

## **Quantification par PCR des organismes *Borrelia burgdorferi* dans les tissus canins sur une période de 500 jours après la période d'infection.**

**Straubinger RK. 2000.**

L'infection à *Borrelia burgdorferi* chez des chiens "beagle" fut étudiée quantitativement avec des biopsies de peau et des échantillons de sang à 4 et 2 semaines d'intervalle, respectivement, sur une période de 500 jours. Par la suite, 25 échantillons de tissu de chaque chien furent collectés pour des analyses plus poussées. En commençant au 120<sup>ème</sup> jour après la piqûre de tique, 12 chiens furent traités avec des antibiotiques (azithromycine, ceftriaxone, ou doxycycline) pendant 30 jours consécutifs. Quatre chiens ne reçurent aucun traitement antibiotique. La quantification de l'ADN de *B. burgdorferi* fut réalisée avec un Système de Détection de Séquence ABI Prism 7700 avec des amorces oligonucléotide et sonde fluorescente étiquetée pour amplifier spécifiquement le fragment du gène *Ops1* de la souche N40 de la *B. burgdorferi*. Les 16 chiens devinrent infectés par *B. burgdorferi* après la piqûre de tique. Dans les échantillons de biopsie de peau, le nombre de spirochètes atteint un pic au jour 60 après l'infection ( $<1.6 \times 10^6$  organismes par 100 microgrammes d'ADN extrait), au moment où des signes d'arthrite se développèrent chez 11 des 16 chiens, et déclinèrent à des niveaux presque indétectables durant les 6 mois suivants. Le nombre d'organismes *B. burgdorferi* détectés dans les échantillons de biopsie de peau étaient inversement corrélés avec les niveaux d'anticorps mesurés lors du test ELISA. Le traitement antibiotique réduisit le montant d'ADN du spirochète détectable dans les tissus de peau par un facteur 1000 ou plus. A la fin de l'expérimentation, l'ADN de *B. burgdorferi* fut détectable à de faibles niveaux ( $10^2$  à  $10^4$  organismes par 100 microgrammes d'ADN extrait) dans de multiples tissus quel que soit le traitement. Toutefois, davantage de tissus étaient positifs chez les chiens non traités que chez les chiens traités, et les échantillons de tissus des chiens non traités étaient aussi positifs par culture. Seuls 1.6% des 576 échantillons de sang de tous les chiens étaient positifs à *B. burgdorferi* par PCR.

## ***Borrelia burgdorferi* détectée par culture et PCR dans des cas de rechute clinique de borréliose de Lyme disséminée.**

**Oksi J, Marjamaki M, Nikoskelainen J, Viljanen MK. 1999.**

Un total de 165 patients avec une borréliose de Lyme disséminée (diagnostiqués entre 1990-94, tous séropositifs excepté un patient positif par culture) furent suivis après un traitement antibiotique, et 32 d'entre eux furent considérés cliniquement comme ayant un échec thérapeutique. Sur 165 patients, 136 furent testés par PCR durant le suivi. La PCR sur le plasma fut positive chez 14 patients entre 0 et 30 mois après l'arrêt du traitement, et 12 de ces patients avaient une rechute clinique. De plus, la *Borrelia burgdorferi* fut cultivée dans le sang de trois des patients lors du suivi. Ces trois patients appartenaient au groupe avec rechute, et deux d'entre eux étaient également positifs par PCR. Ce rapport se focalise sur les 13 patients avec des rechutes cliniques et culture ou PCR positive. Huit des patients avaient des cultures ou prouvées lors du diagnostic initial, le diagnostic des cinq restants était basé seulement sur une sérologie positive. Tous les patients furent traités initialement pendant plus de 3 mois avec des antibiotiques intraveineux et/ou oraux (11 d'entre eux reçurent de la ceftriaxone, neuf pendant 2 semaines, un pendant 3 semaines et un pendant 7 semaines, suivi par des antibiotiques oraux). Le traitement permit seulement un soulagement temporaire des symptômes du patient. Tous sauf un avaient des résultats négatifs par PCR immédiatement après le premier traitement. Les patients furent retraités habituellement avec de la ceftriaxone pendant 4-6 semaines. Aucun d'entre eux n'était positif par PCR après le retraitement. La réponse du retraitement fut considérée comme bonne chez neuf des patients. Nous concluons que le traitement de la borréliose de Lyme avec des antibiotiques appropriés pendant plus de 3 mois peut ne pas éradiquer le spirochète. En utilisant la PCR il est possible d'éviter le retraitement des patients avec des « syndromes post Lyme » et ceux avec des « cicatrices sérologiques » restant détectables des mois ou des années après l'infection.

**Une proposition pour une culture fiable de *Borrelia burgdorferi* sur des patients atteints de maladie de Lyme chronique, même pour ceux qui ont été précédemment traités intensivement. Phillips SE, Mattman LH, Hulinska D, Moayad H. 1998.**

Puisque la culture de *Borrelia burgdorferi* sur des patients atteints de la maladie de Lyme chronique est un événement extraordinairement rare, la clarification de la nature de la maladie et par suite son étiologie ont été difficiles. Une méthode pour cultiver d'une manière fiable et reproductible *B. burgdorferi* du sang des patients malades de Lyme chronique fut recherchée en faisant un essai contrôlé de culture sur du sang en étudiant 47 patients avec une maladie de Lyme chronique. Tous avaient rechuté après des traitements antibiotiques oraux et intraveineux prolongés. 23 patients avec d'autres maladies chroniques servirent de groupe de contrôle. Les cultures positives furent confirmées par immuno-fluorescence des anticorps et microscopie électronique en utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre Ops A, et par PCR OpsA. 43/47 patients (91%) furent positifs sur culture. 23/23 (100%) furent négatifs sur culture. Bien que la persistance de l'infection ait été, jusqu'à aujourd'hui, fortement suggérée pour la maladie de Lyme chronique par PCR et capture d'antigènes, il y a des problèmes importants avec ces tests. Cette nouvelle méthode pour cultiver *B. burgdorferi* issue de patients atteints d'une maladie de Lyme chronique définit d'une manière certaine la nature de la maladie et établit l'étiologie chronique et infectieuse. Cette découverte devrait aider à rétablir les standards de référence des tests de diagnostic de la maladie de Lyme.

**Démonstration ultrastructurale de localisations intracellulaires de *Borrelia burgdorferi* dans l'arthrite de Lyme.**

**Chary-Valckenare I, Jaulhac B, Champigneulle J, Piémont Y, Mainard D, Pourel J. 1998.**

Extrait du texte :

" Des études expérimentales ont démontré que le spirochète peut pénétrer les cellules synoviales résidentes et survivre à cet endroit malgré une exposition à la ceftriaxone, qui n'éradique que les pathogènes extracellulaires. Le cas présent suggère que *B. burgdorferi* peut également être capable de s'abriter dans les cellules synoviales après un traitement antibiotique incomplet. "

**Détection de *Borrelia burgdorferi* par amplification ADN dans les tissus synoviaux de malades atteints d'arthrite de Lyme.**

**Jaulhac B, Chary-Valckenaere I, Sibilija J, Javier RM, Piémont Y, Kuntz JL, Monteil H, Pourel J. 1996.**

Extrait du texte :

"Une méthode de diagnostic directe capable de détecter *B. burgdorferi* ou des composants de *B. burgdorferi* améliorerait notre faculté à diagnostiquer l'arthrite de Lyme. A cet égard, la détection de l'ADN *B. burgdorferi* par le moyen de la méthode PCR devrait s'avérer utile pour le diagnostic d'une maladie de Lyme active. Une forte corrélation entre les résultats de PCR et la culture de tissus de souris infectés expérimentalement fut récemment rapporté. "

" Dans notre série, 3 malades avaient une arthrite de Lyme malgré une thérapie antibiotique : les malades 1 et 12, avaient préalablement été traités par une thérapie antibiotique orale courte (doxycycline 100mg par voie orale, deux fois par jour pendant 3 semaines) et le malade 2, préalablement traité avec de la ceftriaxone intraveineuse (2 g une fois par jour pendant 3 semaines). Les trois malades avaient leur synovie positive par PCR. "

**Détection d'ADN de *Borrelia burgdorferi* par amplification génique dans le muscle d'un patient atteint de fibromyalgie.**

**Frey M, Jaulhac B, Sibilija J, Monteil H, Kuntz J.L., Vautravers P. 1995.**

Extrait du texte :

"L'observation de ce patient, qui a probablement eu une neuroborréliose compliquée d'une FM, suggère que Bb pourrait persister dans certains tissus plusieurs années après l'antibiothérapie initiale. Le mécanisme pathogénique de cette FM reste inconnu. Malgré l'inefficacité de l'antibiothérapie, l'hypothèse d'une séquelle post-infectieuse semble peu probable puisqu'il a été récemment démontré chez l'animal que la positivité de la PCR était bien corrélée à la culture de Bb à partir de tissus."

## **Détection de *Borrelia burgdorferi* dans le liquide céphalorachidien de malades avec la borréliose de Lyme.**

**Jaulhac B, Nicolini P, Piedmont Y, Monteil H. 1991.**

Extrait du texte :

" L'amplification de l'ADN donna un résultat positif pour le liquide céphalorachidien d'un malade traité sans succès avec 12g d'amoxicilline intraveineux par jour pendant 15 jours, ainsi que pour les échantillons provenant de malades non traités, un des malades avait une méningite depuis 6 mois. "

## **Survie de la *Borrelia burgdorferi* chez des patients avec la borréliose de Lyme, traités par des antibiotiques.**

**Preac-Mursic V, Weber K, Pfister HW, Wilske B, Gross B, Baumann A, Prokop J. 1989.**

La persistance de *Borrelia burgdorferi* chez des patients traités avec des antibiotiques est décrite. Le diagnostic de la maladie de Lyme est basé sur les symptômes cliniques, l'épidémiologie et des titres d'anticorps IgG et IgM à la *B. burgdorferi* dans le sérum.

Le traitement antibiotique peut abroger la réponse aux anticorps dirigés contre l'infection comme montré chez nos patients.

*B. burgdorferi* peut persister comme montré par une culture positive dans un milieu MKP ; des patients peuvent avoir une maladie sub-clinique ou clinique sans anticorps à *B. burgdorferi*.

Nous concluons qu'au stade précoce de la maladie tout comme au stade chronique de la maladie de Lyme que la persistance de *B. burgdorferi* après un traitement antibiotique ne peut être exclue quand le sérum est négatif pour les anticorps contre *B. Burgdorferi*.

## **Isolement de *Borrelia burgdorferi* du liquide céphalorachidien d'un malade traité par pénicilline.**

**Baranton G, Perolat P, Dufresne Y, Postic D, Quentin R, Fouquet B. 1989.**

Extrait du texte :

" La culture sur milieu BSK permet d'isoler *Borrelia burgdorferi* malgré un ensemencement retardé (en raison des délais de transport) et une conservation à +4°C. Après les prélèvements, le malade reçut de la pénicilline G en IV (21 millions d'UI/jour) pendant 14 jours. Après une exacerbation des symptômes le 2e jour du traitement, comme il est classique de l'observer, la symptomatologie s'amendait en 4 jours et la guérison clinique fut complète le 10e jour. Cependant, après 10 jours de traitement, alors que le malade était asymptomatique, nous avons isolé à nouveau la souche de *Borrelia burgdorferi* du LCR prélevé le 17 janvier. Les taux d'anticorps dans le sérum (1/40e) et le LCR (1/4) étaient non significatifs...

De plus, la résistance de *Borrelia burgdorferi* est à noter, puisque les 2 isolements furent obtenus à partir de LCR conservés à +4°C pendant respectivement 9 et 7 jours.

## **Méningo-radiculite de la maladie de Lyme résistante à la pénicilline G.**

**Gourmelen O, Le Loet X, Daragon A, Patoz P. 1989.**

Extrait du texte :

" Cette observation souligne la nécessité d'évoquer, même chez une femme âgée, le diagnostic de méningo-radiculite à tiques devant des lombalgies, une douleur intercostale, une sciatique, particulièrement si elles sont de rythme inflammatoire; l'échec déjà signalé du traitement par la pénicilline G dans l'éradication du spirochète, le recours possible en cas de pénicillino-résistance à d'autres antibiotiques comme les phénicolés qui ont une bonne diffusion méningée ou les céphalosporines. L'efficacité du thiamphénicol est ici démontrée par le contrôle rapide de l'état douloureux et par la régression simultanée des symptômes neurologiques. "

**Culture de *Borrelia burgdorferi* du liquide synovial trois mois après un traitement de paralysie faciale due à une borréliose de Lyme.**

**Schmidli J, Hunziker T, Moesli P, Schaad U. 1988.**

Extrait du texte :

"Nous rapportons le cas d'une fille atteinte de la maladie de Lyme, pour laquelle nous avons été capable d'isoler et de propager *B. burgdorferi* à partir du liquide synovial et d'effectuer des tests sérologiques sur ces isolats...

Ce rapport donne de nouvelles preuves que le traitement de deux semaines avec de l'amoxiciline-clavulanate ou de la doxycycline, administré aux doses recommandées pour le traitement de la borréliose de Lyme primaire, peut être inadéquate pour la paralysie faciale due à la maladie de Lyme."

## Références

Straubinger RK.

PCR-Based quantification of *Borrelia burgdorferi* organisms in canine tissues over a 500-Day postinfection period.

*J Clin Microbiol*, 38(6): 2191-9. 2000.

Oksi J, Marjamaki M, Nikoskelainen J, Viljanen MK.

*Borrelia burgdorferi* detected by culture and PCR in clinical relapse of disseminated Lyme borreliosis.

*Ann Med*, 31(3): 225-32. 1999.

Phillips SE, Mattman LH, Hulinska D, Moayad H.

A proposal for the reliable culture of *Borrelia burgdorferi* from patients with chronic Lyme disease, even from those previously aggressively treated.

*Infection*, 26(6):364-7. 1998.

Chary-Valckenaere I, Jaulhac B, Champigneulle J, Piemont Y, Mainard D, Pourel J.

Ultrastructural demonstration of intracellular localization of *Borrelia burgdorferi* in Lyme Arthritis.

*Br J Rheumatol*, 37(4):468-469. 1998.

Jaulhac B, Chary-Valckenaere I, Sibilis J, Javier RM, Piémont Y, Kuntz JL, Monteil H, Pourel J.

Detection of *Borrelia burgdorferi* by DNA amplification in synovial tissue samples from patients with Lyme arthritis.

*Arthritis & Rheumatism*, 39(5):736-745. 1996.

Frey M, Jaulhac B, Sibilis J, Monteil H, Kuntz J.L, Vautravers P.

Détection d'ADN de *Borrelia burgdorferi* par amplification génique dans le muscle d'un patient atteint de fibromyalgie.

*Presse Med*, 24(34):1623. 1995.

Jaulhac B, Nicolini P, Piedmont Y, Monteil H.

Detection of *Borrelia burgdorferi* in cerebrospinal fluid of patients with Lyme Borreliosis.

*N Engl J Med*, 324(20):1440. 1991.

Preac-Mursic V, Weber K, Pfister HW, Wilske B, Gross B, Baumann A, Prokop J.

Survival of *Borrelia burgdorferi* in antibioticly treated patients with Lyme borreliosis.

*Infection*, 17(6):355-9. 1989.

Baranton G, Perolat P, Dufresne Y, Postic D, Quentin R, Fouquet B.

Isolement de *Borrelia burgdorferi* du liquide céphalorachidien d'un malade traité par péniciline.

*Presse Med*, 18(12):637. 1989.

Méningo-radiculite de la maladie de Lyme résistante à la péniciline G.

Gourmelen O, Le Loet X, Daragon A, Patoz P.

*Presse Med*, 18(11):584. 1989.

Schmidli J, Hunziker T, Moesli P, Schaad U.

Cultivation of *Borrelia burgdorferi* from joint fluid three months after treatment of facial palsy due to Lyme Borreliosis.

*J Infect Dis*, 158(4):905-906. 1988.