

La séropositivité sans signe clinique patent a peu de valeur car de nombreux herbivores sont séropositifs sans présenter le moindre signe clinique. Deux prélèvements de sérum sont à faire à 15-21 jours d'intervalle.

L'hémagglutination passive :

C'est une méthode qualitative de dépistage dans laquelle les hématies sont revêtues d'un complexe antigénique issu des composants cellulaires de *B. burgdorferi*. Elle est considérée comme un peu moins spécifique que l'ELISA (115).

L'immunocapture :

Cette technique permet de détecter les IgM dirigées contre l'antigène flagellaire biotinylé. Ce test est plus sensible et plus spécifique au début de la maladie ou lors de la neuroborréliose. L'emploi de cet antigène évite les interférences du facteur rhumatoïde (75).

Western-blot : (Figure 19)

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

C'est une méthode non standardisée, ni dans la préparation des antigènes, ni dans la méthode de lecture, ni dans les critères d'interprétation et peu utilisée en routine. L'interprétation du Western-blot est compliquée par l'hétérogénéité antigénique des différentes souches européennes.

Le Western-blot permet de confirmer l'existence d'une sérologie positive ou douteuse en méthode quantitative (43,44).

La première bande qui apparaît en Western-blot correspond à l'anticorps dirigé contre la flagelline (P41), suivie un peu plus tard par d'autres bandes.

Certaines bandes sont communes à différentes espèces bactériennes et sont responsables des réactions croisées observées dans les méthodes quantitatives de dépistage. D'autres sont plus spécifiques de *B. burgdorferi*.

L'interprétation des bandes obtenues en Western-blot est très délicate, plusieurs auteurs ont proposé des critères de positivité (62).

Dressler et al. (57) en 1993, proposent au moins cinq bandes parmi les dix plus fréquentes en IgG après les premières semaines de l'infection : 18, 21, OspC :23-25, 28, 30, 39, 41, 45, 58, 66 et 93 kD.

Engstrom et al. (62) en 1995, proposent deux bandes parmi les trois IgM les plus communes dans la phase précoce de la maladie : 24, 39 et 41 kD.

A l'heure actuelle ces deux dernières études sont à la base d'un consensus aux USA pour l'interprétation du Western-blot. Ces critères ne sont pas applicables en Europe en raison du polymorphisme des souches (79).

Une étude a établi des critères d'interprétation pour le Western-blot vis-à-vis des souches européennes telles que *B. afzelii* et *B. garinii* (79).

++ .

Sur les 62 sérums négatifs en Western blot, 58 l'étaient également en ELISA et en IFI. La spécificité de ces deux tests par rapport au Western blot est identique : 94%.

Le Western blot paraît donc être la technique sérologique la plus fiable et constitue une bonne approche sérologique de confirmation de la maladie de Lyme.

La reproductibilité :

Greene et al. (70) ont fait tester 60 sérums de chiens par 10 laboratoires américains. Les résultats obtenus ont montré une concordance totale de tous les laboratoires pour seulement 32 des 60 sérums soit 53%. Les autres sérums étaient sujets à des interprétations controversées. Sur 60 échantillons testés, il a été compté en moyenne 5 résultats discordants par laboratoire.

Cette étude montre qu'il n'existe aucune procédure définie en ce qui concerne la sérologie. L'antigène utilisé, les réactifs ou le temps d'incubation peuvent varier de façon sensible le résultat d'un laboratoire à l'autre. D'où la nécessité d'une standardisation des différentes méthodes sérologiques afin d'éviter tous résultats discordants.

c- Les réactions croisées.

Quelle que soit la technique utilisée, elles peuvent donner des résultats difficiles à interpréter : faux positifs ou douteux en ELISA ou en IFI, bandes non spécifiques en Western blot.

Ces réactions croisées peuvent être dues à l'existence d'épitopes communs à *B. burgdorferi* et à de nombreuses espèces bactériennes.

En médecine humaine, des faux positifs sont rencontrés dans diverses pathologies comme la mononucléose infectieuse, le SIDA, les herpès *viridae*, les rickettsies, la tuberculose. Ils sont également observés lors de la recherche des IgM surtout dans la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé (5-135).

Par exemple, l'antigène flagellaire de 41 kD est proche de la flagelline de *Treponema pallidum* et la protéine de 60 kD est une protéine commune à un grand nombre de bactéries ou bien encore les protéines de choc thermique dont le poids moléculaire varie de 66 à 73 kD. C'est pourquoi, seules les réactions en Western blot sont considérées comme spécifiques.

Ce sont surtout les sérums de syphilis qui donnent lieu à un grand nombre de réactions croisées. Inversement aucun sérum de borréliose de Lyme ne positive un test VDRL mais quelques-uns sont retrouvés positifs en FTA Abs (Fluorescent Treponemal Antibody absorption). Une sérologie de Lyme ne pourra être prise en considération que si la sérologie syphilitique est négative (115-135).

Cette étude propose :

- pour *B.afzelii* : au moins deux bandes pour les IgG parmi les plus fréquentes : 14, 17, 21, OspC, 30, 39, 43, 58 et 83/100 kD et au moins 1 bande pour les IgM parmi 17, OspC, 39 et une bande large en 41.
- pour *B. garinii* : au moins 1 bande pour les IgG parmi 17b, 21, OspC, 30, 39, 83/100 et au moins 1 bande pour les IgM parmi OspC, 39 ou une bande large en 41.

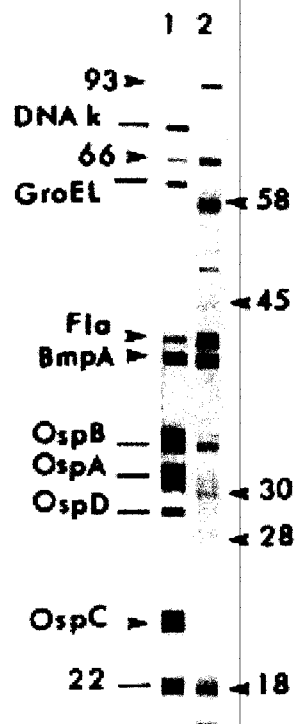


Figure 19 : Résultats d'un Western-blot chez l'homme (36).

1 : Electrophorèse d'une solution d'antigènes de *B. burgdorferi* B31

2 : Electrophorèse d'un sérum humain ayant 10 antigènes marqués dans les critères de positivité.

Chez le cheval, les résultats de Western blot de sérums de poneys infectés expérimentalement par *B.burgdorferi*, montrent des bandes dans les régions p83, p65, p60, p41 et p39. D'après Chang et al. qui ont réalisés cette étude, la présence de ces bandes permet de diagnostiquer la maladie de Lyme chez le cheval (39).

Beaucoup d'autres bandes peuvent être présentes mais ne sont pas spécifiques. Les bandes spécifiques Osp A sont manquantes.

Dans les formes précoces, le test Western blot présente une sensibilité et une spécificité supérieures aux techniques d'IFI ou d'ELISA (71).

En 2002, Muller montre chez des chevaux en Autriche, que la primo-infection avec *B.burgdorferi* a lieu lors de la première année. Les réinfections sont caractérisées par l'apparition de bandes additionnelles. Les chevaux exposés de façon continue aux tiques présentent des Western blot avec des bandes constantes tandis que chez les chevaux non exposés, le nombre de bandes décroît (117).

b- Définition des qualités d'une méthode de sérologie :

La spécificité :

La spécificité est la probabilité d'avoir une réponse négative chez un sujet sain.

$$\text{Spécificité} = \frac{\text{vrais négatifs}}{\text{ensembles des sujets sains}}$$

Plus le seuil de positivité sera élevé, meilleure sera la spécificité : moins de faux positifs.

La spécificité est à peu près similaire pour les deux méthodes les plus utilisées que sont l'ELISA et l'IFI. Leur spécificité sont respectivement de 93,5% et de 92% (99).

La sensibilité :

La sensibilité est la probabilité d'avoir une réponse positive alors que le sujet est malade.

$$\text{Sensibilité} = \frac{\text{vrais positifs}}{(\text{vrais positifs} + \text{faux négatifs})}$$

Un seuil de positivité assez bas permet d'avoir une meilleure sensibilité en dépistant le maximum de sujets infectés mais recrutera des faux positifs.

La fiabilité :

Une étude comparative a été faite par Lindenmayer (99) où 128 sérums de chiens ont été testés par les trois techniques suivantes : l'ELISA, l'IFI et le Western blot.

Les résultats du Western blot ont été pris comme référence et comparés à ceux de l'ELISA et de l'IFI. 85% des chiens positifs en Western blot le sont par la méthode ELISA, alors que 67% le sont par l'IFI. L'ELISA semble donc plus sensible que l'IFI pour la détection des chiens positifs.