étaient inclus. La sensibilité du test n'était pas calculée car les patients aux antécédents de borréliose de Lyme étaient exclus. En EIA, 4 sérums étaient positifs, alors que négatifs en Western-blot, et lors de la réalisation d'un Western-blot isolément, un seul sérum était positif. La spécificité calculée selon les critères en 2 étapes du CDC était de 100% (95,5-100%) alors que celle calculée lors de la réalisation d'un Western-blot seul était de 98,7% (93-100%). Il n'y a pas eu d'évaluation de différences entre les 2 tests. Dans cette étude l'absence d'histoire et de symptômes compatibles avec une borréliose de Lyme était définie comme une absence de maladie alors que les infections asymptomatiques ou anciennes n'étaient pas éliminées. Les vaccins n'entraînaient pas plus de faux positifs.

Le faible effectif de cette étude ne permet pas de trancher sur l'intérêt d'une ou l'autre de ces méthodes.

Dans une étude de Lindenmayer et coll¹⁴⁶ (1990), les auteurs ont réalisés une comparaison des méthodes Western-blot, ELISA et IFA **chez le chien**.

Dans cette étude, contrairement aux études réalisées chez l'homme et étant donné les difficultés du diagnostic clinique chez le chien, le *gold standard* était défini par un Western-blot positif associé à une clinique concordante (boiterie, atteinte articulaire)¹⁴⁸. Ce sont les méthodes ELISA et IFA qui étaient comparées au Western-blot.

Cent vingt huit sérums étaient testés, 72 provenaient de chiens suspects de borréliose de Lyme, 32 de chiens sains résidants en zone d'endémie et 24 suspects de désordre immunitaire (lupus, polyarthrite rhumatoïde), de leptospirose, ou de fièvre récurrente à *Borrelia hermsii* (*Rocky Mountain spotted fever* = RMSF). Soixante six sérums étaient positifs en Western-blot, contre 62 négatifs. Cinq chiens sur neuf avec désordre immunitaire, ainsi que 2/9 chiens avec leptospirose et 1 chien/5 avec RMSF étaient positifs en Western-blot, ce qui correspond à 12% de l'effectif des positifs (8/66). Les méthodes ELISA et IFA étaient étudiées par rapport aux Western-blot positifs. Sur les 66 Western-blot positifs, 56 le sont en ELISA; les 10 sérums négatifs en ELISA étaient pour 3 des cas suspects de borréliose de Lyme, alors que pour les 7 autres, il s'agissait de vrais négatifs en Western-blot (5 sérums de chiens ayant une maladie dysimmunitaire et 2 de chiens ayant contracté la leptospirose). Sur les 62 sérums négatifs en Western-blot, 58 l'étaient en ELISA. Les 4 sérums positifs en ELISA et négatifs en Western-blot correspondent à 2 cas de Lyme suspect et 2 faux positifs (adénocarcinome mammaire et leptospirose). Il y avait donc 2 faux positifs en ELISA sur 60. La sensibilité du test ELISA était évaluée à 91,8%, sa spécificité de 93%. En immunofluorescence, 44 des échantillons /66 positifs en Western-blot, étaient positifs. Quatorze des sérums négatifs correspondaient à des faux négatifs (testés pour la borréliose de Lyme), les autres cas étaient des vrais négatifs (maladie dysimmunitaire, leptospirose, RMSF). Sur les 62 sérums négatifs en Western-blot, 3 étaient suspects de borréliose de Lyme. En IFA, il y avait un faux positif sur 58. La sensibilité de ce test en immunofluorescence était de 70,5%, sa spécificité de 93%. L'étude en régression linéaire comparant les deux méthodes d'immuno-assay, trouvait une différence significative entre les résultats du test en ELISA et en IFA.

On constatait plus de Western-blot faussement positifs (8 cas) par rapport aux deux autres techniques (2 et un faux positif respectivement).

Aucune analyse n'avait été réalisée concernant les capacités du test Western-blot (considéré ici comme le *gold standard*).

Le problème de cette étude souligné par ces auteurs, était l'incertitude diagnostique et la possibilité pour un même animal d'avoir deux pathologies sous jacentes.

4. Discussion

Pour ne pas inclure de biais de sélection, seuls les articles en anglais, de tout pays, ont été inclus dans les résultats. Si nous avons décidé d'inclure les articles publiés en français cela aurait pu entraîner un biais car les articles publiés dans les autres pays dans leur langue originale n'auraient pas pu être inclus et analysés dans cette étude.

Un autre biais de sélection de cette étude était les sources utilisées. D'autres moteurs de recherche tels Embase ou Cochrane auraient également pu être utilisés en complément de la base de donnée Pubmed. Il est possible que par ce biais de sélection tous les articles n'aient pas été inclus. Par contre à partir des recherches réalisées dans la base de données Pubmed, tous les articles qui correspondaient aux critères d'inclusion ont été analysés.

Toutes les études incluses n'étaient pas réalisées selon le même objectif, il y avait donc un biais de mesure, car toutes les données nécessaires pour le recueil, notamment sensibilité et spécificité n'étaient pas toujours disponibles. Dans certains articles, l'objectif n'était pas d'analyser les capacités du Western-blot seul mais lors d'un diagnostic sérologique en deux étapes, même si cette démarche n'était pas toujours annoncée dans l'introduction. Dans ces cas, la sensibilité et la spécificité n'étaient pas indépendantes et dépendaient d'un autre résultat sérologique antérieur.^{133, 134, 139, 141, 145}

L'analyse des tests sérologiques à la phase d'érythème migrant a été séparée de l'analyse des sérologies toutes les phases confondues.

Six articles (toutes origines géographiques confondues) évaluaient ainsi les capacités des tests sérologiques d'immuno-assay versus Western-blot au stade

d'érythème migrant. Dans ces 6 études^{133, 137, 140-143} le gold standard était la présence clinique de ce signe pathognomonique.

La sensibilité du Western-blot était meilleure que celle de l'ELISA dans 4 études^{137, 140, 141, 143} et ce de façon significative dans 3 études en IgM, IgG ou les deux^{137, 140, 141}: sensibilité du Western-blot en IgM et G 48 et 31% versus 1,7 et 2,5% en ELISA dans l'étude de Ruzic-Sabljić¹³⁷, 53 versus 40% à la phase précoce dans l'étude de Grodzicki¹⁴¹ et 43,6 versus 34,5% dans l'étude d'Engstrom¹⁴⁰. Dans l'étude de Agüero-Rosenfeld¹⁴³, la sensibilité du Western-blot était supérieure à celle de l'ELISA (65 versus 49%) mais de façon non significative.

Dans l'étude de Ryffel¹³³, la sensibilité du Western-blot était de 90%, mais l'analyse était faite selon les résultats de la méthode ELISA et non de façon indépendante.

L'étude de Dressler¹⁴², qui évaluait de façon globale les différents symptômes de la borréliose de Lyme, avait des résultats discordants par rapport aux autres études. En effet, à la phase précoce, la sensibilité en IgM en ELISA versus Western-blot était identique, et à la phase de convalescence, il observait une meilleure sensibilité de l'ELISA par rapport au Western-blot (72 versus 60%, p non calculé).

Cette différence par rapport aux autres études pourrait être liée à différentes raisons. Le nombre de patients inclus avec érythème migrant était faible par rapport aux autres études (25 patients versus 55¹⁴⁰ à 117 patients¹³⁷). La souche de *Borrelia* utilisée pour réaliser ELISA et Western-blot est différente des autres études, mais aucune étude n'a la même source antigénique pour réaliser leurs études. Le dernier point est que dans cette étude, de nouveaux critères de positivité du Western-blot étaient déduits et qu'ils étaient peut-être la cause de cette différence de sensibilité.

De façon quasiment unanime, en Europe et aux Etas Unis, la sensibilité du Western-blot est à la phase d'érythème migrant supérieure à l'ELISA. Il faut cependant noter que cette sensibilité n'était pas très élevée à cette phase (sans inclure les résultats à la phase de convalescence) et oscillait de 31% (IgM dans l'étude de Ruzic-Sabljić¹³⁷) à 65% (Agüero-Rosenfeld¹⁴³) ce qui est insuffisant si l'on souhaite utiliser ce test pour du dépistage.

Le seul Western-blot ayant une bonne sensibilité, était celui réalisé dans l'étude de Ryffel¹³³ (sensibilité 90%), mais il avait été réalisé après un ELISA positif.

L'évaluation de la spécificité n'était pas réalisée dans toutes les études^{133, 143}. Elle était variable selon les études : meilleure en immuno-assay dans les études de Ruzic-Sabljić¹³⁷ et Grodzicki¹⁴¹ et meilleure en Western-blot dans les études de Engstrom¹⁴⁰ et Dressler¹⁴². Cette différence peut être expliquée par l'objectif des études de Engstrom¹⁴⁰ et Dressler¹⁴². En effet dans ces deux études, l'objectif était de définir les meilleurs critères de positivité du Western-blot et donc les meilleurs critères de sensibilité et spécificité. Or ces deux études se placent dans l'optique d'un diagnostic sérologique en deux étapes; un Western-blot plus spécifique que l'ELISA a alors plutôt une place comme test de confirmation que de dépistage. Il faut préciser qu'il y a peu d'intérêt d'une telle démarche sérologique à ce stade étant donné le caractère pathognomonique de l'érythème migrant et son diagnostic clinique.

Dans un deuxième temps nous discutons des performances des méthodes d'immuno-assay versus celles du Western-blot, lors des analyses indépendantes de ces deux tests d'une part et d'autre part lors d'études où le gold standard était un test de screening.

Cinq études étaient réalisées avec pour seul Gold standard, la clinique^{131, 135, 138, 142, 145}. Lors de l'analyse de la sensibilité, 2 études démontraient une sensibilité de l'ELISA supérieure à celle du Western-blot aux phases précoces et tardives. Il s'agissait des études de Goossens¹³⁵ et de Dressler¹⁴². Aucune différence n'avait été observée entre les 2 tests dans ces 2 études. Dans une étude ayant inclus uniquement des cas de neuroborréliose, la sensibilité des tests était identiques en IgM et IgG pour les deux méthodes (p non significatif)¹³¹. Dans une autre étude de Ang et coll¹³⁸, il n'y avait pas de calcul de sensibilité du Western-blot; seuls 31 prélèvements étaient analysés, quel que soit le résultat de l'ELISA. Sur 11 tests ELISA négatifs, 36% étaient positifs en Western-blot ce qui faisait suspecter une meilleure sensibilité du Western-blot. Le biais de cette analyse était de ne pas avoir fait d'étude du Western-blot sur tous les échantillons et de façon indépendante. Dans l'étude de Trevejo¹⁴⁵, la sensibilité n'était pas calculée.

En résumé, en incluant tous les stades avec comme gold standard l'examen clinique, la sensibilité de l'ELISA était meilleure que celle du Western-blot dans 2 études. L'absence de différence dans les cas de neuroborrélioses est peut-être liée aux patients inclus qui ont souvent des atteintes cliniques précoces, ce qui pourrait expliquer une sensibilité augmentée en Western-blot comme dans les cas d'érythème migrant. L'étude de Ang¹³⁸ ne permet pas d'apporter d'arguments supplémentaires concernant la sensibilité du Western-blot car seuls 31 échantillons sur 89 étaient testés.

La spécificité était meilleure en Western-blot qu'en ELISA dans l'étude de Dressler¹⁴² (6 faux positifs en ELISA, aucun en Western-blot). Elle était équivalente dans l'étude de Goossens¹³⁵ chez les donneurs de sang et les témoins malades, et il y avait plus de faux positifs en Western-blot qu'en ELISA dans l'étude de Karlsson¹³¹. La spécificité n'avait pas été calculée par l'équipe de Ang¹³⁸.

Ces différences étaient peut-être liées aux caractéristiques des études. Dans l'étude de Dressler¹⁴², l'objectif était de définir les critères de positivité du Western-blot pour avoir les meilleures sensibilité et spécificité.

Dans les différentes études, il n'y avait pas de calcul de différences ce qui ne permettait pas de conclure stricto sensu. Les différences de spécificité peuvent également découler des différences d'antigène utilisé : souches, antigènes recombinants, passages bactériens différents.

Lors des analyses des tests sérologiques en dehors de la phase localisée, la méthode ELISA apparaît plus sensible que le Western-blot. Concernant la comparaison de spécificité de ces deux tests il y a beaucoup de variations, ne nous permettant pas de conclure sur la meilleure spécificité d'un test plutôt que de l'autre.

Dans l'étude de Trevejo¹⁴⁵, la méthode en 2 étapes était analysée en parallèle au Western-blot seul. La spécificité du Western-blot seul était moins bonne que la spécificité des deux tests successifs, ELISA puis Western-blot (p non calculé).

Cinq autres études évaluaient ces tests sérologiques après réalisation de tests de screening.^{133, 136, 139, 146} Dans un cas, ce test de screening était un Western-blot.¹⁴⁶

Dans les études de Blauuw¹³⁶ et Kaiser¹³⁴, les sensibilités étaient meilleures en ELISA qu'en Western-blot. Dans celle de Busson¹³⁹, il y avait une très grande variabilité entre les tests, ce qui entraînait une équivalence de sensibilité entre ELISA et Western-blot, alors que dans l'étude de Ryffel¹³³ la sensibilité du Western-blot post ELISA était bonne (sensibilité 90%).

Le gold standard de l'étude de Craven¹⁴⁴ était la clinique, mais les sensibilités/spécificités indépendantes du Western-blot n'étaient pas analysées. La sensibilité des tests de diagnostics était augmentée de 20 à 30% par rapport à l'ELISA seul, grâce au Western-blot et sans altération de la spécificité.

Lors de l'analyse de la spécificité, dans l'étude de Blaauw¹³⁶ et dans celle de Busson¹³⁹, le Western-blot était plus spécifique que le test ELISA.

Dans deux autres études, celles de Kaiser et celle de Lindenmayer^{134, 146}, il y avait plus de faux positifs en Western-blot qu'en ELISA. Dans l'étude de Ryffel¹³³, la spécificité calculée était de 88% en Western-blot (en faisant le parallèle avec un test ELISA positif).

D'autres études évaluaient les méthodes d'immuno-assay et de Western-blot mais ne correspondaient pas aux critères d'inclusion. Dans l'étude de Chmielewska-Badora¹⁴⁹ (étude européenne), la corrélation entre ELISA et Western-blot aux différents stades de Borréliose de Lyme était évaluée. Cette corrélation de sensibilité était significative, les résultats étaient comparables en IgM et IgG en ELISA et en Western-blot.

Une étude de Wormser¹⁵⁰ (américaine) non incluse dans les résultats, mettait l'accent sur la dépendance des tests ELISA et Western-blot même lors de la réalisation indépendante de ces deux tests. En effet il y a une corrélation entre le nombre de bandes positives et la réactivité en ELISA (plus il y a de bandes positives, plus l'ELISA apparaît comme positif). La réactivité de l'immuno-assay est associée à celle du Western-blot car ces tests utilisent les mêmes antigènes d'intérêt.

Le manque de spécificité des tests de diagnostic pose également un problème diagnostic et de prise en charge. Dans l'étude de Seriburi¹⁵¹, les faux positifs en Western-blot IgM étaient étudiés grâce à une analyse rétrospective. Cinquante pour

cent des prélèvements étaient déclarés comme faux positifs selon les auteurs. Le Western-blot n'était pas interprété de façon indépendante. Des faux positifs pour les auteurs étaient observés quand :

- un Western-blot positif était réalisé sans méthode d'immuno-assay initiale (ou négative)
- un Western-blot IgM était réalisé au delà de 4 semaines d'évolution avec Western-blot IgG positif
- un Western-blot était déclaré comme positif en dehors des règles de positivité du test
- les cas diagnostiqués de décembre à mars et ou en dehors de zones d'endémie
- les présentations cliniques atypiques pour une atteinte précoce ou tardive de Lyme

On se rend compte de l'absence d'analyse de spécificité du test avec des patients non malades et non atteints de borréliose de Lyme. Cette évaluation des faux positifs ne peut donc absolument pas être prise en compte pour l'analyse globale de la spécificité du Western-blot dans le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme.

La spécificité des tests diagnostiques de la borréliose de Lyme peut être abaissée du fait des réactions croisées engendrées par certains antigènes et certains pathogènes. L'étude de Luft¹⁵² évaluait la réactivité en Western-blot de sérums de patients syphilitiques versus des patients atteints de borréliose de Lyme pour un antigène p41 (flagelline) modifié à sa partie constante. Cette réactivité persistait malgré modification de la partie commune à *Borrelia* et *Treponema* et était étendue à la région variable de la flagelline.

D'autres études étaient réalisées pour rechercher les faux positifs secondaires à des réactions croisées. Ces faux positifs étaient trouvés en ELISA mais pas en Western-blot ce qui constitue un argument pour une plus grande spécificité du Western-blot par rapport à l'ELISA.^{153, 154}

De façon globale et toutes études confondues, la sensibilité des méthodes d'immuno-assay était supérieure à celle du Western-blot et en faisait donc un

meilleur test de dépistage. Il était par contre difficile de trancher concernant le meilleur examen du point de vue de la spécificité, mais le Western-blot semblait plus spécifique que les méthodes d'immuno-assay.

La méthode actuelle en deux étapes semble donc être adaptée à une démarche la plus à même de diagnostiquer les vrais positifs en éliminant les faux positifs.

Notre étude a par contre mis en lumière la plus grande sensibilité du Western-blot (de façon significative ou non) dans les phases précoces de borréliose de Lyme et notamment au stade d'érythème migrant.

La difficulté de notre étude a été l'impossibilité de comparer les études entre elles.¹⁵⁵ Il y avait également une grande variabilité de tests utilisés (EIA, ELISA, IFA, Western-blot) avec des préparations antigéniques réalisées de façon variables (*whole cell sonicated*, purifiés, recombinants...) avec des souches de *Borrelia* différentes (B31, pKo, 297...) au sein d'une même espèce. Les espèces bactériennes impliquées dans la borréliose de Lyme varient entre les Etats-Unis et l'Europe et, dans les études européennes, différentes associations antigéniques des différentes espèces étaient utilisées également. Au sein d'une même espèce et d'une même souche, il peut y avoir une variabilité antigénique (nombre de passages bactériens).^{128, 156, 157}

Les patients inclus variaient également entre les études (au stade précoce, tardif, patients témoins...). L'analyse était donc faite étude par étude.

L'étude espagnole de Hernandez-Novoa¹⁵⁸, mettait l'accent sur l'impossibilité d'utiliser des règles diagnostiques et un Western-blot uniques dans ce sérodiagnostic. L'importance selon cette équipe était la composition antigénique et la sélection des espèces selon la population cible pour réaliser un Western-blot adapté selon un pays/une région donnés. Cette idée était également partagée par l'équipe de Robertson¹⁵⁶, celle de Dunand¹⁵⁹ (qui analysait un Western-blot "maison" versus commercial dans le sérodiagnostic de l'ACA) et celle de Mavin.¹⁶⁰

Notre travail portait sur la place du Western-blot dans la borréliose de Lyme. Nous nous sommes interrogés sur la place qu'occupait cette méthode dans les autres sérodiagnostics réalisés en microbiologie :

En bactériologie, le Western-blot est uniquement utilisé comme test de confirmation en cas de discordance des tests tréponémiques (TPHA, FTA, EIA) et non tréponémiques qualitatifs et après avoir réalisé de titrage d'anticorps sur ces deux tests. Il s'agit donc d'un test de 3e intention dans ce sérodiagnostic.¹⁶¹⁻¹⁶³ (recommandations HAS 2007)

En virologie, le Western-blot est utilisé dans le diagnostic de l'infection par VIH¹⁶⁴⁻¹⁶⁶ (recommandations HAS 2009), VHC¹⁶⁷⁻¹⁶⁹, HTLV¹⁷⁰ et EBV¹⁷¹⁻¹⁷⁴. Dans les 3 premiers cas, le Western-blot est réalisé en deuxième intention après une méthode d'immuno-assay, dans le cas du sérodiagnostic des infections à EBV, il peut être réalisé à la phase initiale¹⁷⁴.

En parasitologie, le Western-blot est utilisé comme test de confirmation pour le sérodiagnostic de la toxocarose^{175, 176}, de l'échinococcose^{177, 178} de la bilharziose^{178, 179} et de la transmission mère enfant de la toxoplasmose¹⁸⁰.

Dans tous ces cas (hormis de façon occasionnelle pour EBV), le Western-blot est utilisé comme test de confirmation et non de dépistage.

L'analyse de la littérature montre en outre des perspectives d'évolution du sérodiagnostic de la borréliose de Lyme.

Une étude américaine parue en 2004¹⁸¹ comparant Western-blot (x3) et C6-ELISA trouvait une forte sensibilité en C6 ELISA (100% versus 81 à 85%) pour une spécificité moins bonne (73% versus 90 à 97% en Western-blot).

Une étude prospective américaine parue en 2008 réalisée par Steere et coll¹⁸², faisait le parallèle entre le diagnostic sérologique en 2 étapes (ELISA +/- Western-blot) et l'ELISA C6 seul. La cible antigénique de l'ELISA C6 est la région invariable d'une protéine de surface VlsE. La comparaison dans cette étude était réalisée en étudiant toutes les manifestations de la borréliose de Lyme. Il n'y avait pas de différence significative de sensibilité entre ces deux approches quelque soit le stade de la maladie (en associant IgM+IgG ELISA et Western-blot). La méthode en 2 étapes était plus spécifique (100% versus 96%) mais de façon non significative.

Une autre étude dirigée par Wormser en 2012¹⁸³ également aux Etats Unis avait le même objectif que l'étude de Steere¹⁸². La sensibilité était meilleure de façon significative pour l'ELISA C6 par rapport à la méthode en 2 étapes (à la phase

précoce et toutes phases confondues) alors que la spécificité était significativement meilleure en zone d'endémie ou de non endémie pour la méthode en 2 temps. Les auteurs proposaient l'utilisation du C6 ELISA comme première étape dans le sérodiagnostic, ce qui permettrait de diminuer de 82% les faux positifs et de 77,4% les Western-blot inutiles (selon les chiffres calculés dans cette étude).

Une récente étude américaine (2013)¹⁵⁵ analysait des sérums de patients américains contaminés en Europe. Les méthodes européennes et américaines en 2 étapes ainsi qu'un C6 ELISA étaient comparées. La sensibilité de la méthode américaine était significativement moins bonne que celle utilisée en Europe (52% versus 81% $p=0,0007$) avec des spécificités comparables (100 versus 99%). Il n'y avait par contre pas de différence de sensibilité et spécificité entre le C6 ELISA (88 et 100%) et la méthode européenne. Le C6 ELISA pourrait être une alternative à la méthode en 2 étapes quelque soit l'historique des voyages des patients.

5. Conclusion

La difficulté du sérodiagnostic de la borréliose de Lyme est causée par une variabilité de tests, d'espèces, de souches, d'antigènes.

De façon synthétique et globale l'analyse de la littérature montre que la sensibilité des méthodes d'immuno-assay est supérieure à celle du Western-blot. Cette caractéristique en faisait un meilleur test de dépistage. D'autre part, le Western-blot est dans une moindre mesure plus spécifique, caractéristique nécessaire pour un bon test de confirmation.

Dans une seule présentation clinique le Western-blot était plus sensible que les méthodes d'immuno-assay : à la phase précoce c'est à dire au stade d'érythème migrant (cette différence de sensibilité n'était pas toujours significative). Or l'érythème migrant est pathognomonique de la borréliose de Lyme, un test sérologique à ce stade n'entraîne aucun changement de prise en charge et a donc peu d'intérêt.

La méthode C6-ELISA semble avoir de bonnes sensibilités et spécificités et pourrait être le test sérologique de la borréliose de Lyme dans l'avenir. Des études européennes seront nécessaires avant son utilisation à large échelle.

Parallèlement, dans les autres sérodiagnostics réalisés en microbiologie, à part dans certains laboratoires pour le diagnostic d'EBV, aucune recommandation ne préconise de Western-blot en première intention dans la pratique courante.

Dans tous les cas, un sérodiagnostic positif pour *Borrelia* doit être rapporté à un contexte clinique, épidémiologique et géographique pour éviter des diagnostics aberrants.¹⁸⁴

/Bibliographie

1. Steere AC. Lyme disease. N Engl J Med. 2001 Jul 12;345(2):115-25.
2. Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. FEMS Immunol Med Microbiol. 2007 Feb;49(1):13-21.
3. Muller I, Freitag MH, Poggensee G, Scharnetzky E, Straube E, Schoerner C, et al. Evaluating frequency, diagnostic quality, and cost of Lyme borreliosis testing in Germany: a retrospective model analysis. Clin Dev Immunol. 2012:2012.
4. Steere AC, Coburn J, Glickstein L. The emergence of Lyme disease. J Clin Invest. 2004 Apr;113(8):1093-101.
5. Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. Lyme borreliosis. Lancet. 2011 Sep 6.
6. Bacon RM, Kugeler KJ, Mead PS. Surveillance for Lyme disease--United States, 1992-2006. MMWR Surveill Summ. 2008 Oct 3;57(10):1-9.
7. Rudenko N, Golovchenko M, Grubhoffer L, Oliver JH, Jr. Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. Ticks Tick Borne Dis. 2011 Sep;2(3):123-8.
8. Bhatte C, Schwartz RA. Lyme disease: Part I. Advances and perspectives. J Am Acad Dermatol. 2011 Apr;64(4):619-36.
9. Lindgren E. Lyme borreliosis in Europe : influences of climate and climate changes, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health organisation. 2006:7-10.
10. Berglund J, Eitrem R, Ornstein K, Lindberg A, Ringer A, Elmrud H, et al. An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. N Engl J Med. 1995 Nov 16;333(20):1319-27.
11. Humair P, Gern L. The wild hidden face of Lyme borreliosis in Europe. Microbes Infect. 2000 Jul;2(8):915-22.
12. Chu CY, Jiang BG, Liu W, Zhao QM, Wu XM, Zhang PH, et al. Presence of pathogenic *Borrelia burgdorferi* sensu lato in ticks and rodents in Zhejiang, south-east China. J Med Microbiol. 2008 Aug;57:980-5.
13. Masuzawa T. Terrestrial distribution of the Lyme borreliosis agent *Borrelia burgdorferi* sensu lato in East Asia. Jpn J Infect Dis. 2004 Dec;57(6):229-35.
14. Shapiro ED, Gerber MA. Lyme disease. Clin Infect Dis. 2000 Aug;31(2):533-42.

15. Rosa PA, Tilly K, Stewart PE. The burgeoning molecular genetics of the Lyme disease spirochaete. *Nat Rev Microbiol.* 2005 Feb;3(2):129-43.
16. Piesman J, Zeidner NS, Schneider BS. Dynamic changes in *Borrelia burgdorferi* populations in *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) during transmission: studies at the mRNA level. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2003 Fall;3(3):125-32.
17. Straubinger RK, Straubinger AF, Summers BA, Jacobson RH. Status of *Borrelia burgdorferi* infection after antibiotic treatment and the effects of corticosteroids: An experimental study. *J Infect Dis.* 2000 Mar;181(3):1069-81.
18. He M, Boardman BK, Yan D, Yang XF. Regulation of expression of the fibronectin-binding protein BBK32 in *Borrelia burgdorferi*. *J Bacteriol.* 2007 Nov;189(22):8377-80.
19. Wikel SK. Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission. *Int J Parasitol.* 1999 Jun;29(6):851-9.
20. Richter D, Debski A, Hubalek Z, Matuschka FR. Absence of Lyme Disease Spirochetes in Larval *Ixodes ricinus* Ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011 Sep 16.
21. Aberer E. Lyme borreliosis--an update. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2007 May;5(5):406-14.
22. Albert S, Schulze J, Riegel H, Brade V. Lyme arthritis in a 12-year-old patient after a latency period of 5 years. *Infection.* 1999;27(4-5):286-8.
23. Strle F, Wormser GP, Mead P, Dhaduvai K, Longo MV, Adenikinju O, et al. Gender Disparity between Cutaneous and Non-Cutaneous Manifestations of Lyme Borreliosis. *PLoS One.* 2013;8(5):e64110.
24. Schutzer SE, Berger BW, Krueger JG, Eshoo MW, Ecker DJ, Aucott JN. Atypical erythema migrans in patients with PCR-positive Lyme disease. *Emerg Infect Dis.* 2013 May;19(5):815-7.
25. Wilson TC, Legler A, Madison KC, Fairley JA, Swick BL. Erythema migrans: a spectrum of histopathologic changes. *Am J Dermatopathol.* 2012 Dec;34(8):834-7.
26. Mullegger RR, Glatz M. Skin manifestations of lyme borreliosis: diagnosis and management. *Am J Clin Dermatol.* 2008;9(6):355-68.
27. Strle F, Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of lyme borreliosis. *Curr Probl Dermatol.* 2009;37:51-110.

28. Weed B, Davis MD. Lyme disease presenting with multiple erythema migrans lesions: an illustrative case. *Int J Dermatol*. 2003 Sep;42(9):715-7.
29. Mullegger RR. Dermatological manifestations of Lyme borreliosis. *Eur J Dermatol*. 2004 Sep-Oct;14(5):296-309.
30. Strle F, Ruzic-Sabljić E, Logar M, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Cimperman J, et al. Comparison of erythema migrans caused by *Borrelia burgdorferi* and *Borrelia garinii*. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2011 Sep;11(9):1253-8.
31. Jones KL, Muellegger RR, Means TK, Lee M, Glickstein LJ, Damle N, et al. Higher mRNA levels of chemokines and cytokines associated with macrophage activation in erythema migrans skin lesions in patients from the United States than in patients from Austria with Lyme borreliosis. *Clin Infect Dis*. 2008 Jan 1;46(1):85-92.
32. Strle F, Nadelman RB, Cimperman J, Nowakowski J, Picken RN, Schwartz I, et al. Comparison of culture-confirmed erythema migrans caused by *Borrelia burgdorferi sensu stricto* in New York State and by *Borrelia afzelii* in Slovenia. *Ann Intern Med*. 1999 Jan 5;130(1):32-6.
33. Tjisse-Klasen E, Pandak N, Hengeveld P, Takumi K, Koopmans MP, Sprong H. Ability to cause erythema migrans differs between *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolates. *Parasit Vectors*. 2013;6:23.
34. Eriksson P, Schroder MT, Niiranen K, Nevanlinna A, Panelius J, Ranki A. The Many Faces of Solitary and Multiple Erythema Migrans. *Acta Derm Venereol*. 2013 Feb 28.
35. Benedix F, Weide B, Broekaert S, Metzler G, Frick JS, Burgdorf WH, et al. Early disseminated borreliosis with multiple erythema migrans and elevated liver enzymes: case report and literature review. *Acta Derm Venereol*. 2007;87(5):418-21.
36. Stanek G, Strle F. Lyme disease: European perspective. *Infect Dis Clin North Am*. 2008 Jun;22(2):327-39.
37. Arnez M, Ruzic-Sabljić E. *Borrelia burgdorferi sensu lato* bacteremia in Slovenian children with solitary and multiple erythema migrans. *Pediatr Infect Dis J*. 2011 Nov;30(11):988-90.
38. Lenormand C, Jaulhac B, De Martino S, Barthel C, Lipsker D. Species of *Borrelia burgdorferi* complex that cause borrelial lymphocytoma in France. *Br J Dermatol*. 2009 Jul;161(1):174-6.
39. Pohl-Koppe A, Wilske B, Weiss M, Schmidt H. *Borrelia* lymphocytoma in childhood. *Pediatr Infect Dis J*. 1998 May;17(5):423-6.

40. Vasudevan B, Chatterjee M. Lyme borreliosis and skin. *Indian J Dermatol*. 2013 May;58(3):167-74.
41. Wormser GP, McKenna D, Carlin J, Nadelman RB, Cavaliere LF, Holmgren D, et al. Brief communication: hematogenous dissemination in early Lyme disease. *Ann Intern Med*. 2005 May 3;142(9):751-5.
42. Roux F, Boyer E, Jaulhac B, Dernis E, Closs-Prophette F, Puechal X. Lyme meningoradiculitis: prospective evaluation of biological diagnosis methods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007 Oct;26(10):685-93.
43. Hildenbrand P, Craven DE, Jones R, Nemeskal P. Lyme neuroborreliosis: manifestations of a rapidly emerging zoonosis. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2009 Jun;30(6):1079-87.
44. Eikeland R, Ljostad U, Mygland A, Herlofson K, Lohaugen GC. European neuroborreliosis: neuropsychological findings 30 months post-treatment. *Eur J Neurol*. 2012 Mar;19(3):480-7.
45. Rocha R, Lisboa L, Neves J, Garcia Lopez M, Santos E, Ribeiro A. Neuroborreliosis presenting as acute disseminated encephalomyelitis. *Pediatr Emerg Care*. 2012 Dec;28(12):1374-6.
46. Skogman BH, Glimaker K, Nordwall M, Vrethem M, Odkvist L, Forsberg P. Long-term clinical outcome after Lyme neuroborreliosis in childhood. *Pediatrics*. 2012 Aug;130(2):262-9.
47. Ogrinc K, Lotric-Furlan S, Maraspin V, Lusa L, Cerar T, Ruzic-Sabljić E, et al. Suspected Early Lyme Neuroborreliosis in Patients With Erythema Migrans. *Clin Infect Dis*. 2013 Jun 13.
48. Cohn KA, Thompson AD, Shah SS, Hines EM, Lyons TW, Welsh EJ, et al. Validation of a clinical prediction rule to distinguish Lyme meningitis from aseptic meningitis. *Pediatrics*. 2012 Jan;129(1):46-53.
49. Bremell D, Hagberg L. Clinical characteristics and cerebrospinal fluid parameters in patients with peripheral facial palsy caused by Lyme neuroborreliosis compared with facial palsy of unknown origin (Bell's palsy). *BMC Infect Dis*. 2011;11:215.
50. Broekhuijsen-van Henten DM, Braun KP, Wolfs TF. Clinical presentation of childhood neuroborreliosis; neurological examination may be normal. *Arch Dis Child*. 2010 Nov;95(11):910-4.
51. Francisco T, Marques M, Vieira JP, Brito MJ. Bilateral facial palsy: a form of neuroborreliosis presentation in paediatric age. *BMJ Case Rep*. 2013;2013.

52. Tveitnes D, Natas OB, Skadberg O, Oymar K. Lyme meningitis, the major cause of childhood meningitis in an endemic area: a population based study. *Arch Dis Child*. 2012 Mar;97(3):215-20.
53. Cook SP, Macartney KK, Rose CD, Hunt PG, Eppes SC, Reilly JS. Lyme disease and seventh nerve paralysis in children. *Am J Otolaryngol*. 1997 Sep-Oct;18(5):320-3.
54. Drack FD, Weissert M. Outcome of peripheral facial palsy in children - a catamnestic study. *Eur J Paediatr Neurol*. 2013 Mar;17(2):185-91.
55. Steere AC, Batsford WP, Weinberg M, Alexander J, Berger HJ, Wolfson S, et al. Lyme carditis: cardiac abnormalities of Lyme disease. *Ann Intern Med*. 1980 Jul;93(1):8-16.
56. Krause PJ, Bockenstedt LK. Cardiology patient pages. Lyme disease and the heart. *Circulation*. 2013 Feb 19;127(7):451-4.
57. Maher B, Murday D, Harden SP. Cardiac MRI of Lyme disease myocarditis. *Heart*. 2012 Feb;98(3):264.
58. Frank DB, Patel AR, Sanchez GR, Shah MJ, Bonney WJ. Junctional tachycardia in a child with Lyme carditis. *Pediatr Cardiol*. 2011 Jun;32(5):689-91.
59. Hidri N, Barraud O, de Martino S, Garnier F, Paraf F, Martin C, et al. Lyme endocarditis. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Dec;18(12):531-2.
60. Karmacharya P, Aryal MR. Heart stopping tick. *World J Cardiol*. 2013 May 26;5(5):148-50.
61. Bhattacharya IS, Dweck M, Francis M. Lyme carditis: a reversible cause of complete atrioventricular block. *J R Coll Physicians Edinb*. 2010 Jun;40(2):121-2.
62. Greenberg YJ, Brennan JJ, Rosenfeld LE. Lyme myocarditis presenting as fascicular tachycardia with underlying complete heart block. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1997 Mar;8(3):323-4.
63. Kaltman JR, Tanel RE, Vetter VL, Shah MJ, Rhodes LA. Junctional rhythm in association with neuroborreliosis. *Pediatr Emerg Care*. 2005 Dec;21(12):850-3.
64. Woolf PK, Lorsung EM, Edwards KS, Li KI, Kanengiser SJ, Ruddy RM, et al. Electrocardiographic findings in children with Lyme disease. *Pediatr Emerg Care*. 1991 Dec;7(6):334-6.
65. Koene R, Boulware DR, Kemperman M, Konety SH, Groth M, Jessurun J, et al. Acute heart failure from lyme carditis. *Circ Heart Fail*. 2012 Mar 1;5(2):24-6.

66. Blanc F, Ballonzoli L, Marcel C, De Martino S, Jaulhac B, de Seze J. Lyme optic neuritis. *J Neurol Sci.* 2010 Aug 15;295(1-2):117-9.
67. McVeigh K, Vakros G. Case report: papillitis as the sole ocular sign in Lyme disease. *Clin Ophthalmol.* 2012;6:1093-7.
68. Sharma V, Biswas S. Self-limiting fourth and sixth cranial nerve palsy after Lyme disease. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 2010 Mar-Apr;47(2):114-6.
69. Sauer A, Hansmann Y, Jaulhac B, Bourcier T, Speeg-Schatz C. Five cases of paralytic strabismus as a rare feature of lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2009 Mar 15;48(6):756-9.
70. Traisk F, Lindquist L. Optic nerve involvement in Lyme disease. *Curr Opin Ophthalmol.* 2012 Nov;23(6):485-90.
71. Smetanick MT, Zellis SL, Ermolovich T. Acrodermatitis chronica atrophicans: a case report and review of the literature. *Cutis.* 2010 May;85(5):247-52.
72. Aberer E, Klade H. Cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. *Infection.* 1991 Jul-Aug;19(4):284-6.
73. Lipsker D. Borrélioses cutanées. *Thérapeutique dermatologique*; 2005. <http://www.therapeutique-dermatologique.org/spip.php?article1037>
74. Kindstrand E, Nilsson BY, Hovmark A, Pirskanen R, Asbrink E. Peripheral neuropathy in acrodermatitis chronica atrophicans - a late *Borrelia* manifestation. *Acta Neurol Scand.* 1997 Jun;95(6):338-45.
75. Liang FT, Philipp MT. Analysis of antibody response to invariable regions of VlsE, the variable surface antigen of *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun.* 1999 Dec;67(12):6702-6.
76. Radolf JD, Caimano MJ, Stevenson B, Hu LT. Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. *Nat Rev Microbiol.* 2012 Feb;10(2):87-99.
77. Steere AC, Malawista SE, Snyderman DR, Shope RE, Andiman WA, Ross MR, et al. Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three connecticut communities. *Arthritis Rheum.* 1977 Jan-Feb;20(1):7-17.
78. Thompson A, Mannix R, Bachur R. Acute pediatric monoarticular arthritis: distinguishing lyme arthritis from other etiologies. *Pediatrics.* 2009 Mar;123(3):959-65.

79. Steere AC, Schoen RT, Taylor E. The clinical evolution of Lyme arthritis. *Ann Intern Med.* 1987 Nov;107(5):725-31.
80. Milewski MD, Cruz AI, Jr., Miller CP, Peterson AT, Smith BG. Lyme arthritis in children presenting with joint effusions. *J Bone Joint Surg Am.* 2011 Feb 2;93(3):252-60.
81. Ross JJ, Hu LT. Bacterial and Lyme Arthritis. *Curr Infect Dis Rep.* 2004 Oct;6(5):380-7.
82. Deanehan JK, Kimia AA, Tan Tanny SP, Milewski MD, Talusan PG, Smith BG, et al. Distinguishing Lyme from septic knee monoarthritis in Lyme disease-endemic areas. *Pediatrics.* 2013 Mar;131(3):695-701.
83. Culp RW, Eichenfield AH, Davidson RS, Drummond DS, Christofersen MR, Goldsmith DP. Lyme arthritis in children. An orthopaedic perspective. *J Bone Joint Surg Am.* 1987 Jan;69(1):96-9.
84. Cristofaro RL, Appel MH, Gelb RI, Williams CL. Musculoskeletal manifestations of Lyme disease in children. *J Pediatr Orthop.* 1987 Sep-Oct;7(5):527-30.
85. Willis AA, Widmann RF, Flynn JM, Green DW, Onel KB. Lyme arthritis presenting as acute septic arthritis in children. *J Pediatr Orthop.* 2003 Jan-Feb;23(1):114-8.
86. Smith BG, Cruz AI, Jr., Milewski MD, Shapiro ED. Lyme disease and the orthopaedic implications of lyme arthritis. *J Am Acad Orthop Surg.* 2011 Feb;19(2):91-100.
87. Limbach FX, Jaulhac B, Puechal X, Monteil H, Kuntz JL, Piemont Y, et al. Treatment resistant Lyme arthritis caused by *Borrelia garinii*. *Ann Rheum Dis.* 2001 Mar;60(3):284-6.
88. Tory HO, Zurakowski D, Sundel RP. Outcomes of children treated for Lyme arthritis: results of a large pediatric cohort. *J Rheumatol.* 2010 May;37(5):1049-55.
89. Huppertz HI, Bartmann P, Heining U, Fingerle V, Kinet M, Klein R, et al. Rational diagnostic strategies for Lyme borreliosis in children and adolescents: recommendations by the Committee for Infectious Diseases and Vaccinations of the German Academy for Pediatrics and Adolescent Health. *Eur J Pediatr.* 2012 Nov;171(11):1619-24.
90. Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. Lyme borreliosis. *Lancet.* 2012 Feb 4;379(9814):461-73.

91. Glatz M, Fingerle V, Wilske B, Ambros-Rudolph C, Kerl H, Mullegger RR. Immunoblot analysis of the seroreactivity to recombinant *Borrelia burgdorferi* sensu lato antigens, including VlsE, in the long-term course of treated patients with erythema migrans. *Dermatology*. 2008;216(2):93-103.
92. Fallon BA, Keilp JG, Corbera KM, Petkova E, Britton CB, Dwyer E, et al. A randomized, placebo-controlled trial of repeated IV antibiotic therapy for Lyme encephalopathy. *Neurology*. 2008 Mar 25;70(13):992-1003.
93. Krupp LB, Hyman LG, Grimson R, Coyle PK, Melville P, Ahnn S, et al. Study and treatment of post Lyme disease (STOP-LD): a randomized double masked clinical trial. *Neurology*. 2003 Jun 24;60(12):1923-30.
94. Klempner MS, Hu LT, Evans J, Schmid CH, Johnson GM, Trevino RP, et al. Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. *N Engl J Med*. 2001 Jul 12;345(2):85-92.
95. Coons AH, Kaplan MH. Localization of antigen in tissue cells; improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *J Exp Med*. 1950 Jan 1;91(1):1-13.
96. Sabin FR. Cellular Reactions to a Dye-Protein with a Concept of the Mechanism of Antibody Formation. *J Exp Med*. 1939 Jun 30;70(1):67-82.
97. Hemmila I. Fluoroimmunoassays and immunofluorometric assays. *Clin Chem*. 1985 Mar;31(3):359-70.
98. Goldman M. Staining toxoplasma gondii with fluorescein-labelled antibody. II. A new serologic test for antibodies to *Toxoplasma* based upon inhibition of specific staining. *J Exp Med*. 1957 Jun 1;105(6):557-73.
99. Berson SA, Yalow RS. General principles of radioimmunoassay. *Clin Chim Acta*. 1968 Sep;22(1):51-69.
100. Berson SA, Yalow RS. General principles of radioimmunoassay. 1968. *Clin Chim Acta*. 2006 Jul 23;369(2):125-43.
101. Lequin RM. Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Clin Chem*. 2005 Dec;51(12):2415-8.
102. Cais M, Dani S, Eden Y, Gandolfi O, Horn M, Isaacs EE, et al. Metalloimmunoassay. *Nature*. 1977 Dec 8;270(5637):534-5.
103. Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*. 1971 Sep;8(9):871-4.

104. Engvall E. The ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Chem.* 2010 Feb;56(2):319-20.
105. Engvall E, Jonsson K, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay. II. Quantitative assay of protein antigen, immunoglobulin G, by means of enzyme-labelled antigen and antibody-coated tubes. *Biochim Biophys Acta.* 1971 Dec 28;251(3):427-34.
106. Voller A, Bidwell D, Huldt G, Engvall E. A microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay and its application to malaria. *Bull World Health Organ.* 1974;51(2):209-11.
107. Van Weemen BK, Schuurs AH. Immunoassay using antigen-enzyme conjugates. *FEBS Lett.* 1971 Jun 24;15(3):232-6.
108. Voller A, Bartlett A, Bidwell DE. Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. *J Clin Pathol.* 1978 Jun;31(6):507-20.
109. Wisdom GB. Enzyme-immunoassay. *Clin Chem.* 1976 Aug;22(8):1243-55.
110. Maiolini R, Ferrua B, Masseyeff R. Enzymoimmunoassay of human alpha-fetoprotein. *J Immunol Methods.* 1975 Feb;6(4):355-62.
111. Maiolini R, Masseyeff R. A sandwich method of enzymoimmunoassay. I. Application to rat and human alpha-fetoprotein. *J Immunol Methods.* 1975 Sep;8(3):223-34.
112. Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay, Elisa. 3. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. *J Immunol.* 1972 Jul;109(1):129-35.
113. Locarnini SA, Garland SM, Lehmann NI, Pringle RC, Gust ID. Solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay for detection of hepatitis A virus. *J Clin Microbiol.* 1978 Sep;8(3):277-82.
114. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Bull World Health Organ.* 1976;54(2):129-39.
115. Holmgren J, Svennerholm AM. Enzyme-linked immunosorbent assays for cholera serology. *Infect Immun.* 1973 May;7(5):759-63.
116. van Weemen BK. The rise of EIA/ELISA. *Clin Chem.* 2005 Dec;51(12):2226.
117. Burnette WN. "Western blotting": electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate--polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and

radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Anal Biochem.* 1981 Apr;112(2):195-203.

118. Southern EM, Mitchell AR. Chromatography of nucleic acid digests on thin layers of cellulose impregnated with polyethyleneimine. *Biochem J.* 1971 Jul;123(4):613-7.

119. Burnette WN. Western blotting. *Clin Chem.* 2011 Jan;57(1):132-3.

120. MacPhee DJ. Methodological considerations for improving Western blot analysis. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2010 Mar-Apr;61(2):171-7.

121. Mahmood T, Yang PC. Western blot: technique, theory, and trouble shooting. *N Am J Med Sci.* 2012 Sep;4(9):429-34.

122. Jensen EC. The basics of western blotting. *Anat Rec (Hoboken).* 2012 Mar;295(3):369-71.

123. Wright WF, Riedel DJ, Talwani R, Gilliam BL. Diagnosis and management of Lyme disease. *Am Fam Physician.* 2012 Jun 1;85(11):1086-93.

124. Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I, Wormser GP. Diagnosis of lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev.* 2005 Jul;18(3):484-509.

125. Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007 Feb;49(1):13-21.

126. Branda JA, Aguero-Rosenfeld ME, Ferraro MJ, Johnson BJ, Wormser GP, Steere AC. 2-tiered antibody testing for early and late Lyme disease using only an immunoglobulin G blot with the addition of a VlsE band as the second-tier test. *Clin Infect Dis.* 2010 Jan 1;50(1):20-6.

127. Dumler JS. Molecular diagnosis of Lyme disease: review and meta-analysis. *Mol Diagn.* 2001 Mar;6(1):1-11.

128. Hauser U, Lehnert G, Wilske B. Validity of interpretation criteria for standardized Western blots (immunoblots) for serodiagnosis of Lyme borreliosis based on sera collected throughout Europe. *J Clin Microbiol.* 1999 Jul;37(7):2241-7.

129. Tavolacci M-P. Etudes diagnostiques.
<http://www.univ-rouen.fr/servlet/com.univ.utils>

130. Fabbro-Peray P. Evaluation des procédures diagnostiques. 2010.
http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_2/Autres-Mod-Oblig/MB6/commun/MB6_Epidemio_RC_evaluation_diagnostique.pdf

131. Karlsson M. Western immunoblot and flagellum enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol.* 1990 Sep;28(9):2148-50.
132. Wilske B, Fingerle V, Herzer P, Hofmann A, Lehnert G, Peters H, et al. Recombinant immunoblot in the serodiagnosis of Lyme borreliosis. Comparison with indirect immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assay. *Med Microbiol Immunol.* 1993 Nov;182(5):255-70.
133. Ryffel K, Peter O, Binet L, Dayer E. Interpretation of immunoblots for Lyme borreliosis using a semiquantitative approach. *Clin Microbiol Infect.* 1998 Apr;4(4):205-12.
134. Kaiser R, Rauer S. Serodiagnosis of neuroborreliosis: comparison of reliability of three confirmatory assays. *Infection.* 1999 May-Jun;27(3):177-82.
135. Goossens HA, van den Bogaard AE, Nohlmans MK. Evaluation of fifteen commercially available serological tests for diagnosis of Lyme borreliosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999 Aug;18(8):551-60.
136. Blaauw AA, van Loon AM, Schellekens JF, Bijlsma JW. Clinical evaluation of guidelines and two-test approach for lyme disease. *Rheumatology (Oxford).* 1999 Nov;38(11):1121-6.
137. Ruzic-Sabljić E, Maraspin V, Cimperman J, Lotric-Furlan S, Strle F. Evaluation of immunofluorescence test (IFT) and immuno (western) blot (WB) test in patients with erythema migrans. *Wien Klin Wochenschr.* 2002 Jul 31;114(13-14):586-90.
138. Ang CW, Notermans DW, Hommes M, Simoons-Smit AM, Herremans T. Large differences between test strategies for the detection of anti-Borrelia antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011 Aug;30(8):1027-32.
139. Busson L, Reynders M, Van den Wijngaert S, Dahma H, Decolvenaer M, Vasseur L, et al. Evaluation of commercial screening tests and blot assays for the diagnosis of Lyme borreliosis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012 Jul;73(3):246-51.
140. Engstrom SM, Shoop E, Johnson RC. Immunoblot interpretation criteria for serodiagnosis of early Lyme disease. *J Clin Microbiol.* 1995 Feb;33(2):419-27.
141. Grodzicki RL, Steere AC. Comparison of immunoblotting and indirect enzyme-linked immunosorbent assay using different antigen preparations for diagnosing early Lyme disease. *J Infect Dis.* 1988 Apr;157(4):790-7.
142. Dressler F, Whalen JA, Reinhardt BN, Steere AC. Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease. *J Infect Dis.* 1993 Feb;167(2):392-400.

143. Agüero-Rosenfeld ME, Nowakowski J, McKenna DF, Carbonaro CA, Wormser GP. Serodiagnosis in early Lyme disease. *J Clin Microbiol.* 1993 Dec;31(12):3090-5.
144. Craven RB, Quan TJ, Bailey RE, Dattwyler R, Ryan RW, Sigal LH, et al. Improved serodiagnostic testing for Lyme disease: results of a multicenter serologic evaluation. *Emerg Infect Dis.* 1996 Apr-Jun;2(2):136-40.
145. Trevejo RT, Krause PJ, Schriefer ME, Dennis DT. Evaluation of a two-test serodiagnostic method for community assessment of Lyme disease in an endemic area. *Am J Trop Med Hyg.* 2001 Nov;65(5):563-6.
146. Lindenmayer J, Weber M, Bryant J, Marquez E, Onderdonk A. Comparison of indirect immunofluorescent-antibody assay, enzyme-linked immunosorbent assay, and Western immunoblot for the diagnosis of Lyme disease in dogs. *J Clin Microbiol.* 1990 Jan;28(1):92-6.
147. Blackburn ME. Précision et exactitude. Chemistry department, University of Alberta. 2006.
148. Gerber B. Follow-up of Bernese Mountain dogs and other dogs with serologically *Borrelia burgdorferi* infection : what happens to seropositive animals? *BMC Vet Res.* 2009;5(18).
149. Chmielewska-Badora J, Cisak E, Wojcik-Fatla A, Zwolinski J, Buczek A, Dutkiewicz J. Correlation of tests for detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in patients with diagnosed borreliosis. *Ann Agric Environ Med.* 2006;13(2):307-11.
150. Wormser GP, Carbonaro C, Miller S, Nowakowski J, Nadelman RB, Sivak S, et al. A limitation of 2-stage serological testing for Lyme disease: enzyme immunoassay and immunoblot assay are not independent tests. *Clin Infect Dis.* 2000 Mar;30(3):545-8.
151. Seriburi V, Ndukwe N, Chang Z, Cox ME, Wormser GP. High frequency of false positive IgM immunoblots for *Borrelia burgdorferi* in clinical practice. *Clin Microbiol Infect.* 2012 Dec;18(12):1236-40.
152. Luft BJ, Dunn JJ, Dattwyler RJ, Gorgone G, Gorevic PD, Schubach WH. Cross-reactive antigenic domains of the flagellin protein of *Borrelia burgdorferi*. *Res Microbiol.* 1993 May;144(4):251-7.
153. Weiss NL, Sadock VA, Sigal LH, Phillips M, Merryman PF, Abramson SB. False positive seroreactivity to *Borrelia burgdorferi* in systemic lupus erythematosus: the value of immunoblot analysis. *Lupus.* 1995 Apr;4(2):131-7.

154. Sood SK, Rubin LG, Blader ME, Ilowite NT. Positive serology for Lyme borreliosis in patients with juvenile rheumatoid arthritis in a Lyme borreliosis endemic area: analysis by immunoblot. *J Rheumatol*. 1993 Apr;20(4):739-41.
155. Branda JA, Strle F, Strle K, Sikand N, Ferraro MJ, Steere AC. Performance of United States Serologic Assays in the Diagnosis of Lyme Borreliosis Acquired in Europe. *Clin Infect Dis*. 2013 May 3.
156. Robertson J, Guy E, Andrews N, Wilske B, Anda P, Granstrom M, et al. A European multicenter study of immunoblotting in serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol*. 2000 Jun;38(6):2097-102.
157. Nilsson I, von Rosen IA. Serum antibodies against *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and the 41-kiloDalton flagellin in patients from a Lyme borreliosis endemic area: analysis by EIA and immunoblot. *APMIS*. 1996 Dec;104(12):907-14.
158. Hernandez-Novoa B, Orduna A, Bratos MA, Eiros JM, Fernandez JM, Gutierrez MP, et al. Utility of a commercial immunoblot kit (BAG-Borrelia blot) in the diagnosis of the preliminary stages of Lyme disease. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003 Sep;47(1):321-9.
159. Dunand VA, Bretz AG, Suard A, Praz G, Dayer E, Peter O. Acrodermatitis chronica atrophicans and serologic confirmation of infection due to *Borrelia afzelii* and/or *Borrelia garinii* by immunoblot. *Clin Microbiol Infect*. 1998 Mar;4(3):159-62.
160. Mavin S, Evans R, Milner RM, Chatterton JM, Ho-Yen DO. Local *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and *Borrelia afzelii* strains in a single mixed antigen improves western blot sensitivity. *J Clin Pathol*. 2009 Jun;62(6):552-4.
161. Marangoni A, Sambri V, Olmo A, D'Antuono A, Negosanti M, Cevenini R. IgG western blot as a confirmatory test in early syphilis. *Zentralbl Bakteriol*. 1999 Apr;289(2):125-33.
162. Backhouse JL, Nesteroff SI. *Treponema pallidum* western blot: comparison with the FTA-ABS test as a confirmatory test for syphilis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2001 Jan;39(1):9-14.
163. Binnicker MJ, Jespersen DJ, Rollins LO. *Treponema*-specific tests for serodiagnosis of syphilis: comparative evaluation of seven assays. *J Clin Microbiol*. 2011 Apr;49(4):1313-7.
164. Pollet DE, Saman EL, Peeters DC, Warmenbol HM, Heyndrickx LM, Wouters CJ, et al. Confirmation and differentiation of antibodies to human immunodeficiency virus 1

and 2 with a strip-based assay including recombinant antigens and synthetic peptides. *Clin Chem.* 1991 Oct;37:1700-7.

165. Qiu M, Liu X, Jiang Y, Nkengasong JN, Xing W, Pei L, et al. Current HIV-2 diagnostic strategy overestimates HIV-2 prevalence in China. *J Med Virol.* 2009 May;81(5):790-7.

166. Zaaijer HL, van Rixel GA, Kromosoeto JN, Balgobind-Ramdas DR, Cuypers HT, Lelie PN. Validation of a new immunoblot assay (LiaTek HIV III) for confirmation of human immunodeficiency virus infection. *Transfusion.* 1998 Aug;38(8):776-81.

167. Dussaix E, Charnaux N, Laurent-Puig P, Chopineau S, Laurian Y, Buffet C. Analysis of sera indeterminate by Ortho-HCV RIBA-2 by using three confirmatory assays for anti-hepatitis C virus antibody. *J Clin Microbiol.* 1994 Sep;32(9):2071-5.

168. Ponde RA. Enzyme-linked immunosorbent/chemiluminescence assays, recombinant immunoblot assays and nucleic acid tests in the diagnosis of HCV infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013 Aug;32(8):985-8.

169. Erensoy S. Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection and laboratory monitoring of its therapy. *J Clin Virol.* 2001 Jun;21(3):271-81.

170. Sabino EC, Zrein M, Taborda CP, Otani MM, Ribeiro-Dos-Santos G, Saez-Alquezar A. Evaluation of the INNO-LIA HTLV I/II assay for confirmation of human T-cell leukemia virus-reactive sera in blood bank donations. *J Clin Microbiol.* 1999 May;37(5):1324-8.

171. Schubert J, Zens W, Weissbrich B. Comparative evaluation of the use of immunoblots and of IgG avidity assays as confirmatory tests for the diagnosis of acute EBV infections. *J Clin Virol.* 1998 Dec;11(3):161-72.

172. Hess RD. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. *J Clin Microbiol.* 2004 Aug;42(8):3381-7.

173. De Paschale M. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions. *World J Virol.* 2012 Feb;1(1):31-43.

174. Altuglu I, Bozkurt H, Samlioglu P, Zeytinoglu A. Evaluation of three different assays for the assessment of Epstein Barr Virus immunological status. *New Microbiol.* 2007 Oct;30(4):393-8.

175. Magnaval JF, Fabre R, Maurieres P, Charlet JP, de Larrard B. Application of the western blotting procedure for the immunodiagnosis of human toxocariasis. *Parasitol Res.* 1991;77(8):697-702.

176. Fillaux J, Magnaval JF. Laboratory diagnosis of human toxocariasis. *Vet Parasitol.* 2013 Apr 15;193(4):327-36.
177. Tappe D, Gruner B, Kern P, Frosch M. Evaluation of a commercial Echinococcus Western Blot assay for serological follow-up of patients with alveolar echinococcosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2008 Nov;15(11):1633-7.
178. Liance M, Janin V, Bresson-Hadni S, Vuitton DA, Houin R, Piarroux R. Immunodiagnosis of Echinococcus infections: confirmatory testing and species differentiation by a new commercial Western Blot. *J Clin Microbiol.* 2000 Oct;38(10):3718-21.
179. Carvalho GB, Silva-Pereira RA, Pacifico LG, Fonseca CT. Identification of Schistosoma mansoni candidate antigens for diagnosis of schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011 Nov;106(7):837-43.
180. Paul M, Petersen E, Szczapa J. Prevalence of congenital Toxoplasma gondii infection among newborns from the Poznan region of Poland: validation of a new combined enzyme immunoassay for Toxoplasma gondii-specific immunoglobulin A and immunoglobulin M antibodies. *J Clin Microbiol.* 2001 May;39(5):1912-6.
181. Mogilyansky E, Loa CC, Adelson ME, Mordechai E, Tilton RC. Comparison of Western immunoblotting and the C6 Lyme antibody test for laboratory detection of Lyme disease. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2004 Sep;11(5):924-9.
182. Steere AC, McHugh G, Damle N, Sikand VK. Prospective study of serologic tests for Lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2008 Jul 15;47(2):188-95.
183. Wormser GP, Schriefer M, Aguero-Rosenfeld ME, Levin A, Steere AC, Nadelman RB, et al. Single-tier testing with the C6 peptide ELISA kit compared with two-tier testing for Lyme disease. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012 Oct 10.
184. Burkot TR, Schriefer ME, Larsen SA. Cross-reactivity to Borrelia burgdorferi proteins in serum samples from residents of a tropical country nonendemic for Lyme disease. *J Infect Dis.* 1997 Feb;175(2):466-9.

/Résumé de la thèse

Les présentations cliniques de la borréliose de Lyme sont multiples et non spécifiques, sa confirmation biologique est indispensable hormis au stade d'érythème migrant (EM). La sérologie est la méthode de choix de dépistage devant les limites des cultures et de la PCR.

L'objectif de cette étude était d'évaluer la place du Western-blot dans le sérodiagnostic de la borréliose de Lyme.

Matériel et méthodes : l'analyse exhaustive de la littérature s'était faite via le moteur de recherche Pubmed. Les articles inclus devaient analyser les capacités de ce test chez des patients malades (cas) ou sains (témoins).

Résultats : Seize articles étaient inclus. Les analyses comparatives de sensibilité et spécificité ainsi que les critères de positivité et d'analyse de chaque test étaient répertoriés.

Discussion : Il y avait une grande variabilité de tests réalisés, d'antigènes utilisés pour ces tests et de patients étudiés. La sensibilité des méthodes ELISA était supérieure à celle du Western-blot et en faisait un meilleur test de dépistage. D'autre part, le Western-blot était plus spécifique, caractéristique nécessaire pour un bon test de confirmation. Dans un seul cas le Western-blot était plus sensible que les méthodes ELISA : à la phase précoce c'est à dire au stade d'EM. Or l'EM est pathognomonique de la borréliose de Lyme, un test sérologique à ce stade n'entraîne aucun changement de prise en charge et n'a donc pas d'intérêt.

Parallèlement, dans les autres sérodiagnostics réalisés en microbiologie, aucun n'utilise de Western-blot en première intention dans la pratique courante.

/Titre en anglais

Western-blot and the serodiagnosis of Lyme borreliosis.

/Thèse : Médecine spécialisée-Année 2013

/Mots clefs : Borréliose de Lyme, Western-blot, sérodiagnostic

/Intitulé et Adresse :

Université de Lorraine
Faculté de médecine de Nancy
9, avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE DES NANCY Cedex
