

ANNÉE 2014

N° 065

THÈSE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Amandine GODARD
.....

Présentée et soutenue publiquement le 15 décembre 2014

Intégration de la Micro-Immuno thérapie dans la stratégie thérapeutique de la maladie de Lyme.

Président : Mr Alain PINEAU, Professeur de Toxicologie

Membres du jury : Mme Nidia ALVAREZ-RUEDA, Maître de Conférences de Parasitologie

Mme Lina JADEAU, Docteur en Pharmacie

Remerciements

A Monsieur Alain PINEAU,

Pour me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse, pour son enseignement et son dévouement tout au long de mes études.

A Madame Nidia ALVAREZ-RUEDA,

Pour avoir accepté de diriger ce travail, pour sa disponibilité et son implication dans l'élaboration de cette thèse, pour tous ses conseils et ses corrections, mais aussi pour ses enseignements.

A Madame Lina JADEAU,

Pour avoir accepté d'être membre de mon jury, et surtout pour sa gentillesse et ses conseils, pour ces années passées dans son officine qui m'ont permis de mettre en pratique les enseignements reçus.

A Madame Nathalie CAROFF,

Pour avoir eu la gentillesse et avoir pris de son temps pour relire ce manuscrit et apporter ses corrections.

A Madame Anne GABORIT et aux membres de l'Institut 3IDI,

Pour m'avoir suggéré ce sujet de thèse, pour m'avoir apporté toutes ces informations et documents sur la micro-immunothérapie, pour leur disponibilité, leurs conseils et leurs corrections.

A Madame Anne REYNIER et Monsieur Michel REYNIER,

Pour m'avoir offert la possibilité de travailler dans leur officine dès le début de mes études et pour leur gentillesse et tous leurs conseils.

A toute l'équipe de la pharmacie REYNIER-JADEAU,

Pour leur accueil au sein de l'officine, pour leur gentillesse, pour tout ce qu'ils m'ont appris et pour tous les moments passés ensemble.

A Madame Valérie MOUVIER, Monsieur Frédéric BLOHORN et à toute l'équipe de la pharmacie BLOHORN-MOUVIER,

Pour leur accueil lors de mon stage de quatrième année, pour avoir accepté de me recevoir de nouveau pour cette dernière année et surtout pour leur disponibilité, leur expérience, leur gentillesse.

A mes parents,

Pour leur amour et leur confiance et surtout pour m'avoir donné la chance de pouvoir faire ces études.

A ma sœur,

Pour son amour et pour m'avoir inspiré ce sujet sur la maladie de Lyme.

Et enfin, à Florent,

Pour tout ce qu'il m'apporte au quotidien, pour son soutien dans les bons comme dans les mauvais moments, pour son amour...

Table des matières

Liste des figures	5
Liste des tableaux	7
Liste des abréviations	8
Introduction	11
Chapitre I : La maladie de Lyme	13
I. Epidémiologie	13
II. Mode de contamination et vecteur	18
III. Agents pathogènes	25
IV. Les signes cliniques (8) (18)	28
1) <i>La phase précoce localisée</i>	28
2) <i>La phase précoce disséminée</i>	29
3) <i>La phase tardive ou chronique</i>	30
V. Diagnostic	32
VI. Traitement	36
1) <i>La doxycycline (27)</i>	38
2) <i>L'amoxicilline (27)</i>	39
3) <i>La ceftriaxone (27)</i>	40
4) <i>Les difficultés du traitement</i>	40
VII. Prophylaxie	42
Chapitre II : La micro-immunothérapie	45
I. Rappels sur l'immunité anti-infectieuse (36)	45
II. Les effecteurs de l'immunité utilisés dans la micro-immunothérapie (37)	48
1) <i>Les cytokines et les chimiokines</i>	48
2) <i>Les acides nucléiques spécifiques (SNA)</i>	53
III. Historique	53
IV. Les médicaments	55
V. Le principe	58
VI. Mise en place de la micro-immunothérapie	59
VII. Applications	61
1) <i>Les maladies auto-immunes</i>	61

2) Les infections	62
3) L'oncologie.....	63
4) Les pathologies affectant les personnes âgées	63
5) Autres applications	63
Chapitre III : Place de la micro-immunothérapie dans le traitement de la maladie de Lyme	64
I. La réaction du système immunitaire face à la maladie de Lyme	64
1) La réaction face à la piqûre de tique.....	64
2) La réaction immunitaire face à <i>Borrelia sp.</i>	67
II. Utilisation de la micro-immunothérapie.....	73
1) Protocole (140).....	73
2) Mode d'action du médicament LABO'LIFE-2LEID® (141).....	75
3) Etudes permettant de mettre au point la composition du médicament LABO'LIFE-2LEID-N® vis-à-vis de la maladie de Lyme.....	77
Chapitre IV : Utilisation actuelle de la micro-immunothérapie	82
I. L'avis des médecins prescripteurs de la micro-immunothérapie.....	82
II. L'avis des patients.....	83
III. Evaluations	84
1) « Evaluation du 2LHERP dans les préventions des récurrences de l'herpès génital ».....	84
2) « Utilisation de la Micro-immunothérapie à titre de traitement antinéoplasique adjuvant : une étude chez des patients atteints de cancers métastasés »	85
Conclusion.....	87
Bibliographie.....	89
Bibliographie des figures	101
Annexe 1 : Communiqué de presse n°46/05 du 26 mai 2005 « Arrêt de la Cour dans l'affaire C-212/03 »	103

Liste des figures

Figure 1 : Willy Burgdorfer.....	11
Figure 2 : Répartition mondiale de la maladie de Lyme	13
Figure 3 : Répartition américaine de la maladie de Lyme	14
Figure 4 : Répartition européenne de la maladie de Lyme.....	15
Figure 5 : Répartition des cas de maladie de Lyme en France entre 2000 et 2012	16
Figure 6 : Répartition de l'incidence annuelle de la maladie de Lyme entre 2009 et 2011....	17
Figure 7 : Classification des arthropodes	18
Figure 8 : Rostre des tiques	19
Figure 9 : Tiques adultes du genre <i>Ixodes</i> de vue dorsale : mâle (a) et femelle (b).....	20
Figure 10 : Tique mâle de vue ventrale	20
Figure 11 : Rostre de vue dorsale	20
Figure 12 : Tiques adultes du genre <i>Dermacentor</i> de vue dorsale : femelle (a) et mâle (b)..	21
Figure 13 : Rostre de vue dorsale	21
Figure 14 : Tiques adultes du genre <i>Rhipicephalus</i> de vue dorsale : femelle (a) et mâle (b).	22
Figure 15 : Rostre de vue dorsale	22
Figure 16 : Cycle de développement des tiques	23
Figure 17 : Réaction cutanée après une piqûre de tique.....	24
Figure 18 : Tique effectuant son repas sanguin.....	25
Figure 19 : Classification de <i>Borrelia sp.</i>	25
Figure 20 : Photographie au microscope de <i>Borrelia burgdorferi</i> en coloration de Gram	26
Figure 21 : Représentation de <i>Borrelia sp.</i>	27
Figure 22 : Erythème migrant	28
Figure 23 : Lymphocytome borrélien.....	29
Figure 24 : Acrodermatite	31
Figure 25 : Test ELISA indirect	33
Figure 26 : Bandelettes du Western blot	34
Figure 27 : Formule de la doxycycline.....	38
Figure 28 : Formule de l'amoxicilline	39
Figure 29 : Formule de la ceftriaxone	40
Figure 30 : Utilisation d'un Tire-Tic®	43
Figure 31 : Lymphocyte parmi des globules rouges	47

Figure 32 : Docteur Maurice Jenaer	54
Figure 33 : Logo de l'institut 3IDI	55
Figure 34 : Principe de la dilution-succussion	56
Figure 35 : Gélules de micro-immunothérapie.....	57
Figure 36 : Logo du laboratoire pharmaceutique Labo'Life	58
Figure 37 : Exemple d'un typage lymphocytaire	60
Figure 38 : Exemple d'une électrophorèse de protéines	61
Figure 39 : Vasodilatation lors d'une piqûre de tique.....	65
Figure 40 : Modulation du système immunitaire lors de la piqûre de tique.....	67
Figure 41 : Rôle de Salp15 dans l'échappement au système immunitaire.....	69
Figure 42 : Activation du système immunitaire inné suite à la phagocytose de <i>Borrelia sp.</i>	76
Figure 43 : Association France Lyme	87

Liste des tableaux

Tableau 1 : Scores pour un Western blot.....	35
Tableau 2 : Choix du traitement antibiotique dans la maladie de Lyme.....	37
Tableau 3 : Les cytokines et les chimiokines pro-inflammatoires.....	51

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique
ADP : Activateur Des Plaquettes
ARN : acide ribonucléique
ARNm : acide ribonucléique messenger
ARNt : acide ribonucléique de transfert
BIP : protéine inhibitrice des lymphocytes B
BmpA : Basic membrane protein A
BSK : Barbour-Stoenner-Kelly
CD : cellule dendritique
CDC : Centers for Disease Control and Prevention
CH : centésimale hahnemannienne
Cire : Cellules Interrégionales d'Epidémiologie
CMH II : complexe majeur d'histocompatibilité II
CMV : cytomégalovirus
CNR : Centres Nationaux de Référence
CPA : cellule présentatrice d'antigène
CRASP : Complement Regulator-Acquiring Surface Protein
CSF : Colony Stimulating Factor
Dbp : Decorin binding proteins
DEET : N,N-diethyl-3-methylbenzamide
EBV : Epstein-Barr virus
ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control
EGF : Epidermal Growth Factor
ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EP2 : récepteur Prostaglandine E2
EPO : érythropoïétine
ERK : extracellular signal-regulated kinases
FGF : fibroblaste growth factor
GCSF : Granulocyte Colony Stimulating Factor
GMCSF : Granulocyte Monocyte Colony Stimulating Factor
HBP : Histamine Binding Protein

HLA : human leukocyte antigen
IFK : Indice Fonctionnel de Karnofsky
IFN : interféron
Ig : immunoglobuline
IL : interleukine
IM : intramusculaire
InVS : Institut National de Veille Sanitaire
IP-10 : protéine 10
Irac : Ixodes ricinus salivary anticomplement protein
IRIS : Ixodes Ricinus ImmunoSuppressor
IRS-2 : Ixodes Ricinus Serpin-2
Isac : Ixodes scapularis salivary anticomplement protein
IV : intraveineuse
LPS : lipopolysaccharide
MCP-1 : Monocyte Chemoattractant Protein 1
NapA : Neutrophil-activating protein A
NIH : National Institutes of Health
NK : Natural Killer
NKT : Natural Killer T lymphocyte
ORL : Oto-Rhino-Laryngé
Osp : Outer surface protein
PCR : Polymerase Chain Reaction
PDGF : Platelet Derived Growth Factor
PGE2 : prostaglandine E2
Salp : Salivary protein
SNA : specific nucleic acid
TCR : récepteur aux lymphocytes T
TGF : Transforming Growth Factor
Th : lymphocyte T helper
tHRF : tick Histamine Release Factor
Tick-MIF : Tick Macrophage Migration Inhibitory Factor
TLR2 : Toll-like Receptor 2
TNF : Tumor Necrosis Factor
TROSPA : Tick Receptor OspA

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

VLA4 : Very Late Antigen 4

Vlse : Variable like protein sequence expressed

VZV : varicelle zona virus

3IDI : Institut International d'Immunothérapie à Doses Infinitésimales

Introduction

Au cours des années 1970, de nombreux cas d'arthrites juvéniles ont été rapportés par Steere *et al.*, elles survenaient suite à des piqûres de tiques dans la ville de Lyme située dans le Connecticut (Etats-Unis), la maladie de Lyme a donc été identifiée. Dix années plus tard, un scientifique américain, Willy Burgdorfer (Figure 1) a découvert des bactéries de la famille des Spirochètes dans les intestins des tiques qui entraînaient cette pathologie, elles seront nommées *Borrelia burgdorferi* (1). En revanche, la maladie de Lyme est une pathologie bien plus ancienne, puisque les deux tiers du génome de la bactérie ont été retrouvés dans l'estomac de la momie Otzi, qui a environ 5 300 ans (2).



Figure 1 : Willy Burgdorfer

De nos jours, cette pathologie est plutôt bien connue du corps médical. Cependant, les données concernant l'incidence de la maladie de Lyme sur l'ensemble du globe sont assez variées, du fait d'une disparité dans le système de surveillance entre les pays. La maladie de Lyme est une pathologie d'origine bactérienne due à plusieurs espèces du genre *Borrelia*. Chacune de ces espèces peut entraîner une symptomatologie clinique spécifique. Les tiques responsables de la transmission de cette pathologie sont rassemblées dans trois genres : *Ixodes*, *Dermacentor* et *Rhipicephalus*. Les tiques sont des vecteurs redoutables, puisque plusieurs stades de leur cycle de développement sont capables de transmettre la maladie. Cette pathologie se définit en trois phases successives, une phase précoce localisée, suivie d'une phase précoce disséminée qui peut parfois se poursuivre avec une phase chronique.

Cependant, cette dernière phase, qui serait due à la persistance de la bactérie dans l'organisme des patients, est encore controversée. Le diagnostic au cours de cette phase présente parfois quelques difficultés en termes d'interprétation des résultats. Lorsque la maladie de Lyme est confirmée chez les patients, le traitement mis en place comporte l'utilisation d'antibiotiques. En première intention, il s'agit de la doxycycline ou de l'amoxicilline. Néanmoins, le meilleur moyen de s'en protéger reste la prévention et notamment le retrait le plus rapidement possible de la tique lors d'une piqûre.

La micro-immunothérapie a vu le jour il y a une cinquantaine d'années et a continué d'évoluer en fonction des découvertes scientifiques. Etant plus connue et plus utilisée en Belgique et en Espagne, ces médicaments ne sont pas encore enregistrés en France. Cette thérapeutique innovante se base sur l'utilisation par voie perlinguale d'acides nucléiques (ARN, ADN, SNA®) et de substances immunocompétentes (cytokines, chimiokines, facteurs de croissance) à des doses infinitésimales, ce qui permet d'une part de moduler leur activité en fonction des dilutions choisies, et surtout de permettre leur résorption par cette voie d'administration facile d'utilisation. Les différents médicaments formulés s'adressent à toutes les pathologies comportant un aspect immunitaire, telles que les maladies auto-immunes, les infections et en soutien du système immunitaire en oncologie dans l'accompagnement des traitements conventionnels.

Le rôle de l'immunité dans la modulation de la réponse vis-à-vis de l'infection par *Borrelia burgdorferi* est bien connu dans la littérature. Dans ce contexte, la micro-immunothérapie peut être utilisée en complément de l'antibiothérapie classique. Actuellement, la micro-immunothérapie est peu utilisée en France, mais elle commence à se faire connaître par le biais de médecins prescripteurs qui se sont formés à cette nouvelle thérapeutique et qui obtiennent des résultats prometteurs chez leurs patients. Des évaluations cliniques sur l'utilisation de la micro-immunothérapie commencent à être publiées.

Chapitre I : La maladie de Lyme

I. Epidémiologie

Au niveau mondial, on a constaté que la maladie de Lyme touche principalement l'Europe et l'Amérique du Nord, puisque ce sont des régions tempérées. En 2009, le nombre de patients touchés par cette pathologie est estimé à 85 500, avec plus de la moitié des cas en Europe. Ce chiffre était probablement sous-estimé (3). D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la maladie de Lyme est présente dans soixante-trois pays de façon endémique (Figure 2, régions en rouge sur la carte).

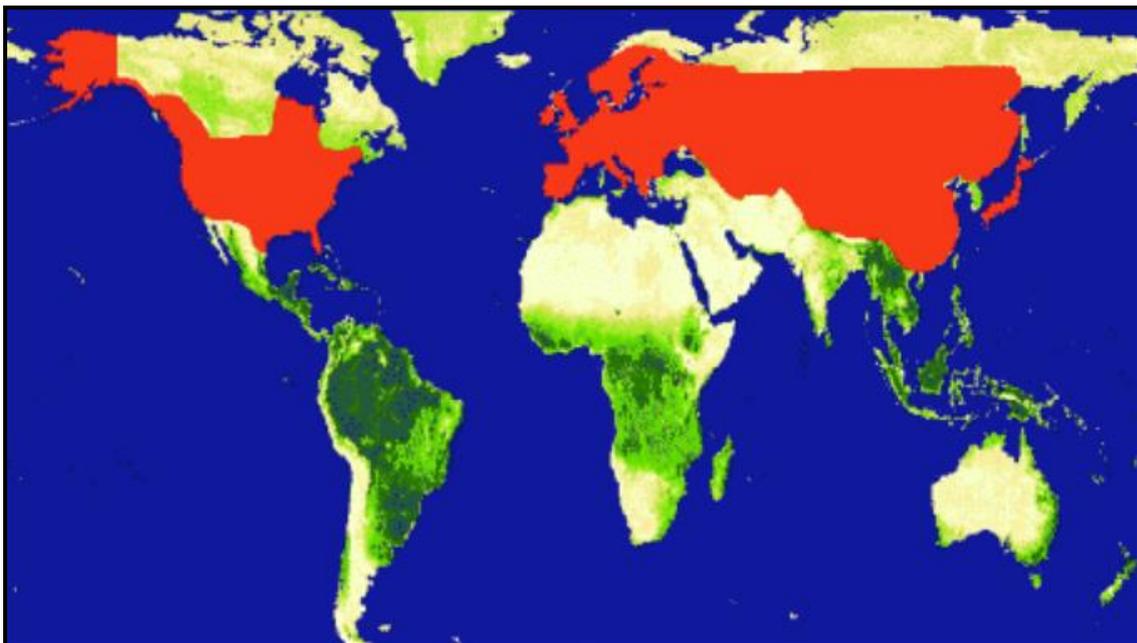


Figure 2 : Répartition mondiale de la maladie de Lyme

Aux Etats-Unis, le CDC (Centers for Disease Control and prevention) a estimé, en 2013, à 300 000 le nombre de cas de maladie de Lyme. Selon le journal télévisé de France 2 du 28 juin 2013, la maladie a été classée aux Etats-Unis comme la seconde maladie infectieuse après l'infection par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine). Cependant, cela vient contredire les chiffres des années précédentes, puisqu'en 2012, le CDC annonçait aux alentours de 30 000 cas. Cela s'explique par une étude plus vaste, comprenant les rapports

cliniques, les données des laboratoires ainsi que des enquêtes spécifiques. La majorité des cas se situent dans les états du Connecticut, Delaware, Maine, Maryland, Massachusetts, Minnesota, New Hampshire, New Jersey, New York, Pennsylvanie, Vermont, Virginie et Wisconsin (4). La Figure 3 illustre la répartition des cas de maladie de Lyme sur le territoire américain selon les données du CDC (les cas sont reportés en fonction du lieu de résidence du patient atteint).

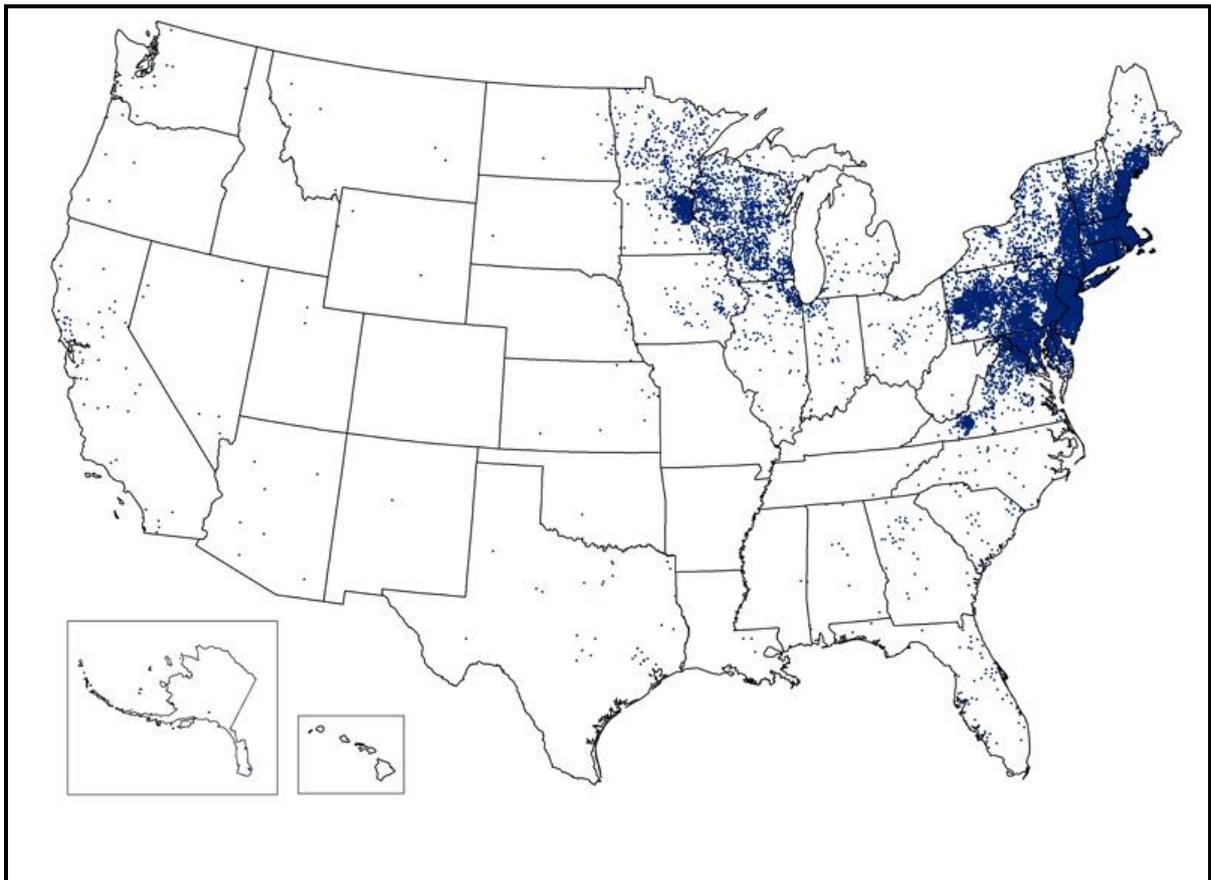


Figure 3 : Répartition américaine de la maladie de Lyme

Sur le continent africain, le Nord et l’Ouest sont des régions fréquemment touchées par cette borreliose, puisqu’elle est la pathologie infectieuse la plus fréquente après le paludisme (5).

En Europe, la prévalence de cette maladie est plus importante dans le Centre et l’Est de l’Europe. En Autriche et en Slovénie, il est rapporté 120 à 130 cas pour 100 000 habitants, en Pologne, il a été rapporté 7 000 nouveaux cas en 2007. Il y aurait environ 5 à 25 % de la population qui posséderait des anticorps anti-*Borrelia burgdorferi*, mais la plupart de ces patients ne présente aucun symptôme de la maladie de Lyme (6). En Allemagne, la maladie

de Lyme est considérée comme une épidémie. Le taux d'infection avoisinerait entre un et deux millions de personnes atteintes, soit un allemand sur quatre-vingts. Les autorités allemandes ont constaté une augmentation de 10 à 15 % par an d'infections par *Borrelia sp.* (5). D'après l'ECDC (European Centre for Disease prevention and Control), la présence de la tique *Ixodes ricinus* reflète en partie la répartition européenne de la maladie de Lyme (Figure 4, zones en rouge sur la carte).

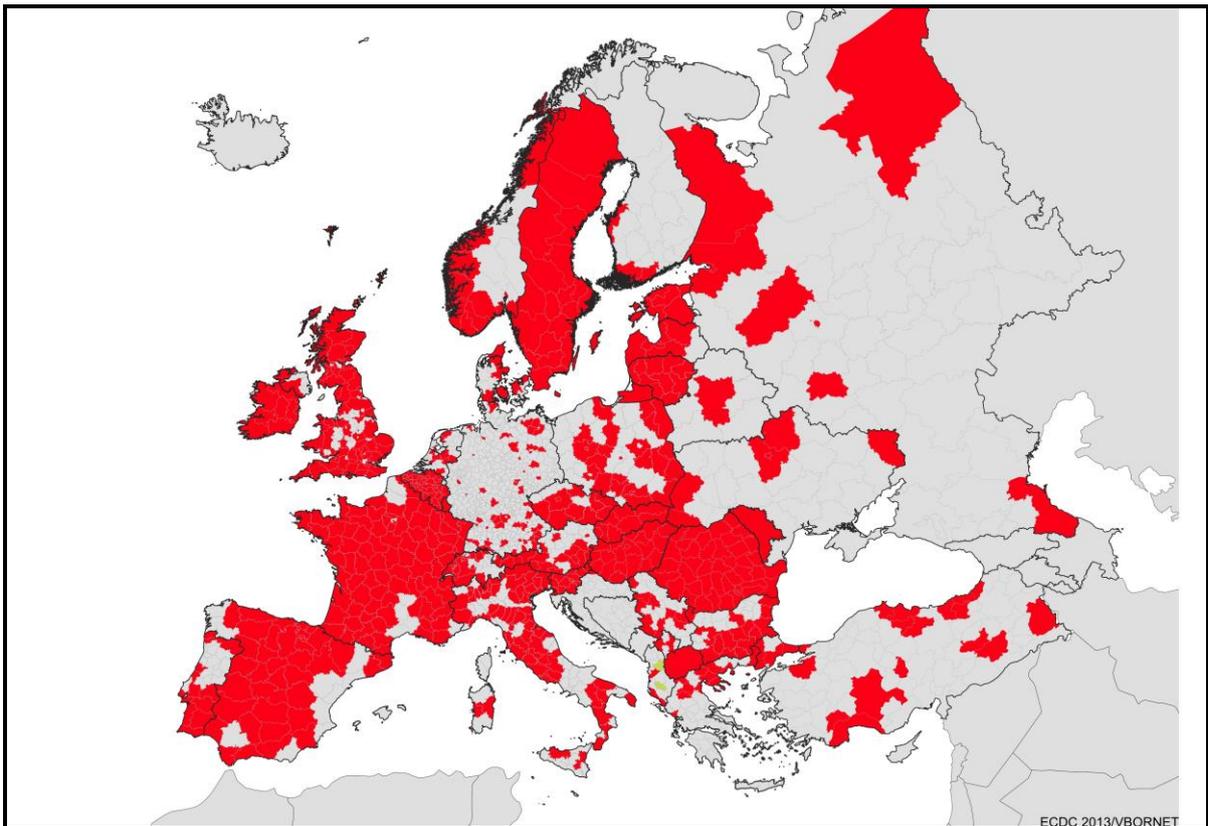


Figure 4 : Répartition européenne de la maladie de Lyme

En France, l'incidence est estimée à 43 cas pour 100 000 habitants sur l'ensemble du territoire. Cette estimation provient de la surveillance effectuée par le Réseau Sentinelle entre 2009 et 2011. Le Réseau Sentinelle a aussi montré que les régions les moins touchées étaient les Pays de la Loire et la Provence-Alpes-Côte-d'Azur. Cependant, les régions les plus touchées sont l'Alsace et le Limousin où l'incidence est supérieure à 100 cas pour 100 000 habitants. Selon les études, il existe une disparité régionale, par exemple, les études InVS/Cires rapportent que l'Alsace et la Haute-Savoie étaient les territoires les plus touchés et que l'Aquitaine avait l'incidence la plus basse. La surveillance effectuée par le CNR (Centre National de Référence) estime que la Meuse a une incidence élevée et que la Haute

et la Basse-Normandie sont les plus épargnées (7, 8). La répartition des cas de maladie de Lyme entre 2000 et 2012, d'après le Réseau Sentinelle et les études de l'InVS/Cire, est présentée sur la Figure 5.

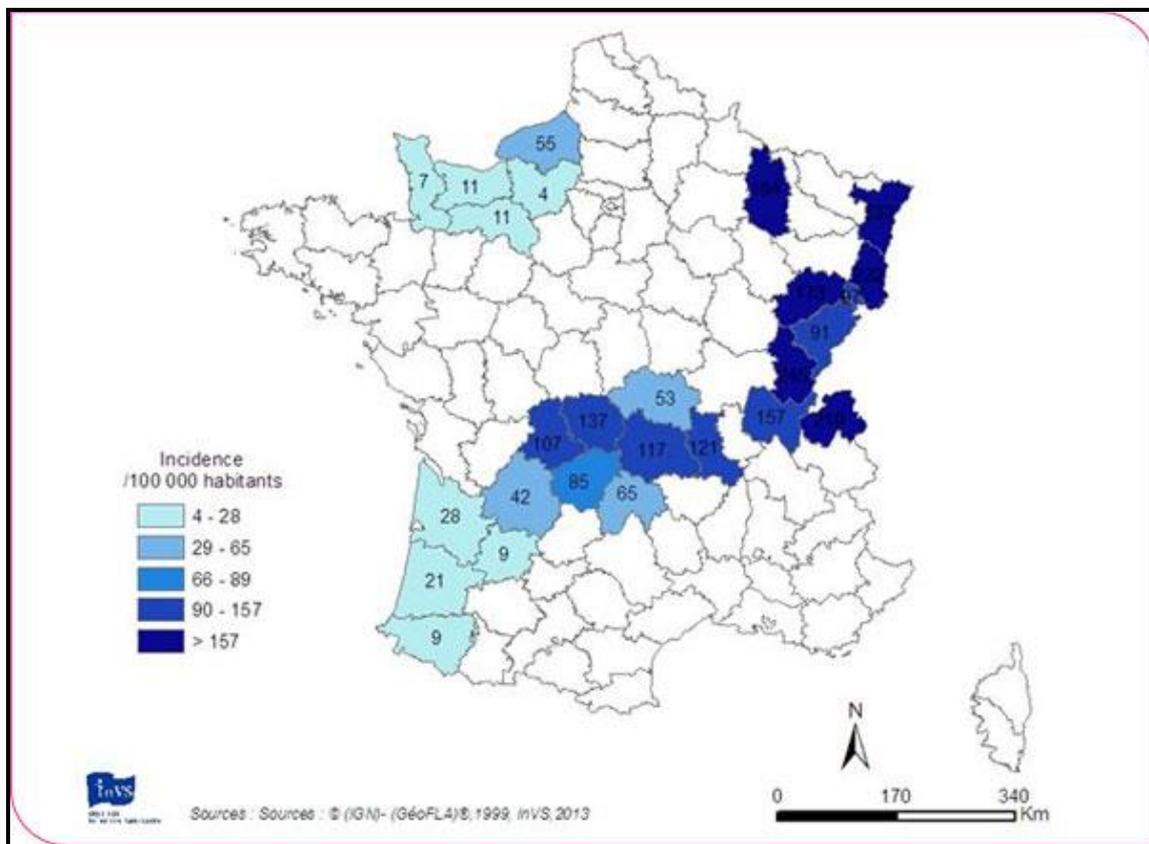


Figure 5 : Répartition des cas de maladie de Lyme en France entre 2000 et 2012

L'estimation par le Réseau Sentinelle de l'incidence annuelle moyenne de la maladie de Lyme entre 2009 et 2011 est répartie en fonction des régions selon la carte suivante (Figure 6).

reconnu par les autorités, serait remise en cause, du fait de sa sensibilité proche de 55 % et du fait qu'elle serait différente selon les régions (5).

II. Mode de contamination et vecteur

La maladie de Lyme est transmise par des ectoparasites intermittents, les tiques et plus particulièrement celles de la famille des Ixodidés, qui appartiennent à la classe des Arachnidées. Il existe de nombreuses espèces, mais les plus présentes en France sont issues des genres *Ixodes* (*Ixodes ricinus* en France), *Dermacentor* et *Rhipicephalus*. Ce sont des acariens hématophages à tous les stades du cycle de développement.

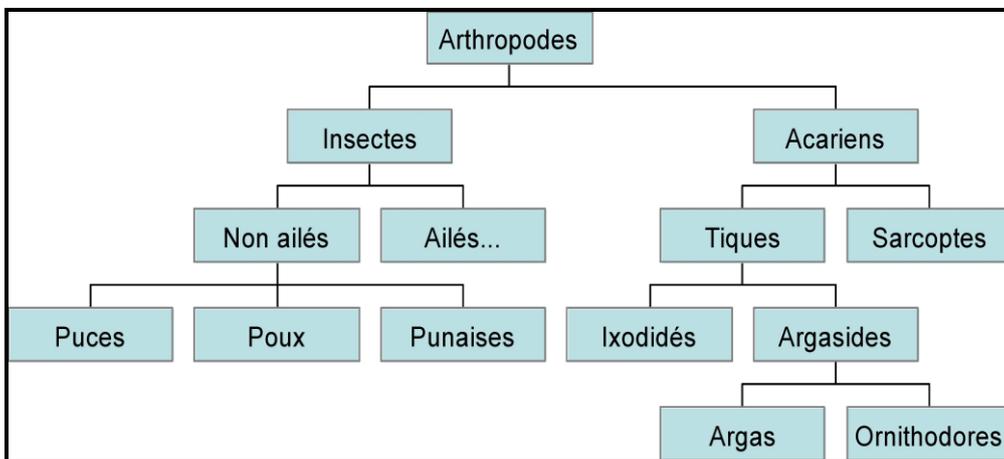


Figure 7 : Classification des arthropodes

Une tique de la famille des Ixodidés mesure entre 2 et 20 mm de long et son corps est aplati dorso-ventralement. Sur sa tête, elle possède une paire de pédipalpes segmentées qui fonctionnent comme des organes sensoriels, puisqu'elles permettent à la tique de repérer la présence d'un hôte potentiel. La particularité des tiques est la présence d'un rostre qui permet la fixation à l'hôte et donc le repas sanguin. Ce rostre est composé de chélicères qui effectuent des mouvements de va-et-vient et qui percent la peau de l'hôte pour permettre à la tique d'effectuer son repas sanguin, d'un hypostome qui passe par le trou formé par les chélicères et qui fixe la tique à l'hôte. Une fois fixée, la tique émet de la salive qui contient entre autres des anticoagulants, ce qui entraîne une lésion cutanée, de plus, la salive contient parfois des agents infectieux, comme la bactérie responsable de la maladie de Lyme. Mais le but principal de sa fixation est qu'elle peut effectuer son repas sanguin, qui entraînera le gonflement de son corps et qui permettra ensuite son développement. Une tique peut rester

accrochée pendant plusieurs jours sur son hôte pour effectuer son repas sanguin. La Figure 8 est une illustration du rostre.

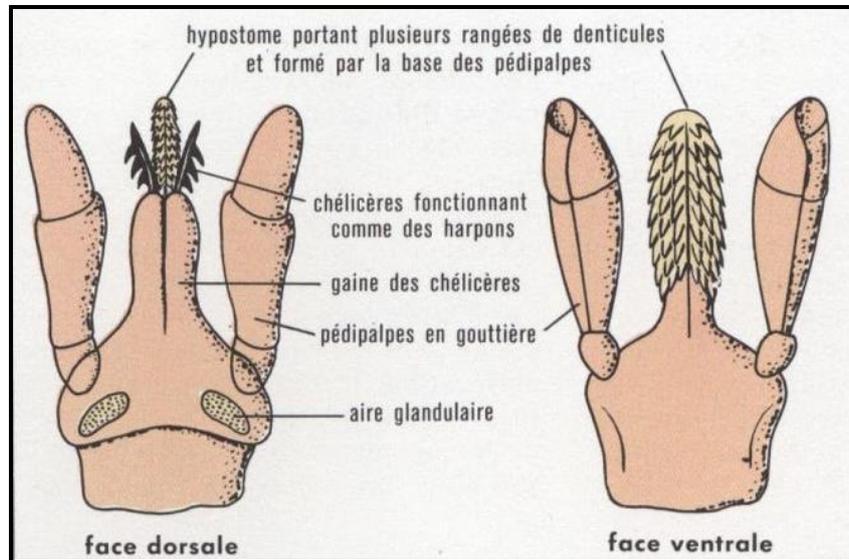


Figure 8 : Rostre des tiques

Toutes les tiques présentent morphologiquement des différences en fonction du genre auquel elles appartiennent. Il existe environ deux cents cinquante espèces de tique du genre *Ixodes*. D'un point de vue morphologique, le second segment de leurs pédipalpes est réduit à la base, ce qui crée une ouverture entre les pédipalpes et les chélicères, de plus, le quatrième segment est raccourci et porte les récepteurs sensitifs. Les appendices buccaux sont longs, notamment chez la femelle. Cependant, les tiques sont petites et ne possèdent pas d'yeux ou d'ornementations. Les tiques mâles possèdent au niveau ventral plusieurs plaques qui vont recouvrir cette surface. Les tiques du genre *Ixodes* sont différenciées des autres genres du fait de la position antérieure de leur sillon anal. En effet, chez les autres genres, ce sillon est absent ou se situe postérieurement par rapport à l'anus. Les Figures 9, 10 et 11 montrent quelques représentations d'une tique du genre *Ixodes*.

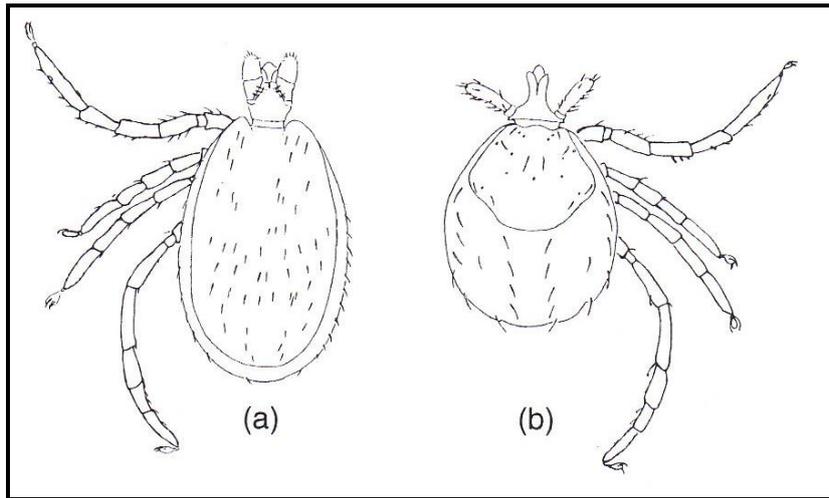


Figure 9 : Tiques adultes du genre *Ixodes* de vue dorsale : mâle (a) et femelle (b)

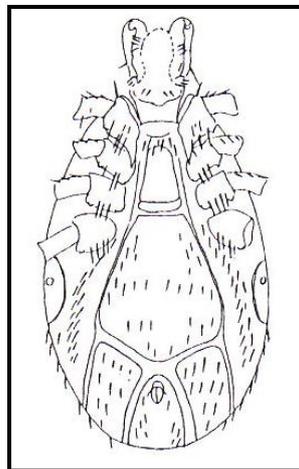


Figure 10 : Tique mâle de vue ventrale

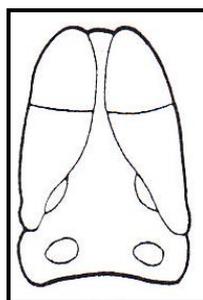


Figure 11 : Rostre de vue dorsale

Les tiques du genre *Dermacentor* sont de taille moyenne par rapport aux autres tiques et leurs pédipalpes et leurs appendices buccaux sont courts. De plus, ce genre possède des yeux et des ornements (Figures 12 et 13).

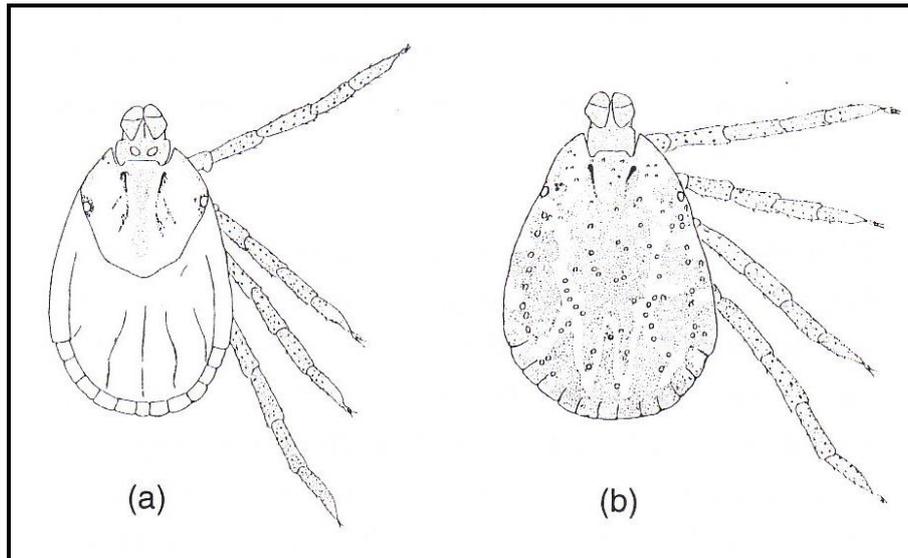


Figure 12 : Tiques adultes du genre *Dermacentor* de vue dorsale : femelle (a) et mâle (b)

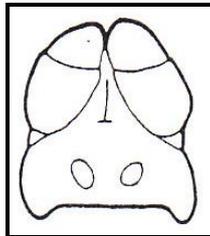


Figure 13 : Rostre de vue dorsale

Les tiques du genre *Rhipicephalus* sont réparties dans environ soixante espèces. La base de leur rostre présente une forme hexagonale, ce qui les différencie des autres genres. Leurs pédipalpes sont courts et ces tiques possèdent généralement des yeux et des ornements (Figures 14 et 15).

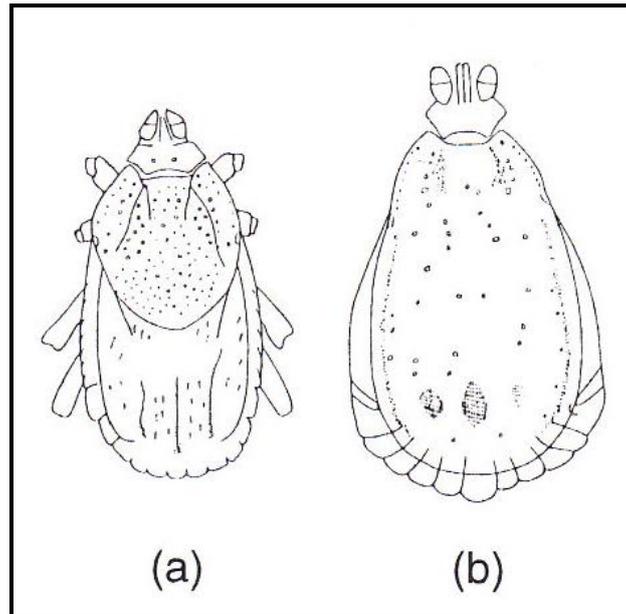


Figure 14 : Tiques adultes du genre *Rhipicephalus* de vue dorsale : femelle (a) et mâle (b)

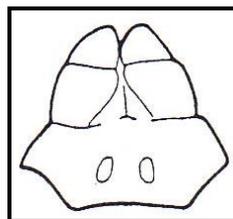


Figure 15 : Rostre de vue dorsale

L'environnement des tiques nécessite la présence de nombreuses espèces qui pourraient potentiellement devenir leurs hôtes, ce qui permettra le déroulement du cycle de développement des tiques. De plus, il est nécessaire que l'environnement possède un taux d'humidité élevé pour maintenir la balance hydrique des tiques, sinon celles-ci rentrent dans une période de latence. C'est pourquoi, les forêts sont les lieux de résidence de prédilection des tiques.

Le cycle de développement de la tique passe par plusieurs stades (Figure 16). Suite à la ponte par les femelles adultes, les œufs, plusieurs milliers par tique, restent en incubation dans l'environnement (sols, crevasses...) pendant vingt à cinquante jours à des climats tempérés. L'éclosion de l'œuf libère une larve hexapode qui, pour se développer et muer, doit systématiquement se nourrir de sang. La larve préfère les petits mammifères pour se nourrir (souris, hérissons...). Après le premier repas sanguin, la larve quitte l'hôte et mue dans les quatre mois suivants pour se transformer en nymphe. La nymphe va elle aussi

effectuer un repas sanguin, de préférence chez les petits animaux. Cependant, accidentellement, l'homme ne saurait être épargné. Quelques semaines après son deuxième repas, la nymphe mue, libérant un adulte octopode (mâle ou femelle) où généralement le mâle est plus petit que la femelle, ce qui s'explique par le fait que les mâles effectuent un plus petit repas sanguin. Le temps passé par une tique sur un hôte est estimé à 10 % de son temps de vie. Les tiques repèrent leurs hôtes grâce au dioxyde de carbone et à d'autres composants chimiques émis par ceux-ci, qui sont reconnus par les chémorécepteurs des tiques présents au niveau de leurs membres. Lors du passage de l'hôte, la tique, qui se trouve au niveau de la végétation, se laisse tomber sur l'hôte, puis se déplace sur celui-ci pour rejoindre l'endroit le plus adapté à son repas sanguin, et enfin s'accroche à l'hôte par le biais de son appareil buccal. Pour les adultes, le repas sanguin dure entre trois et dix jours (9). Dans les régions forestières, les petits mammifères réservoirs de la bactérie sont pour 10 % des mulots, pour 20 à 30 % des campagnols et pour 30 à 70 % des tamias (5).

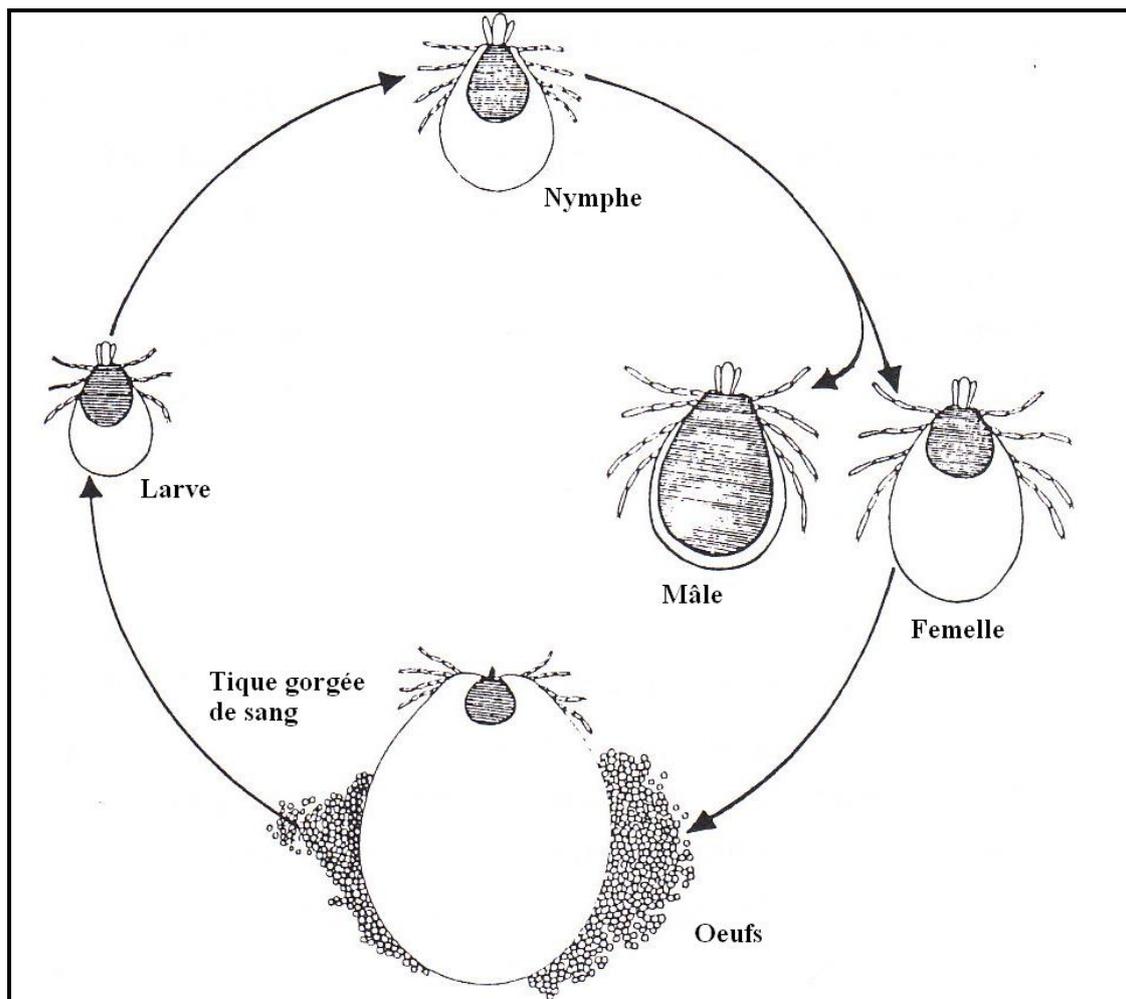


Figure 16 : Cycle de développement des tiques

Les tiques peuvent avoir directement un rôle pathogène sur leurs hôtes, qui se traduit par une inflammation, une extravasation sanguine, ainsi qu'un œdème au site du repas sanguin (Figure 17). De plus, la salive de la tique présente une toxicité pouvant entraîner une paralysie.



Figure 17 : Réaction cutanée après une piqûre de tique

Les tiques effectuent leur repas sanguin principalement chez les animaux sauvages, qui peuvent déjà être infectés par la bactérie, c'est donc à ce moment-là que les tiques femelles ingèrent *Borrelia sp.* qui sera alors transmise à leur descendance. Les larves, les nymphes et les adultes issus de la tique infectée pourront transmettre la bactérie aux hôtes où ils effectueront leur prochain repas sanguin et donc possiblement l'homme (Figure 18). La transmission des bactéries par les tiques a lieu le plus souvent au cours des vingt-quatre à quarante-huit premières heures du repas sanguin. En Europe, on estime à 10 % le nombre de tiques infectées par la bactérie. Cependant, les tiques peuvent être co-infectées et donc entraîner, par exemple, des Rickettsioses, des Babésioses, des Ehrlichioses (10).



Figure 18 : Tique effectuant son repas sanguin

Lors de l'interrogatoire d'un patient piqué par une tique, il est primordial d'avoir une notion sur la durée de la piqûre, en sachant que le repas sanguin de la tique débute aux alentours de huit heures après la morsure, puisque la tique cherche chez l'hôte l'endroit idéal pour effectuer son repas, donc une peau fine et tendre. Cela permet donc d'estimer le risque de transmission de la bactérie si celle-ci est présente chez la tique. De plus, la taille de la tique nous informe sur l'avancement de son repas sanguin, plus la tique est grosse, plus le repas est avancé et donc plus il y a de risque de transmission.

III. Agents pathogènes

Les bactéries du genre *Borrelia* sont les agents pathogènes responsables de la maladie de Lyme. Elles appartiennent à la famille des Spirochètes du fait de leur morphologie particulière, puisqu'elles sont spiralées. En Europe, les espèces les plus souvent responsables sont *B. burgdorferi*, *B. garinii* et *B. afzelii*, *B. burgdorferi* étant la plus fréquente (Figure 19).

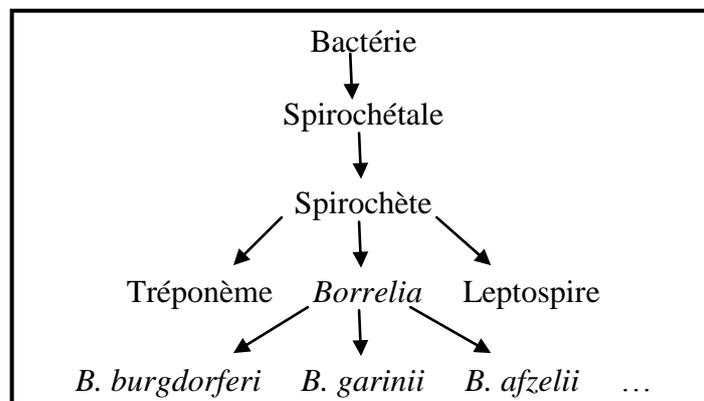


Figure 19 : Classification de *Borrelia* sp.

Suite à la transmission, les bactéries du genre *Borrelia* présentent un tropisme pour la peau, le myocarde, le liquide synovial et le tissu nerveux, ce qui permet d'expliquer les différents signes cliniques (11) (Figure 20).



Figure 20 : Photographie au microscope de *Borrelia burgdorferi* en coloration de Gram

Borrelia burgdorferi présente une forme spiralée et possède un endoflagelle qui va former un filament axial (Figure 21). Ce flagelle est attaché aux deux extrémités de la bactérie avec une rotation inversée, ce qui permet à la bactérie de se déplacer dans les différents tissus par le biais de mouvements proches de ceux d'un serpent. *B. burgdorferi* est une bactérie à Gram négatif, cependant sa coloration est faible. Les bactéries à Gram négatif possèdent normalement un lipopolysaccharide (LPS) qui est l'endotoxine rejetée dans l'organisme de l'hôte lorsque les bactéries meurent. Cependant, pour *B. burgdorferi* sa présence n'est pas prouvée, il a été mis en évidence deux glycolipides qui auraient les mêmes fonctions que le LPS. La classification des *Borrelia sp.* en tant que bactéries aérobies ou anaérobies est parfois contradictoire dans la littérature. Cependant, une étude réalisée par De Martino SJ *et al.* en 2006 a montré que la culture de *B. burgdorferi* en milieu anaérobie était plus satisfaisante que la culture en milieu aérobie. De plus, d'autres essais ont montré qu'un milieu anaérobie était plus favorable à la croissance de la bactérie, et notamment pour *B. garinii* et *B. afzelii* (12). Les *Borrelia sp.* peuvent donc survivre dans des environnements où le taux d'oxygène est très bas voire inexistant. Le génome de *B. burgdorferi* comporte un chromosome linéaire de 910 725 paires de bases, ainsi que dix-sept à vingt-et-un plasmides, selon les souches, dont l'ensemble représente entre 533 000 et 610 694 paires de bases. Le

chromosome possède à lui seul 853 gènes impliqués dans la réplication de l'ADN, la transcription, le métabolisme énergétique... Les plasmides comportent quant à eux environ 430 gènes. Au total, le génome de *B. burgdorferi* représente 1 521 419 paires de bases (13, 14). Cependant 90 % de ses gènes lui sont spécifiques et ne sont pas rencontrés chez d'autres organismes.

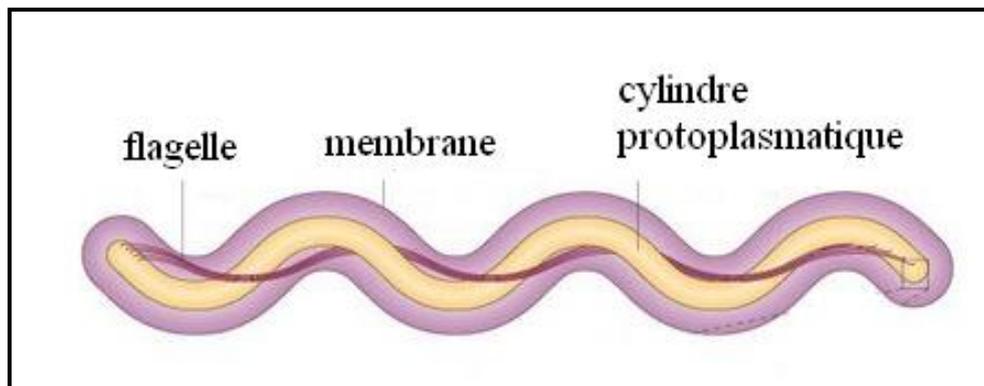


Figure 21 : Représentation de *Borrelia* sp.

Cette bactérie ne peut pas vivre dans l'environnement, elle nécessite obligatoirement la présence d'un hôte du fait de ses capacités métaboliques limitées, la relation hôte-bactérie est donc de type parasitisme. La culture de *B. burgdorferi* est difficile puisqu'elle ne possède pas les gènes responsables de la synthèse d'acides aminés, d'acides gras, de lipides, ni des cofacteurs enzymatiques. Pour la cultiver, il est nécessaire d'utiliser un milieu de culture spécifique nommé BSK (Barbour-Stoenner-Kelly) qui est fabriqué à partir de sang de lapin (15, 16).

Il a été montré que le génome de *B. burgdorferi* n'était pas stable et qu'il existait des recombinaisons et des réarrangements au sein des plasmides. Les recombinaisons peuvent engendrer des modifications au niveau des protéines de surface de la bactérie, ce qui pourrait expliquer l'échappement de la bactérie au système immunitaire de l'hôte. La bactérie peut donc coloniser d'autres tissus (17).

IV. Les signes cliniques (8) (18)

1) La phase précoce localisée

La phase précoce localisée se définit par l'apparition de l'érythème migrant qui est très caractéristique de la maladie de Lyme (Figure 22). Il survient dans les deux à trente jours après la piqûre de la tique contaminatrice et il est principalement localisé au niveau des membres inférieurs et du tronc. Au départ, il se caractérise par une macule, qui est une lésion centrifuge et qui s'agrandit autour de la piqûre. L'érythème mesure en général une dizaine de centimètres de diamètre, mais il peut atteindre soixante-dix centimètres. Au bout de quelques jours, le centre de la macule s'estompe, cependant, elle reste chaude mais n'est pas prurigineuse.



Figure 22 : Erythème migrant

Dans d'autres formes cliniques, l'érythème peut ne pas être localisé au niveau de la piqûre, il peut aussi être remplacé par d'autres types de lésions, comme des indurations, des vésicules ou encore par plusieurs érythèmes. L'érythème disparaît spontanément au bout de quelques jours ou de quelques semaines et notamment lors de la mise en place de l'antibiothérapie.

En fonction des espèces de *Borrelia sp.*, l'érythème peut ne pas être présent, cela a été constaté chez 20 à 30 % des patients (19), et les premiers signes cliniques de la maladie de Lyme peuvent être peu spécifiques, comme un syndrome grippal, une somnolence, un fébricule, des céphalées, des arthralgies et des troubles digestifs.

2) La phase précoce disséminée

La phase précoce disséminée se caractérise par différents types de manifestations telles que cutanées, neurologiques et rhumatismales.

Au niveau cutané, il peut se produire le développement d'un ou plusieurs érythèmes migrants sur différents points du corps, ainsi que d'autres lésions. Une lésion typique est le lymphocytome borrélien qui se traduit par un nodule cutané violacé d'allure lupoïde et qui se situe le plus souvent au niveau du pavillon de l'oreille ou de l'aréole.



Figure 23 : Lymphocytome borrélien

Les signes neurologiques de la maladie de Lyme sont plus fréquemment rencontrés dans les cas européens. En France, ils sont présents dans 50 % des cas en 2003, selon la publication de Postic D. et Ferquel E. (Rapport annuel d'activité. Centre National de Référence des *Borrelia*. 2003.). Parmi les manifestations neurologiques, on retrouve des méningites lymphocytaires qui se caractérisent par des céphalées sans raideur méningée, des névrites crâniennes, des polyradiculonévrites, des encéphalites, une radiculite hyperalgique. Cependant, les signes peuvent être plus généraux, comme une asthénie, des troubles du

sommeil, des troubles de la mémoire, des difficultés de concentration, un syndrome dépressif. De plus, il existe la neuroborréliose qui se caractérise par l'association de différentes atteintes cérébrales, comme une méningite, une atteinte radiculaire périphérique, une paralysie d'un nerf crânien.

La maladie de Lyme peut aussi provoquer des manifestations rhumatologiques, qui sont plus fréquentes chez les patients américains et qui peuvent survenir au cours des deux années qui suivent l'apparition de l'érythème migrant. Elles apparaissent brutalement et touchent les grosses articulations préférentiellement et notamment le genou. L'articulation atteinte devient chaude, rouge, œdémateuse et douloureuse. Ce type de symptômes peut toucher plusieurs articulations de façon récidivante et peut conduire à des arthrites chroniques. De plus, des myalgies peuvent être rencontrés.

Des atteintes cardiaques peuvent survenir au cours des semaines suivant l'érythème migrant et se manifestent par des myocardites associées à des troubles de la conduction qui peuvent régresser spontanément. Il peut aussi y avoir des myopéricardites qui se traduisent par des douleurs thoraciques, des palpitations ou une dyspnée. Parfois des troubles du rythme peuvent engendrer des syncopes, des blocs auriculo-ventriculaires, ce qui peut menacer le pronostic vital.

Lors de la maladie de Lyme, d'autres types de manifestations peuvent être rencontrés. Au niveau pulmonaire, le patient peut ressentir des dyspnées qui ne sont pas d'origine cardiaque, mais dues à des complications pulmonaires. On peut aussi rencontrer des manifestations ophtalmiques, qui sont de type conjonctivite, kératite, uvéite, paralysie des muscles oculaires et cécité.

3) La phase tardive ou chronique

La phase tardive ou chronique peut survenir plusieurs années après la piqûre de la tique et peut se traduire par des manifestations cutanées, neurologiques et rhumatologiques.

Par exemple, certains patients peuvent développer une acrodermatite chronique atrophiante plusieurs années après l'infection et notamment ceux infectés par *Borrelia afzelii*. Il s'agit

d'une lésion de progression lente et localisée le plus souvent au niveau des membres inférieurs ou sur le membre où s'est développé l'érythème migrant (Figure 24). La première phase de l'acrodermatite est inflammatoire et se caractérise par des plaques violacées avec un œdème et une hyperpigmentation localisée. Associé à cela, les patients peuvent ressentir des douleurs, un prurit et des paresthésies. Lorsque l'acrodermatite n'est pas traitée, elle peut évoluer vers une phase atrophique où il y a une sclérose de l'épiderme et une dilatation des vaisseaux qui deviennent visibles. De plus, des neuropathies périphériques dégénératives et une inflammation des articulations adjacentes peuvent apparaître.



Figure 24 : Acrodermatite

Au cours de la phase tardive de la maladie de Lyme, on peut voir une persistance des œdèmes au niveau des articulations, ainsi que des réactions inflammatoires récurrentes. La neuroborréliose présente lors de la phase précoce peut aussi devenir chronique et entraîner une encéphalomyélite, des troubles de la mémoire, des troubles cognitifs et des neuropathies périphériques (6).

Cette phase chronique de la maladie est très controversée, puisque cela suppose une persistance de l'infection, en effet, l'attribution de ces symptômes à cette persistance est discutée. Le terme de maladie de Lyme chronique désigne un ensemble de tableaux cliniques, cependant, les critères permettant de définir que le patient se trouve dans cette phase ne sont pas clairement établis. Dans l'étude de cas réalisée par Feder *et al.* en 2007 (20), il a été décrit que les patients étudiés étaient très hétérogènes, puisqu'il y avait des patients vivant dans des zones d'endémies qui présentaient des symptômes non spécifiques de la maladie de Lyme, comme une asthénie, des myalgies, des arthralgies ou des troubles du sommeil.

Cependant, ces symptômes n'étaient pas confirmés par les tests sérologiques, ce qui laissait penser à un autre diagnostic. D'autres patients dans cette étude avaient eu des antécédents d'une maladie de Lyme documentée. Ils ont développé des symptômes non spécifiques, tels qu'une asthénie, des troubles cognitifs ou des douleurs diffuses, ce qui peut faire supposer un syndrome post-Lyme. Il a été montré que la fatigue présente dans le syndrome post-Lyme était un symptôme fréquemment rencontré dans les pathologies infectieuses. Selon une étude (21), 34 % des patients ayant présenté un érythème migrant se plaignaient de fatigue dans les trois semaines suivantes, ils étaient 24 % après trois mois et 17 % après un an. Pour comparaison, 35 % des patients ayant présenté une infection virale ou une fièvre Q ont rapporté une fatigue persistante après six semaines, ils étaient 37 % après trois mois et 9 % après un an (22). Ces données sont donc similaires quelque soit la pathologie en question (23).

V. Diagnostic

Le diagnostic de la maladie de Lyme peut être effectué grâce aux tests sérologiques suite à la découverte de l'érythème migrant caractéristique. En revanche, le laps de temps entre la transmission de la bactérie et l'apparition de l'érythème migrant échappe souvent à la vigilance diagnostique. L'érythème apparaît le plus souvent quatre semaines suivant la piqûre de la tique. Or, le développement d'anticorps anti-*Borrelia sp.* survient entre la deuxième et la quatrième semaine post-infection. Chez la plupart des patients présentant cet érythème migrant, les tests sérologiques peuvent donc être négatifs. A cette difficulté s'ajoute le fait qu'environ 20 à 30 % de patients ne vont pas développer l'érythème.

Dans la forme disséminée de la maladie, le diagnostic est plus difficile. Dans la majorité des cas, il est retrouvé dans l'historique du patient, une exposition à une piqûre de tique et des symptômes typiques de la maladie de Lyme. Les tests sérologiques effectués dans ces cas-ci sont positifs.

Les tests sérologiques recherchent la présence d'anticorps dirigés contre les antigènes de la bactérie ou directement les antigènes. Le test ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), consiste en un test immuno-enzymatique en phase hétérogène. La technique ELISA en sandwich permet d'effectuer un diagnostic direct en détectant la présence de l'antigène

bactérien. La technique ELISA indirecte (Figure 25) permet d'effectuer le diagnostic en recherchant les anticorps spécifiques de l'agent pathogène en question.

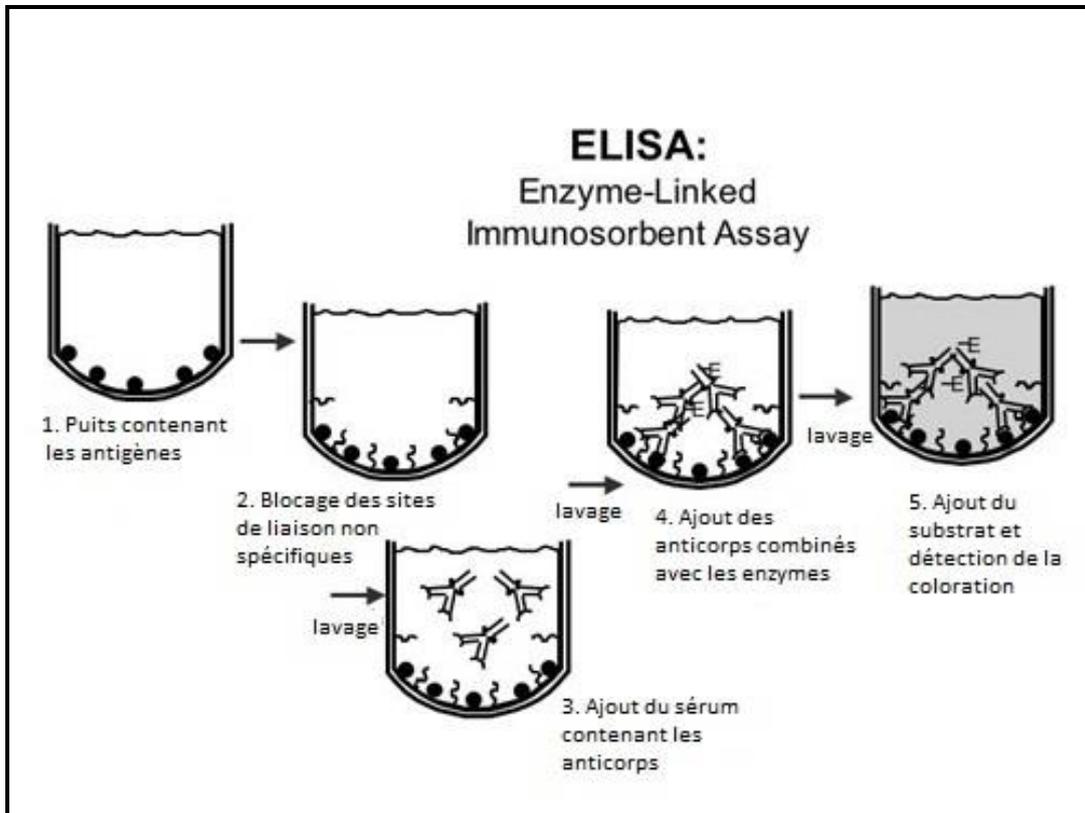


Figure 25 : Test ELISA indirect

Ces tests ELISA présentent une bonne sensibilité, cependant, ils ne possèdent pas de standardisation européenne, ce qui entraîne des seuils aléatoires entre les différents pays. On constate également des faux positifs et des faux négatifs dans les résultats, ce qui pose des problèmes dans le diagnostic de certitude de la maladie.

A titre d'exemple, le test ELISA Vidas® de la société « Biomérieux », est interprété tel que la recherche des IgG (Immunoglobulines G) anti-*B. burgdorferi* est considérée comme négative quand l'index est inférieur à 0,20 et positive quand l'index est supérieur ou égal à 0,20. La recherche des IgM (Immunoglobulines M) anti-*B. burgdorferi* est considérée comme négative quand l'index est inférieur à 0,20, comme positive quand l'index est supérieur ou égal à 0,32 et comme douteuse quand l'index est compris entre 0,20 et 0,32.

Les résultats positifs obtenus avec le test ELISA sont contrôlés par un test plus spécifique, le Western blot. Les anticorps recherchés sont des IgM et des IgG. La réponse humorale face à

la présence de la bactérie débute par une production d'IgM dans les deux à quatre semaines qui suivent l'infection avec un pic maximal après huit à dix semaines. Ensuite, la concentration en IgM décroît ; cependant chez certains patients, la présence d'IgM peut persister pendant plusieurs années. Les IgG apparaissent quant à eux six semaines après l'infection avec un pic de concentration au bout de quatre à six mois et elles peuvent rester détectables dans le sérum du patient pendant plusieurs années. Il est recommandé de ne pas réaliser de Western blot lorsque le test ELISA est négatif, mais lorsque le test ELISA est douteux ou positif, le Western blot est utilisé comme test de confirmation. Le principe du Western blot appliqué au diagnostic de la maladie de Lyme est de détecter la présence d'antigènes spécifiques de la bactérie dans le sérum du patient. Le résultat du Western blot est rendu sous la forme d'une bandelette et d'un diagramme pour montrer la présence ou non des protéines recherchées (Figure 26).

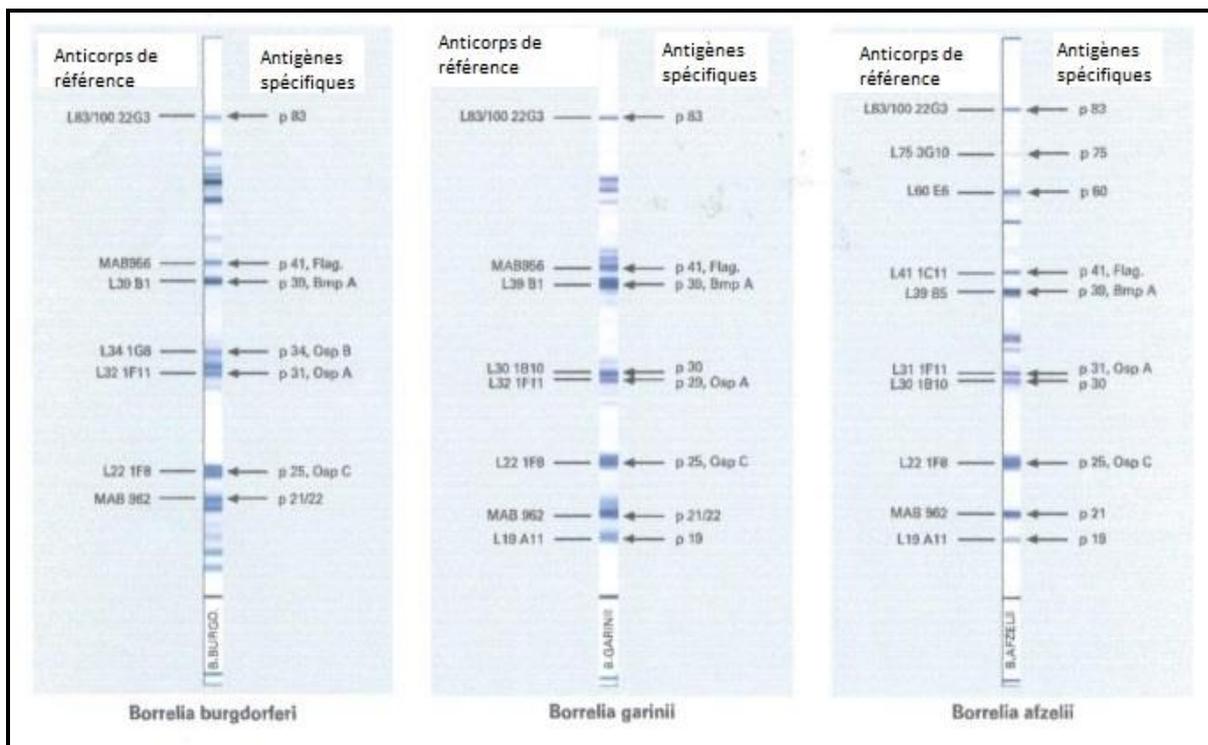


Figure 26 : Bandelettes du Western blot

Dans la maladie de Lyme, les protéines recherchées sont au nombre de huit, il s'agit des protéines p100, VlsE (Variable like protein sequence Expressed), p58, p41 flagelline, BmpA (Basic membrane protein A), OspA (Outer surface protein A), OspC (Outer surface protein C) et p18. Selon la technique fournie par la société « All Diag », pour chaque protéine, un

score est attribué lorsqu'elle est détectée lors du Western blot. Les scores sont résumés dans le tableau suivant (Tableau 1), ils dépendent de la spécificité de la protéine.

Tableau 1 : Scores pour un Western blot

Nom	Score IgG	Score IgM
P100	5	5
VlsE	5	5
P58	4	4
P41 flagelline	1	1
BmpA	5	4
OspA	5	5
OspC	5	8
P18	5	5

Les scores sont ensuite additionnés et l'interprétation est telle que le Western blot est considéré comme positif quand le score total est supérieur ou égal à 7, il est considéré comme négatif quand le score total est inférieur ou égal à 5 et il est considéré comme limite quand le score total est égal à 6. Chez un patient, lorsque le Western blot revient positif, cela confirme un contact avec la bactérie *Borrelia sp.*, cependant, cela n'implique pas obligatoirement une maladie de Lyme.

Les tests sérologiques ont des inconvénients puisqu'ils présentent des variations dans leurs résultats en fonction de l'espèce de *Borrelia* en cause et des propriétés de l'antigène recherché. De plus, la réponse de l'individu face à l'infection est variable et dépend du génotype du patient. En effet, le patient peut produire des anticorps avec une affinité plus ou moins importante envers l'antigène. Pour obtenir des résultats cohérents, il est nécessaire de ne pas utiliser un antigène issu d'une seule souche de *Borrelia sp.*, mais plutôt un antigène recombinant qui permettra de détecter la majorité des génotypes d'antigènes de *Borrelia sp.* (6).

Une autre méthode diagnostique peut être utilisée, il s'agit de la technique PCR, Polymerase Chain Reaction. Cette technique de biologie moléculaire utilise l'amplification génique pour repérer un fragment d'ADN ou de gènes spécifiques. Dans la maladie de Lyme, différents types de milieux peuvent être testés, tels que le sang, le liquide cébrospinal, des biopsies cutanées, le liquide synovial... Pour réaliser une PCR, on utilise l'ADN qui contient le fragment recherché, deux amorces (sens et anti-sens) qui sont des oligonucléotides capables de s'hybrider sur l'ADN en encadrant le fragment, la Taq polymérase qui est l'ADN polymérase et quatre types de nucléotides qui servent à la Taq polymérase pour la synthèse

des brins d'ADN complémentaires. Le déroulement d'une PCR se caractérise par l'enchaînement de cycles, chacun étant défini selon trois étapes : la dénaturation, l'hybridation et l'élongation (24, 25).

VI. Traitement

Le traitement médicamenteux de la maladie de Lyme au stade de l'érythème migrant ou du lymphocytome s'effectue par le biais de l'antibiothérapie orale avec de la doxycycline ou de l'amoxicilline. Cependant, le traitement de la forme disséminée s'effectue grâce à la ceftriaxone.

Selon les recommandations de l'InVS, le choix de la molécule est récapitulé dans le Tableau 2 (8).

Tableau 2 : Choix du traitement antibiotique dans la maladie de Lyme

Forme clinique	Adulte et enfant de plus de 8 ans			Enfant de moins de 8 ans
	1 ^{ère} intention	2 ^{ème} intention	Femme enceinte	
Erythème migrant	Durée : 14 jours			
	Voie orale			
	Doxycycline : 2 fois 100 mg par jour Ou Amoxicilline : 3 à 4 g par jour	Céfuroxime axetil : 2 fois 500 mg par jour Ou Azithromycine : 500 mg par jour Ou Clarithromycine : 2 fois 500 mg par jour Ou Erythromycine : 4 fois 500 mg par jour	Amoxicilline : 3 à 4 g par jour Ou Azithromycine : 500 mg par jour	Amoxicilline : 50 mg/kg en 3 prises Ou Céfuroxime axetil : 30 mg/kg en 2 prises Ou Erythromycine : 30 mg/kg en 2 ou 3 prises
Phase secondaire	Durée : 21 jours			
	Voie IM ou IV	Voie IV ou orale	Voie IM ou IV	
	Ceftriaxone : 2 g par jour	Amoxicilline : 6 à 8 g par jour Voie orale possible pour les formes articulaires	Ceftriaxone : 2 g par jour	Ceftriaxone : 75-100 mg/kg par jour
Phase tertiaire ou chronique	Durée : 28 jours			
	Voie IM plutôt que IV		Voie IM plutôt que IV	
	Ceftriaxone : 2 g par jour		Ceftriaxone : 2 g par jour	Ceftriaxone : 75-100 mg/kg par jour

Le suivi effectué à la suite du traitement médicamenteux est exclusivement clinique, même si les signes cutanés peuvent mettre du temps à se résorber, cela ne signifie pas que le traitement qui a été mis en place s'est révélé inefficace (26).

2) L'amoxicilline (27)

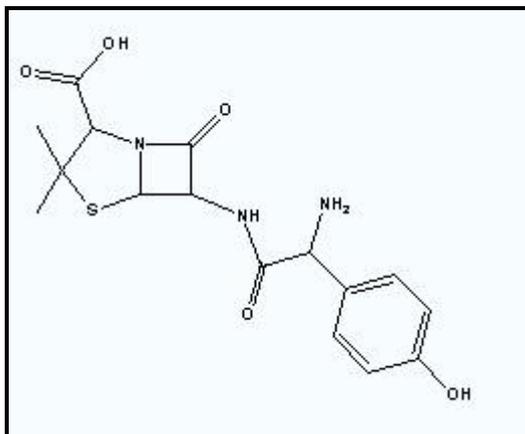


Figure 28 : Formule de l'amoxicilline

L'amoxicilline est un antibiotique à action systémique avec un spectre d'action large de la famille des aminopénicillines (pénicillines du groupe A) qui présente une bonne diffusion dans la plupart des tissus et liquides biologiques. Les aminopénicillines font parties de la grande famille des β -lactames qui sont des antibiotiques bactéricides temps-dépendant et qui agissent sur la paroi bactérienne. Son mécanisme d'action est l'inhibition des transpeptidases et/ou des transglycosylases et/ou des DD-carboxypeptidases du fait de son analogie structurale avec les protéines fixant les pénicillines (PFP) qui permettent l'activité de ces enzymes. Ces enzymes jouent chacune un rôle pendant la phase de synthèse de la paroi bactérienne.

Pour la maladie de Lyme, la posologie de l'amoxicilline est de quatre grammes par jour (50 mg/kg/jour chez l'enfant) en cas d'érythème migrant isolé et jusqu'à six grammes par jour (100 mg/kg/jour) en cas de manifestations systémiques, pendant quinze à vingt-et-un jours.

Elle est contre-indiquée lors d'allergie aux bêtalactamines (pénicillines et céphalosporines) ou de phénylcétonurie. Les principaux effets indésirables de l'amoxicilline sont des troubles digestifs (diarrhées, nausées), des éruptions cutanées, des candidoses cutanéomuqueuses...

3) La ceftriaxone (27)

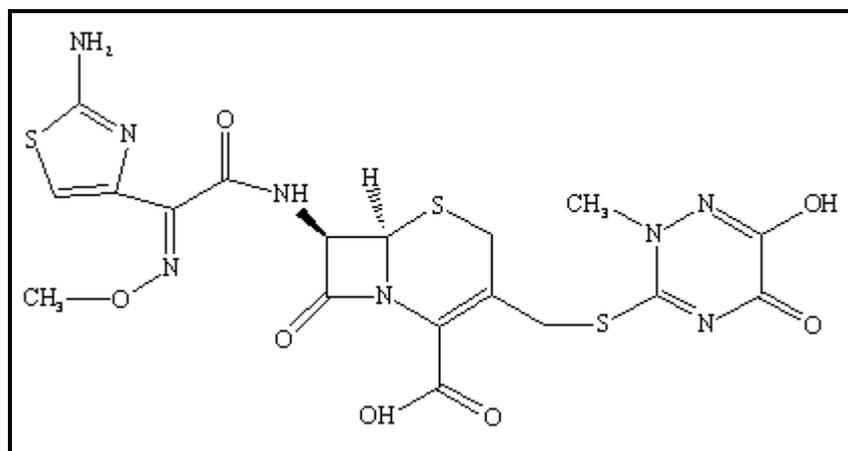


Figure 29 : Formule de la ceftriaxone

La ceftriaxone est un antibiotique à action systémique avec un spectre d'action large de la famille des céphalosporines de troisième génération qui présente une bonne diffusion dans l'organisme y compris dans le liquide céphalo-rachidien. Les céphalosporines appartiennent elles aussi à la grande famille des β -lactames, la ceftriaxone possède donc le même mécanisme d'action que l'amoxicilline.

Pour la maladie de Lyme, la posologie de la ceftriaxone est de deux grammes par jour en une seule injection (50 à 100 mg/kg/jour chez l'enfant) en général pendant quatorze jours, mais le traitement peut durer jusqu'à vingt-et-un jours dans les formes sévères ou tardives.

Elle est contre-indiquée dans les cas d'allergies aux céphalosporines, chez les prématurés et chez les nouveau-nés jusqu'à vingt-huit jours dans les cas d'hyper-bilirubinémie et lors d'apports calciques. Les principaux effets indésirables de la ceftriaxone sont des éruptions cutanées d'allure allergique, des réactions d'hypersensibilité, des troubles digestifs.

4) Les difficultés du traitement

Lorsque les patients sont guéris de la maladie, mais qu'ils ont toujours certains symptômes liés à la modulation du système immunitaire, on dit qu'ils présentent le syndrome post-Lyme. Ce syndrome est caractérisé par l'association de douleurs diffuses, de fatigue, de troubles de la mémoire... dans les jours ou semaines qui suivent les traitements antibiotiques. Cependant,

le syndrome post-Lyme est controversé, puisque certains l'expliquent par le fait que ces patients ne sont pas guéris malgré les traitements suivis. Des études ont été menées pour tenter de l'expliquer, en 1990, le NIH des Etats-Unis (National Institutes of Health) a examiné les prélèvements sanguins et le liquide céphalo-rachidien de cent-trente-six patients présentant les symptômes malgré le traitement antibiotique suivi et il conclue que l'infection n'était pas détectable chez ces patients. Le NIH a aussi recherché la présence d'ADN et d'ARN de la bactérie chez des singes infectés et traités par antibiotiques, cette étude a montré que l'ADN et l'ARN étaient toujours présents dans les tissus des animaux malgré le traitement (18).

Les études de Fallon *et al.* (2012) ont montré que l'utilisation de la ceftriaxone par voie intraveineuse n'apportait qu'une efficacité modérée, puisqu'une fatigue persistait malgré le traitement correctement suivi. C'est pourquoi, ils suggèrent que la mise en place de ce traitement nécessite l'information rigoureuse du patient concernant les risques qu'il peut entraîner (28).

Dans l'étude réalisée par Klempner *et al.* (2001), 36 % des patients traités par placebo reconnaissaient une amélioration après leur traitement, tandis que cela concernait 40 % des patients traités par antibiotiques. Cependant, 32 % des patients traités par antibiotiques ont présenté une aggravation, à noter que le seuil d'amélioration utilisé était bas, les 28 % restants de ces patients n'ont pas noté de changement malgré le traitement. Dans leurs études, Klempner *et al.* n'ont pas retrouvé de réels bénéfices lors de la mise en place d'un deuxième traitement malgré douze semaines d'antibiotiques (quatre semaines de ceftriaxone en intraveineuse suivies de huit semaines de doxycycline per os), de plus, les antibiotiques par voie orale seraient peu efficaces contre l'infection du système nerveux central. Cependant, de nombreuses études ont montré que la doxycycline était la molécule la plus efficace pour la forme neurologique de la maladie de Lyme (29).

Selon Krupp *et al.* (2003), 69 % des patients traités par ceftriaxone ont montré une diminution de la fatigue à six mois, avec en moyenne 22 % de réduction, en comparaison avec les patients sous placebo où la réduction est de 9 %. Cependant, dans cette étude, il a été montré que l'effet placebo était très important, puisque 68 % des patients sous placebo pensaient suivre un traitement antibiotique. Krupp *et al.*, supposent que la fatigue chez

certain patients après le traitement antibiotique est due à la persistance de *Borrelia burgdorferi* dans le système nerveux central de ces patients (30).

Lorsque des bactéries résiduelles sont toujours présentes chez des patients qui ont déjà été traités par antibiotiques, il a été montré qu'il n'était pas nécessaire de traiter à nouveau ces patients par antibiotiques. Or, ces bactéries peuvent être responsables de la persistance et de la réactivation de la maladie.

De nombreuses études sont donc réalisées sur l'efficacité des traitements antibiotiques dans la prise en charge de la maladie de Lyme, cependant, on constate que les conclusions de celles-ci sont parfois contradictoires entre elles (31).

Yrjänäinen *et al.* (2006) ont réalisé trois études concernant l'utilisation d'antibiotiques chez des souris infectées par une *Borrelia sp.* Lors de la première étude, ils ont montré, qu'après l'éradication de la bactérie par l'utilisation d'antibiotiques, des arthralgies persistaient (32). Dans la seconde étude, ils ont retrouvé qu'après la soi-disant éradication de la bactérie par la ceftriaxone, l'utilisation du TNF α a réactivé la bactérie, qui était normalement non cultivable après quatre semaines d'antibiotiques (33). Enfin, pour la troisième étude, ils ont traité les souris infectées avec de la ceftriaxone, les échantillons *post-mortem* ont rapporté une culture bactérienne négative. Cependant, pour 30 % des souris qui avaient été traitées, il a été retrouvé de l'ADN de la bactérie au niveau des articulations. Ils ont donc conclu que les articulations et les tissus péri-articulaires servaient de niche à la bactérie pour échapper au traitement antibiotique (34).

VII. Prophylaxie

A ce jour, il n'existe toujours pas de vaccin pour prévenir la maladie de Lyme, un des meilleurs moyens pour l'éviter est l'extraction précoce des tiques. A chaque fois qu'une personne est susceptible d'être en contact avec une tique, il est nécessaire qu'elle effectue un examen cutané rigoureux pour repérer, le plus rapidement possible, la présence de celle-ci, puisque la transmission de la bactérie s'effectue généralement dans les douze à vingt-quatre heures. Il est préférable d'ôter les tiques à l'aide d'un Tire-Tic® (Figure 30) puisque celui-ci permet de les enlever sans casser le rostre et donc d'éviter la régurgitation de salive qui est

susceptible de contenir *Borrelia sp.* Il est primordial de rappeler que l'utilisation d'éther pour l'extraction des tiques est formellement déconseillée puisque l'éther entraîne la régurgitation de la salive de la tique et donc la transmission de la bactérie. Il est plutôt conseillé de retirer la tique avec le Tire-Tic® et ensuite de désinfecter l'endroit de la piqûre.

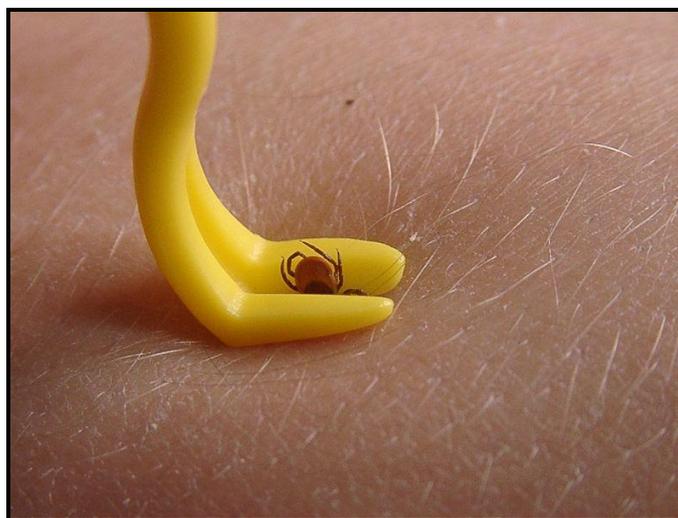


Figure 30 : Utilisation d'un Tire-Tic®

Pour éviter les piqûres de tiques, on peut aussi utiliser des répulsifs, comme des pyréthrinoïdes à appliquer uniquement sur les vêtements qui agissent en bloquant les canaux sodiques et donc en bloquant la transmission de l'influx nerveux. Les pyréthrinoïdes sont considérés comme insecticides, acaricides et pédiculicides. Cependant, il est fortement recommandé de porter des vêtements longs et couvrants au maximum lors de promenades dans des lieux susceptibles d'abriter des tiques. Les répulsifs contenant du DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamide) peuvent aussi être utilisés sur la peau ou les vêtements, puisque les tiques détectent cette odeur, ce qui les repousse. Cependant, cette molécule présenterait une toxicité, c'est pourquoi il faut éviter de l'utiliser chez les enfants en bas âge et sur des peaux irritées (35). Enfin, pour les militaires et les randonneurs, une chimio-prophylaxie peut être mise en place à base de doxycycline.

Dans les Guidelines américaines, lors d'une piqûre de tique, il n'est pas recommandé d'utiliser systématiquement une prophylaxie antimicrobienne, ni d'avoir recours à un test sérologique. Cependant, une prise unique de doxycycline peut être prescrite lorsque toutes les circonstances suivantes coexistent : la tique en question est au stade adulte ou nymphe et sa durée de piqûre est supérieure ou égale à trente-six heures, la prophylaxie peut être

débutée dans les soixante-douze heures suivant le retrait de la tique, la tique est issue d'une zone où le taux d'infection des tiques par *Borrelia burgdorferi* est supérieur ou égal à 20 %, la doxycycline n'est pas contre-indiquée (femme enceinte, enfant de moins de huit ans). Après une piqûre de tique, le patient doit être vigilant lors des trente jours suivants, il doit vérifier qu'il ne développe pas les symptômes de la maladie de Lyme, et notamment l'érythème migrant (35).

Chapitre II : La micro-immunothérapie

I. Rappels sur l'immunité anti-infectieuse (36)

Le système immunitaire est un ensemble d'organes, de différents types de cellules et de molécules en solution dans les fluides biologiques, qui permettent le traitement, l'intégration d'informations et la régulation des réponses. Il s'agit donc d'un système de surveillance, d'identification, de neutralisation et d'élimination, puisque les interactions qui s'y produisent ont pour but de combattre l'infection en question. On distingue au sein de ce système immunitaire l'immunité innée et l'immunité spécifique. L'immunité innée intervient dans les douze premières heures qui suivent l'agression et l'immunité spécifique ou adaptative intervient quant à elle dans les cinq jours suivants. Le système immunitaire se compose aussi d'acteurs phagocytaires, tels que les polynucléaires neutrophiles, les monocytes et les macrophages. D'autres éléments peuvent intervenir, c'est le cas des cellules NK (Natural Killer), du système du complément et des cytokines inflammatoires.

L'immunité innée est présente dès la naissance et dans tous les systèmes multicellulaires. Elle est constituée d'un système faisant intervenir des molécules de reconnaissance, telles que des récepteurs membranaires et des protéines solubles, et est capable de reconnaître les micro-organismes pathogènes. Cette immunité apporte donc une réponse immédiate face à une agression, mais celle-ci est incomplète. De plus, elle stimule et oriente la réponse adaptative. Par exemple, lors d'une infection, l'immunité innée se caractérise par la reconnaissance de l'agent infectieux par des effecteurs préformés non spécifiques, ce qui conduit à l'élimination de cet agent infectieux. Les macrophages sont les principaux acteurs de l'immunité innée.

L'immunité adaptative est un système permettant la production clonale de lymphocytes qui expriment des récepteurs aux antigènes du pathogène en question, et dont les capacités de reconnaissance sont quasiment infinies. Cette immunité permet donc une réponse récente et surtout définitive face à l'agression. Par exemple, lors d'une infection, l'immunité adaptative se caractérise par le transport de l'antigène vers les organes lymphoïdes, puis par une reconnaissance de celui-ci par des lymphocytes B et des lymphocytes T naïfs. Puis l'expansion clonale et la différenciation des lymphocytes a pour objectif d'éliminer l'agent

infectieux. Au cours de cette immunité, il se produit la libération d'anticorps spécifiques de chaque antigène par les lymphocytes B devenus des plasmocytes.

Le système immunitaire détecte la présence du pathogène grâce aux molécules de reconnaissance. Il s'agit de protéines qui vont se lier à la surface du pathogène en cause par le biais de molécules, qui sont soit sécrétées, soit exprimées à la surface de celui-ci. Ces molécules de reconnaissance sont présentes sous forme libre circulante ou sous forme de récepteurs protéiques à la surface des cellules impliquées dans le système immunitaire.

Parmi les leucocytes, on retrouve les lymphocytes (Figure 31) qui ont à leur surface des molécules de reconnaissance et qui sont impliqués dans les réactions immunitaires adaptatives. Lors de la reconnaissance d'un pathogène par les lymphocytes, il se produit une différenciation lymphocytaire qui permet par la suite d'affiner la réponse immunitaire. En fonction des molécules de reconnaissance présentes à leur surface, on les sépare en sous-groupes : les lymphocytes B où les molécules de reconnaissance sont des immunoglobulines et les lymphocytes T où ce sont des récepteurs nommés récepteurs des cellules T. Lorsqu'ils sont activés au cours d'une infection, les lymphocytes B évoluent en plasmocytes, qui vont ensuite produire des anticorps. Les lymphocytes résident dans les tissus lymphoïdes, tels que la moelle osseuse, le thymus, la rate et les amygdales. Cependant, les lymphocytes sont mis au contact des pathogènes au niveau des ganglions lymphatiques et il se produit donc la reconnaissance des pathogènes par les molécules de reconnaissance présentes à leur surface. Après reconnaissance, les lymphocytes se différencient en cellules effectrices, les lymphocytes B deviennent donc des plasmocytes et les lymphocytes T deviennent soit des lymphocytes T auxiliaires (lymphocytes T Helper) qui permettent l'activation d'autres cellules du système immunitaire, soit des lymphocytes T cytotoxiques qui détruisent les cellules infectées par des pathogènes intracellulaires. En plus des lymphocytes, il existe les cellules NK, qui interviennent au cours de l'immunité innée et qui sont importantes lors d'infections virales. Parmi les effecteurs du système immunitaire, on retrouve aussi les cellules dendritiques qui jouent un rôle primordial, puisqu'elles participent aux deux types d'immunité et que ce sont des cellules présentatrices d'antigènes.

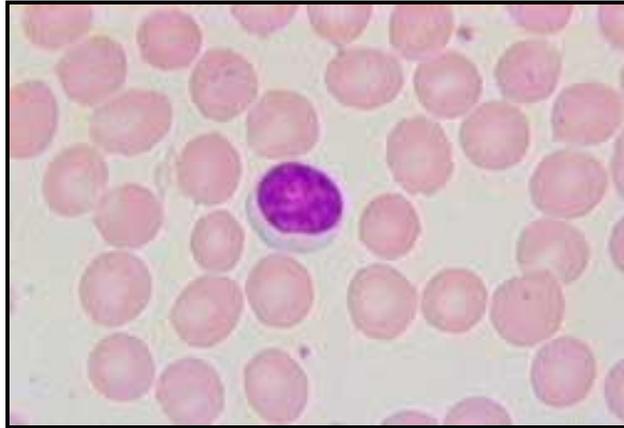


Figure 31 : Lymphocyte parmi des globules rouges

Lors d'une infection, l'élimination du pathogène en cause est réalisée par les macrophages et par les polynucléaires neutrophiles. Les polynucléaires neutrophiles et les monocytes sont capables d'effectuer une diapédèse, c'est-à-dire qu'ils sont capables de se déplacer, ils peuvent sortir de la circulation sanguine et traverser les cellules endothéliales grâce à leurs pseudopodes. Les polynucléaires neutrophiles et les monocytes sont capables de libérer des substances bactéricides, telles que des radicaux libres, la défensine, l'élastase, mais aussi des médiateurs pro-inflammatoires, tels que des prostaglandines, des cytokines, des facteurs de croissance, ce qui explique le fait qu'une infection entraîne une inflammation locale. Les cytokines vont permettre le recrutement de nouvelles cellules immunitaires sur le lieu de l'infection, de plus, elles induisent au niveau local une dilatation capillaire, ce qui permet l'augmentation du flux sanguin et entraîne également un rougissement et un échauffement de la peau. Le plasma contient aussi des molécules de reconnaissance solubles provenant du foie, qui interviennent dans l'immunité innée, c'est le cas par exemple de la MBP (Mannose Binding Protein) qui est capable de fixer des glucides présents à la surface des bactéries, ce qui permet d'activer le système du complément.

La différenciation des lymphocytes B et T en lymphocytes effecteurs permet la production de molécules de reconnaissance qui sont spécifiques des constituants du pathogène responsable. Les constituants du pathogène sont donc reconnus par les immunoglobulines spécifiques des lymphocytes B ou par les récepteurs spécifiques des lymphocytes T. Les structures des immunoglobulines et des récepteurs des lymphocytes T comportent des régions variables qui permettent la liaison de nombreux antigènes et donc la reconnaissance de nombreux pathogènes, c'est le principe de l'immunité adaptative. De plus, les anticorps sécrétés par les plasmocytes sont capables de neutraliser les pathogènes, puisqu'ils s'y fixent

sur des sites pouvant empêcher la croissance, la réplication et les interactions cellulaires. Les lymphocytes T sont divisés en deux types : les lymphocytes T CD8 et les lymphocytes T CD4. Les lymphocytes T CD8 sont capables de cytotoxicité, c'est-à-dire qu'ils détruisent les cellules infectées. Les lymphocytes T CD4 sécrètent des cytokines qui permettent l'activation des autres cellules du système immunitaire. Ils peuvent être séparés en lymphocytes Th1 (lymphocytes T helper 1) qui sécrètent des cytokines activant les macrophages et en lymphocytes Th2 qui aident les lymphocytes B pour la production des anticorps.

Au cours de l'immunité innée, des cellules mémoire sont produites et permettent, lors de contacts ultérieurs avec le pathogène, de le contrer plus rapidement et plus puissamment. Par contre, grâce à l'immunité adaptative, le pathogène est rejeté avant même l'apparition de symptômes de la maladie provoquée par le pathogène, cela s'explique par le fait que cette immunité est plus spécifique que l'immunité innée.

II. Les effecteurs de l'immunité utilisés dans la micro-immunothérapie (37)

1) Les cytokines et les chimiokines

Parmi les différents effecteurs de l'immunité, les cytokines sont les plus utilisées en micro-immunothérapie, car ces protéines interviennent dans toutes les réactions du système immunitaire et notamment dans la communication intercellulaire. Les cytokines sont des petites protéines, sécrétées en réponse à un signal, qui agissent comme messagers dans la régulation de l'inflammation et dans la modulation de l'activité cellulaire. On distingue les cytokines pro et anti-inflammatoires. Elles agissent selon trois modes d'action. Tout d'abord, elles interviennent par le biais d'un mécanisme autocrine qui se caractérise par la sécrétion de la cytokine en question par une cellule et celle-ci va agir sur un récepteur situé sur cette même cellule. Il y a aussi le mécanisme paracrine où la cytokine agit sur une cellule voisine à celle qui l'a sécrétée et enfin le mécanisme endocrine où la cytokine agit à distance de sa cellule productrice.

Parmi les cytokines, on retrouve plus d'une vingtaine d'interleukines ayant un rôle de messenger intercellulaire qui est différent en fonction de l'interleukine en question (IL-1 à IL-23), elles peuvent intervenir dans la réponse immunitaire ou stimuler l'hématopoïèse ou bien être impliquées dans l'inflammation. Les facteurs de nécrose tumorale (TNF α et β) et les interférons (IFN α , β et γ) sont principalement responsables de l'inhibition virale lors d'une infection, mais ils peuvent aussi avoir un rôle dans le processus anti-tumoral. On retrouve aussi les facteurs de croissance, qui peuvent soit agir au niveau hématopoïétique, c'est le cas de l'EPO (érythropoïétine), soit agir sur d'autres tissus, comme l'EGF (Epidermal Growth Factor). Enfin, les chimiokines sont produites directement sur le lieu de l'inflammation, notamment par les leucocytes sous l'influence de cytokines précédemment citées. Elles interviennent dans la migration cellulaire et sont classées dans deux catégories en fonction de leur activité biologique : les chimiokines maintenant l'homéostasie et les chimiokines induisant l'inflammation. Au cours des infections, les chimiokines sécrétées permettent la mise en place de la réponse immunitaire issue des systèmes inné et adaptatif (38, 39).

Les cytokines peuvent se fixer à différents récepteurs qui se présentent sous différentes formes et notamment sous une forme soluble où le récepteur est libéré de la surface de la cellule. Les récepteurs solubles permettent la régulation des effets des cytokines, puisqu'ils réalisent une sorte de leurre, ce qui peut donc parfois neutraliser certains effets, et donc être recherché en thérapeutique. Les cytokines peuvent aussi agir sur des protéines de liaison ou sur des peptides. La liaison des cytokines ou des chimiokines à leurs récepteurs entraîne leur activation, qui se caractérise par une cascade de messagers, ce qui va réguler les différentes fonctions cellulaires, comme la phagocytose, la sécrétion de cytokines, l'activation et la prolifération cellulaire, l'apoptose. De plus, ces protéines sont impliquées dans la régulation du système immunitaire au niveau du système nerveux central, puisqu'elles permettent le maintien de la surveillance immunitaire, la migration des leucocytes et le recrutement de facteurs inflammatoires.

En ce qui concerne la neuroborréliose, les cytokines et les chimiokines jouent un rôle important lors de la neuro-inflammation et de la neuro-dégénération, car leur rôle de messenger implique un équilibre entre la survie cellulaire, l'apoptose et la réponse inflammatoire. Elles sont donc des cibles thérapeutiques intéressantes lors de pathologies touchant le système immunitaire (39).

a) Les cytokines pro-inflammatoires

Les cytokines de l'inflammation regroupent l'IL-1, le TNF, l'IL-12, l'INF γ et l'IL-6.

L'IL-1 existe sous deux formes, l'IL-1 α est la forme présente dans les cellules et l'IL-1 β est la forme sécrétée. Cette interleukine active de nombreux acteurs du système immunitaire, tels que les lymphocytes T, les lymphocytes B, les cellules NK, les macrophages. Elle favorise la production des protéines de la phase aiguë de l'inflammation et diminue la synthèse de l'albumine. Elle possède aussi un effet pyrogène et augmente l'hématopoïèse (42).

Le TNF existe lui aussi sous deux formes, le TNF α est produit par les monocytes et les macrophages activés et le TNF β est produit par les lymphocytes T activés. Le TNF possède des propriétés pléiotropiques, détruit les cellules tumorales ou les cellules infectées, produit des substances pyrogènes, permet l'expression de molécules d'adhérence et stimule la lipolyse. De plus, le TNF α stimule la production de l'IL-1 et de l'IL-6 (43).

L'IL-6 est sécrétée par les macrophages et les lymphocytes T et est active lors de la synergie avec l'IL-1. Elle induit la production des protéines de la phase aiguë de l'inflammation et entraîne la synthèse de substances pyrogènes. Enfin, elle intervient dans la maturation des lymphocytes T et dans la sécrétion des immunoglobulines (44).

En ce qui concerne l'interféron, il en existe trois types : α , β et γ . L'IFN α est produit par les cellules hématopoïétiques et possède une activité antivirale et antitumorale. De plus, il stimule l'action exercée par les macrophages par le biais de la sécrétion de l'IL-1 et stimule les cellules NK (45). L'IFN β permet la maturation des cellules NK. Les cellules le produisent, notamment sous l'influence d'IL-1, d'IL-2 et de TNF α . Il bloque aussi les lymphocytes Th2 et stimule les lymphocytes T CD8 et les cellules NK. L'IFN γ est produit par les lymphocytes T, par les cellules NK, par les monocytes et par les macrophages. Il agit par synergie avec l'IL-12 pour favoriser la voie Th1, en inhibant la production d'IL-4. Il diminue aussi la production des immunoglobulines E et de l'IL-10. Lorsque les cellules NK rencontrent un étranger du système immunitaire, elles sécrètent de l'IFN γ qui va ensuite agir sur les macrophages pour permettre leur activation.

b) Les facteurs de croissance

Parmi les facteurs de croissance, on retrouve l'EPO (érythropoïétine) qui tient un rôle primordial dans l'hématopoïèse, le GCSF (Granulocyte Colony Stimulating Factor) qui intervient sur la lignée des granulocytes, le GM-CSF (Granulocyte Monocyte Colony Stimulating Factor) qui intervient sur les lignées des granulocytes et des monocytes. De plus, le TGF α (Transforming Growth Factor α) stimule la prolifération cellulaire et le TGF β intervient dans la suppression des réactions immunitaires au niveau local, il neutralise la production de cytokines par les cellules immunocompétentes et inhibe les lymphocytes T et les cellules NK. Le TGF β est aussi impliqué dans l'inhibition des réponses immunitaires médiées par l'IL-12, ce qui limite donc le développement des lymphocytes Th1 (46-49).

c) Les chimiokines

Les chimiokines sont des polypeptides de bas poids moléculaire qui interviennent dans la régulation de la migration et de l'activation des cellules immunocompétentes. Elles sont sécrétées par les macrophages et les fibroblastes sur les lieux de l'inflammation, sous l'influence de l'IFN γ , du TNF α et de l'IL-1. Par exemple, les chimiokines permettent le recrutement de l'IP-10 (la protéine 10), qui est activée par l'IFN et possède un pouvoir chimiotactique sur les monocytes et sur les lymphocytes T.

Tableau 3 : Les cytokines et les chimiokines pro-inflammatoires

Méiateur	Origine	Fonctions
TNF	Macrophages, mastocytes	Augmentation de la perméabilité vasculaire, adhérence des cellules endothéliales, activation des phagocytes, cytotoxicité des NK
IL-1	Macrophages, mastocytes	Adhérence des cellules endothéliales, production de chimiokines
Il-6	Macrophages, mastocytes	Stimulation du recrutement de monocytes, effets systémiques
Il-12	Macrophages	Production de l'IFN γ par les NK, augmentation de la cytotoxicité des NK
IFN γ	NK	Phagocytose et activité microbicide des phagocytes
Chimiokines	Macrophages, mastocytes, cellules endothéliales	Attraction des neutrophiles, monocytes et cellules T effectrices

d) Les cytokines secrétées par les lymphocytes T

Les lymphocytes T CD4 sont incapables de fabriquer simultanément toutes les cytokines nécessaires lors de la réponse immunitaire. Il existe alors deux sous-populations spécialisées dans la sécrétion de cytokines parmi ces lymphocytes T CD4 : les Th1 et les Th2.

Les interleukines issues des Th1 sont l'IL-2, l'IL-15 et l'IL-12. L'IL-2 appartient à l'immunité spécifique et possède une action exclusivement lymphocytaire et une sécrétion autocrine. Les récepteurs à l'IL-2 sont constitués de trois sous-unités (α , β et γ) et lorsque les cellules sont au repos, il s'agit exclusivement d'un récepteur α qui est de faible affinité. Quand les trois sous-unités sont réunies, le récepteur devient de haute affinité. La sous-unité γ est partagée par plusieurs cytokines lymphocytaires (IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-15), donc si cette sous-unité est déficiente, un déficit immunitaire peut se produire. L'IL-2 est un facteur de croissance et de différenciation des cellules NK, des polynucléaires neutrophiles, des lymphocytes T CD4 et des monocytes (40). L'IL-15 est proche de l'IL-2, puisque son récepteur possède les mêmes sous-unités β et γ que le récepteur de l'IL-2. Cette interleukine favorise la prolifération des lymphocytes T et stimule la cytotoxicité des cellules NK. Enfin, l'IL-12 est produite par les macrophages et agit de façon synergique avec l'IL-2 dans la cytotoxicité des cellules NK et dans la différenciation des lymphocytes T cytotoxiques. De plus, elle joue un rôle important dans la différenciation des lymphocytes T de type Th1 et dans l'inhibition des Th2, elle inhibe aussi la différenciation des cellules qui produisent l'IL-1. Elle stimule la production d'IFN γ , de TNF, de CSF, d'IL-10, d'IL-8, d'IL-3 et d'IL-2.

Les interleukines issues des lymphocytes Th2 sont l'IL-4, l'IL-13 et l'IL-10. L'IL-4 est produite par les polynucléaires basophiles, les mastocytes et les lymphocytes Th2. Elle joue un rôle primordial dans la commutation des immunoglobulines vers l'isotype IgE et elle possède un effet anti-inflammatoire, puisqu'elle inhibe les cytokines de l'inflammation (IL-1, TNF et IL-6). L'IL-13 a la même activité que l'IL-4. Enfin, l'IL-10 inhibe la production de l'IFN γ (41).

2) Les acides nucléiques spécifiques (SNA)

Les acides nucléiques spécifiques sont des petites portions simple-brin d'un génome qui sont portées sur des oligonucléotides de synthèse. Ils ont pour but de cibler uniquement un seul gène d'intérêt et donc de diminuer l'expression de celui-ci dans un processus physiopathologique. L'information extraite du gène en question peut à la fois provenir d'un acide désoxyribonucléique (ADN) ou d'un acide ribonucléique (ARN), et à la fois en lecture sens ou anti-sens. De plus, la séquence choisie ne doit pas présenter d'interférences avec une autre expression génique humaine. L'acide nucléique choisi est ensuite préparé selon la méthode de dilution-succussion et le choix de la hauteur de dilution va dépendre de l'action souhaitée (stimulation ou freinage de la transcription du génome). Les SNA ont donc pour rôle de soutenir l'action des cytokines qui, elles, vont soutenir le système immunitaire.

Les SNA peuvent soit cibler le génome du non-soi, c'est-à-dire un micro-organisme infectieux et donc modifier la répllication de l'agent pathologique, soit cibler le génome du soi et dans ce cas-ci cibler un gène impliqué ou non dans le système immunitaire. Pour chaque médicament utilisé en micro-immunothérapie, les SNA contenus dans les formules sont ciblés en fonction de la pathologie concernée par le traitement. Ils interfèrent avec l'ARN polymérase de type II et donc agissent sur le processus d'élongation de la chaîne d'ARN messenger. Le promoteur du gène d'intérêt est donc exclu dans la structure des SNA. Les SNA entraînent donc une diminution de l'activité de l'ARN polymérase de type II et donc par la même occasion une diminution de l'ARN messenger du gène en question, ce qui aboutit à une diminution de la protéine correspondante. En 2002, le mode d'action et la composition des SNA ont fait l'objet d'un dépôt de brevet international par le laboratoire Labo'Life qui les commercialise (38).

III. Historique

C'est dans les années 1960 qu'est née la micro-immunothérapie et le fondateur fut le Docteur Maurice Jenaer (Figure 32). Ce médecin belge, né en 1926, s'est intéressé à l'homéopathie une fois diplômé et l'a utilisé chez certains de ses patients avec succès, notamment pour la prise en charge du rhume des foins. En 1967, il a tenté de préparer des ARN et des ADN selon la méthode de la dynamisation ou de la dilution-succussion, déjà

utilisée en homéopathie, pour permettre leur résorption par voie perlinguale et les utiliser chez des patients cancéreux. Il a pu prouver leur résorption et donc leur possible action de par l'apparition d'effets secondaires, comme la survenue de crise d'épilepsie chez les personnes ayant ce type d'antécédents. Dans les années 1970 et 1980, la connaissance de l'immunologie a bien progressé, notamment par la découverte des cytokines et des facteurs de croissance. Le Docteur Maurice Jenaer a donc testé la méthode de préparation par dilution-succussion sur les cytokines découvertes et a de nouveau confirmé ses premières conclusions sur cette méthode de préparation, notamment la possibilité de résorption par voie perlinguale. C'est à partir de là que la micro-immunothérapie est née et que diverses applications ont vu le jour. Le Docteur Maurice Jenaer définit la micro-immunothérapie comme une thérapeutique physiologique qui agit sur le système immunitaire avec ses constituants aux doses physiologiques et dans leur ordre d'intervention.



Figure 32 : Docteur Maurice Jenaer

Suite à cette découverte, l'institut 3IDI a été créé : Institut International d'Immunothérapie à Doses Infinitésimales (Figure 33). Il s'agit d'une association à but non lucratif, présidée par le Docteur Maurice Jenaer, qui rassemble des professionnels de santé européens s'intéressant à cette nouvelle thérapeutique dans le but d'échanger, de se former et de faire évoluer la micro-immunothérapie. L'institut est présent dans plusieurs pays européens, notamment en Autriche, en Allemagne, en Suisse, en Espagne et en France où il est basé à Pouzauges (85700) en Vendée.



Figure 33 : Logo de l'institut 3IDI

Parmi toutes les définitions de la micro-immunothérapie, on retrouve celle du Docteur Michel Van Wassenhoven qui en explique le principe : « La micro-immunothérapie consiste en l'utilisation à doses homéopathiques de molécules endogènes spécifiques en relation avec le système immunitaire. Elle utilise dans ses préparations des substances immunocompétentes de synthèse en hautes dilutions. Elle systématise l'utilisation de molécules endogènes pour des individus sensibles. Elle est donc une application des concepts scientifiques de l'homéopathie. » (38, 50).

IV. Les médicaments

Les médicaments de la micro-immunothérapie consistent en des globules imprégnés. Selon la Pharmacopée Française, un globule est une préparation de consistance solide obtenue à partir de saccharose, lactose ou tout autre excipient approprié. Il peut être préparé par imprégnation de globule préformé. Il est destiné à la voie orale ou sublinguale. Le principe actif du médicament est appelé souche, dans le cas de la micro-immunothérapie, les souches sont des cytokines, des facteurs de croissance ou tout autre élément du système immunitaire. Ces médicaments sont préparés selon les normes européennes et selon la méthode de dilution-succussion qui est la même que celle utilisée en homéopathie et qui est reconnue par la Pharmacopée Européenne. Cette méthode de préparation consiste à réaliser des dilutions successives au centième le plus souvent, c'est-à-dire que pour obtenir la première centésimale hahnemannienne (1CH), il faut mélanger une partie de la matière première dans quatre-vingt-dix-neuf parties de solvant, agiter vigoureusement, et ce jusqu'à l'obtention de la dilution souhaitée (Figure 34). Le fait d'agiter permet la dynamisation des principes actifs, c'est-à-dire l'augmentation de la puissance curative.

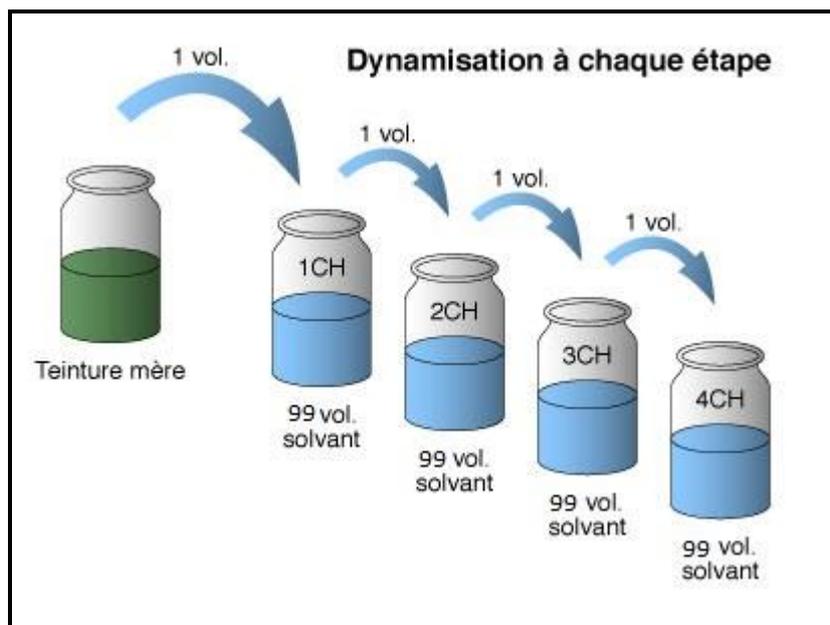


Figure 34 : Principe de la dilution-succussion

En micro-immunothérapie, toutes les souches utilisées ont un degré de dilution supérieur ou égal à 3CH, c'est pourquoi cette thérapeutique est aussi appelée immunothérapie à doses infinitésimales. Cela permet de garantir une totale innocuité et donc ces médicaments sont dépourvus d'effets indésirables, de contre-indications et d'interactions médicamenteuses. Les globules sont conditionnés par dose en gélules (environ deux cents globules) qui doivent être ouvertes avant l'administration, puisque seuls les globules doivent être absorbés. Avec cette thérapeutique, tous les médicaments sont administrés par voie sublinguale à jeun, puisque cela permet au principe actif de se retrouver directement dans le réseau lymphatique. Enfin, ces médicaments sont conditionnés par boîte de trente gélules, qui sont présentées dans trois blisters de dix gélules en dégradé de couleur, où chaque gélule est numérotée de 1 à 10 pour permettre l'administration de façon séquentielle (38) (Figure 35).



Figure 35 : Gélules de micro-immunothérapie

Les médicaments de micro-immunothérapie ne sont pas encore commercialisés dans les officines françaises puisqu'ils contiennent des souches homéopathiques non « classiques », c'est-à-dire qu'elles ne sont pas d'origine végétale, animale ou minérale. C'est pourquoi, en France, il est nécessaire de recourir à l'importation, le patient peut donc importer ces médicaments directement depuis une pharmacie belge, espagnole ou italienne (dans ces pays ces médicaments sont notifiés auprès des agences du médicament) ou en passant commande auprès d'une pharmacie française (51). Cela est autorisé comme le montre le communiqué de presse n°46/05 du 26 mai 2005 intitulé « Arrêt de la Cour dans l'affaire C-212/03 » (Annexe 1).

Ces médicaments sont fabriqués par le laboratoire pharmaceutique Labo'Life (Figure 36). C'est en 1989 que son fondateur, Christian Foissey, entendit parler de la micro-immunothérapie et c'est en 1992 qu'il crée ce laboratoire de fabrication en Espagne, du fait de conditions réglementaires favorables. Depuis le laboratoire Labo'Life s'est ouvert à l'international, puisqu'il s'est implanté en Italie en 1996 avec une unité de distribution, ainsi qu'en Belgique en 2000 avec une unité de distribution, puis en 2005 avec l'ouverture d'un nouveau site de fabrication en Belgique. Les médicaments de micro-immunothérapie sont bien sûr fabriqués selon les normes de fabrication internationales et sont enregistrés en tant que médicaments homéopathiques auprès des instances pharmaceutiques de ces pays. Les souches utilisées sont produites à raison de 95 % par biotechnologie selon la technique de l'ADN recombinant, certaines souches possèdent même une monographie dans la Pharmacopée Européenne (52).



Figure 36 : Logo du laboratoire pharmaceutique Labo'Life

V. Le principe

La micro-immunothérapie ne doit pas se substituer aux thérapies conventionnelles, puisque dans certaines pathologies, et notamment en oncologie, elles doivent rester en première intention. La micro-immunothérapie agit par synergie et en complément des autres thérapeutiques dites classiques.

Le principe de la micro-immunothérapie repose sur l'administration, à une posologie de même ordre de grandeur que les concentrations physiologiques, d'effecteurs immunocompétents présents naturellement dans le système immunitaire. L'administration se fait de façon séquentielle, c'est-à-dire qu'elle suit la succession des réactions immunitaires. Lors de la reconnaissance d'un antigène par le système immunitaire, celui-ci va mettre en place l'immunité innée. Lorsque l'antigène persiste dans l'organisme, l'immunité acquise est mise en place avec le recrutement de nouvelles cellules immunocompétentes pour aboutir à l'éradication de l'antigène. Le principe de la micro-immunothérapie est d'apporter de façon séquentielle les différents effecteurs immunitaires lors de la mise en place de l'immunité innée et acquise. Chaque gélule contient les cytokines dans des proportions définies, ce qui permet de répartir la prise des cytokines dans le temps et donc de copier les réactions en chaîne du système immunitaire.

La micro-immunothérapie utilise le principe de l'infinitésimalité, ce qui permet l'administration de micro-doses et donc de se rapprocher au plus près des concentrations physiologiques des substances immunocompétentes. En effet, la concentration des cytokines dans notre organisme est de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-14} (53). Selon ce principe d'infinitésimalité, la micro-immunothérapie ne présente pas de contre-indications particulières.

La voie d'administration des gélules est la voie perlinguale afin de permettre une absorption directe. Une fois que les constituants de la micro-immunothérapie ont été résorbés, ils sont mis au contact des cellules immunocompétentes les plus proches de la région bucco-pharyngée. Le relais avec les lymphoïdes permet la diffusion des effets au reste de l'organisme.

Le choix de la dilution en thérapie repose sur la loi d'Arndt-Schultz, selon laquelle les hautes dilutions (9-15CH en général) freinent les effets de la souche en question, les moyennes dilutions (7CH) les modulent et les basses dilutions (4-5CH) les stimulent, il s'agit de la modulation des dilutions (54). En effet, la micro-immunothérapie va agir sur le système immunitaire de différentes façons, par exemple, sur la modulation de la réponse Th1/Th2 ou par stimulation ou ralentissement de la production de molécules cytotoxiques ou sur la modulation de la production de cytokines, tout cela dépendra des pathologies en cause. Cette thérapie va agir à la fois sur les symptômes, mais aussi sur les causes des pathologies. Elle est donc utilisée en prévention ainsi qu'en traitement symptomatique (38, 55).

VI. Mise en place de la micro-immunothérapie

Certaines formules de micro-immunothérapie peuvent être utilisées sans analyse biologique, mais pour d'autres, certains examens complémentaires, en plus de l'examen clinique initial complet du patient, doivent être réalisés avant leur prescription. Cela permet l'ajustement du traitement le plus précisément possible au patient en question et donc d'aboutir à un traitement personnalisé.

Tout d'abord, un bilan sanguin est effectué et notamment un typage lymphocytaire qui va analyser les principaux lymphocytes présents chez le patient. Cela va permettre de rendre compte de l'état du système immunitaire du patient et notamment concernant l'immunité cellulaire. Le profil protéique servira quant à lui à statuer sur l'état de l'immunité humorale. Le système immunitaire du patient sera alors défini comme adapté ou non-adapté (56). Dans le typage lymphocytaire, cinq critères sont retenus pour l'interprétation. Il s'agit des lymphocytes T CD4, T CD8, du rapport lymphocytes T8C / lymphocytes T8S (lymphocytes T CD8 cytotoxiques et suppresseurs), du rapport lymphocytes T4H / lymphocytes T4N (lymphocytes T CD4 helper vrais et normaux) et du Rs IL2 (récepteur soluble de l'IL-2). Les

résultats du typage lymphocytaire sont exprimés en référence à une population saine sous la forme de percentiles qui sont ensuite présentés sous la forme d'un histogramme (Figure 37).

L'histogramme du patient est comparé aux valeurs moyennes et on peut ainsi définir l'état de sa réponse immunitaire. Un traitement de soutien court est mis en place lorsqu'au moins un critère (population immunitaire) est dans la moyenne, et qu'aucun n'est en dessous de la zone des percentiles. La durée de ce type de traitement est en général de quatre à six mois. La réponse immunitaire est considérée comme adaptée. Un traitement de soutien de longue durée est mis en place lorsque les cinq critères sont au-dessus de la zone des percentiles. La durée de ce traitement est en général de neuf à douze mois. La réponse immunitaire étant non adaptée, l'objectif du traitement est de modérer le système immunitaire pendant trois mois, puis d'entretenir la réponse immunitaire pendant six à neuf mois. Cette interprétation est tirée de fiches explicatives fournies par l'institut 3IDI.

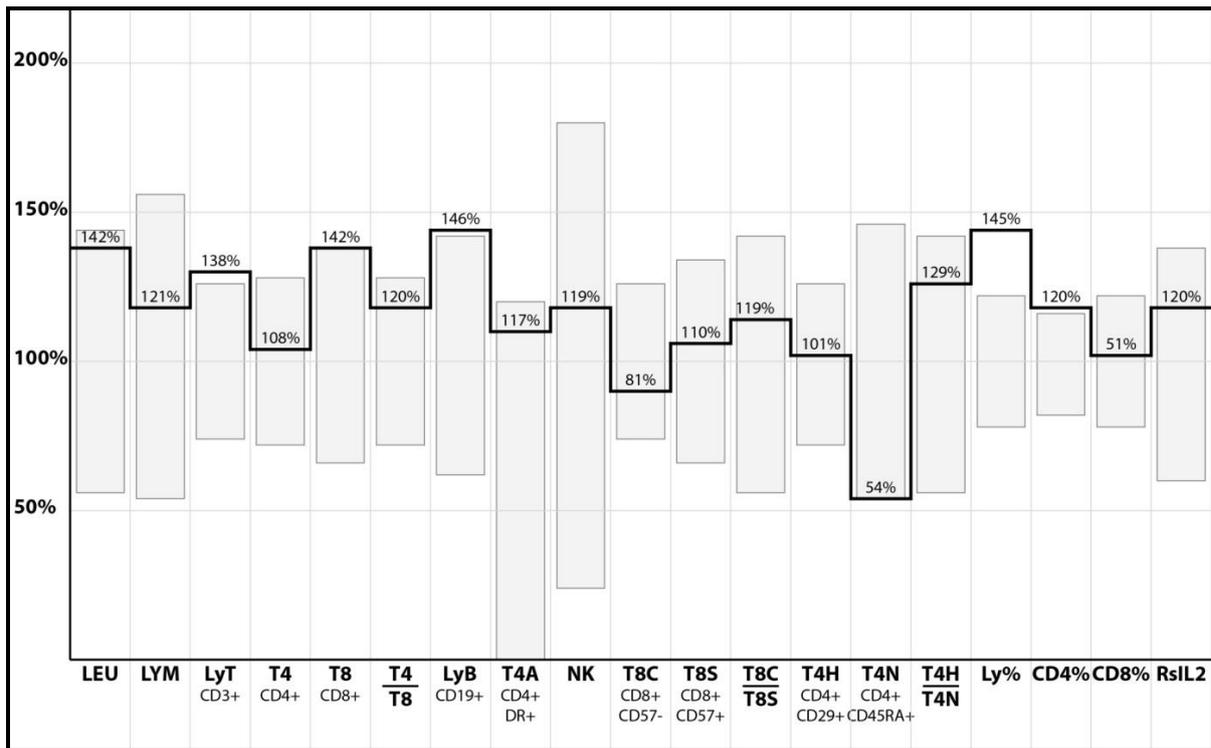


Figure 37 : Exemple d'un typage lymphocytaire

Dans les examens complémentaires à effectuer, il faudra aussi réaliser des sérologies, et dans certains cas, doser les anticorps spécifiques de l'agent pathogène en cause, ce qui permettra d'adapter le traitement en fonction de l'action souhaitée sur le système immunitaire (soutien ou modulation), ainsi la formule utilisée et la posologie ne seront pas les mêmes.

De plus, le statut protéique du patient pourra être évalué, à la fois de façon qualitative avec l'électrophorèse des protéines (Figure 38) et de façon quantitative avec le profil protéique. Ces tests permettront d'apprécier l'état inflammatoire et nutritionnel du patient. Le profil protéique peut mettre en évidence un syndrome inflammatoire avéré, des variations dans les immunoglobulines, une réaction du complément, une augmentation de la transferrine ou encore une diminution de l'albumine.

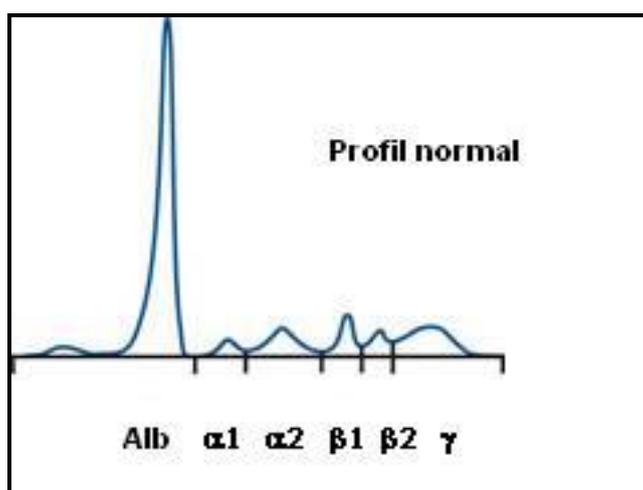


Figure 38 : Exemple d'une électrophorèse de protéines

Enfin, le groupage HLA de classe I et II peut être demandé, ce qui permet de mettre en évidence une possible prédisposition à une pathologie faisant intervenir le système immunitaire, notamment dans les maladies auto-immunes.

VII. Applications

1) Les maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes s'expliquent par la présence de lymphocytes auto-réactifs, qui sont capables d'attaquer des antigènes du soi. Le risque de maladies auto-immunes est plus élevé chez les patients qui détiennent dans leur patrimoine génétique un ou plusieurs allèles HLA prédisposants. De plus, les infections sont capables d'activer les lymphocytes auto-réactifs, ce qui peut déclencher ces maladies. Les maladies auto-immunes proviennent de mécanismes qui peuvent s'apparenter aux hypersensibilités de type II (production

d'immunoglobuline G par les lymphocytes B et destruction des cellules infectées, par des petites molécules fixées à leur surface, grâce à l'activation du complément et de la phagocytose), de type III (formation de complexes immuns solubles qui se déposent dans les vaisseaux sanguins ou dans les alvéoles pulmonaires, activation du complément et mise en place d'une réaction inflammatoire) et de type IV (réaction provoquée par les cellules T effectrices, dont les Th1 CD4). L'utilisation de la micro-immunothérapie dans la prise en charge des maladies auto-immunes a pour objectif de modérer la réponse immunitaire et de ralentir le processus évolutif de ces pathologies. Les pathologies concernées sont la maladie de Parkinson, le syndrome des jambes sans repos, l'hyperactivité chez l'enfant, la polyarthrite rhumatoïde, le psoriasis, la sclérose en plaques... L'utilisation des différentes formules va se faire principalement en traitement de fond à raison d'une gélule par jour pour aboutir à l'amélioration de la qualité de vie des patients concernés en plus des thérapeutiques dites classiques. Par exemple, dans la prise en charge de la polyarthrite rhumatoïde, le médicament de micro-immunothérapie comporte le SNA® HLA-DR, qui est utilisé pour minimiser la fragilisation des patients, puisqu'il a été montré que l'épitope HLA DR B1 est un facteur prédisposant pour cette pathologie.

2) Les infections

La micro-immunothérapie est notamment utilisée dans les réactivations infectieuses, comme lors d'infections par des virus issus du groupe Herpès (CMV, EBV, VZV), le papillomavirus et le VIH. La micro-immunothérapie apporte dans ces situations les cytokines concernées dans ce type d'infections, mais aussi les SNA en fonction des critères génomiques du virus en cause. Le principe de la micro-immunothérapie dans ces infections est de suivre le système immunitaire en le guidant dans sa réponse naturelle. Les infections bactériennes concernées sont celles à *Chlamydiae trachomatis* et à *Pneumoniae sp.*

Par exemple, dans les infections récurrentes à Herpès de type 1 ou de type 2, lors de la phase aiguë, le traitement consiste à utiliser la formule nommée HERP à raison de deux à trois gélules par jour jusqu'à disparition des symptômes. Un traitement de fond peut être mis en place avec la prise d'une gélule par jour pendant six mois.

3) L'oncologie

Dans la prise en charge des cancers, la micro-immunothérapie est utilisée en accompagnement des traitements conventionnels, dans le but de diminuer les effets secondaires et surtout d'améliorer la qualité de vie des patients. Chaque formule sera utilisée en fonction de la néoplasie en question, comme les tumeurs solides, les tumeurs neurologiques malignes, les hémopathies malignes, les leucémies, les lymphomes. En effet, les SNA contenus dans les médicaments utilisés peuvent être axés sur des HLA prédisposant aux cancers et/ou d'autres SNA peuvent être utilisés, comme des SNA de facteurs viraux perturbants. En cure, la posologie sera d'une gélule par jour, tandis que dans les cas de rechutes ou pendant les traitements lourds, la posologie sera augmentée à une à trois gélules par jour pendant un à trois mois en fonction de la clinique.

4) Les pathologies affectant les personnes âgées

Certaines affections surviennent principalement chez les personnes âgées, ce qui s'explique par la survenue du vieillissement cellulaire. C'est le cas de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), de la maladie d'Alzheimer, de l'ostéoporose et des crises inflammatoires articulaires.

5) Autres applications

La micro-immunothérapie peut aussi être utilisée au quotidien pour d'autres types d'affections, notamment dans les allergies (rhinites, asthme, eczéma), lors de dépressions légères à modérées, dans les pathologies inflammatoires (maladie de Crohn, cystites), les déficits de la mémoire, le stress (examens), les cas d'immunodéficience et dans les infections hivernales.

Chapitre III : Place de la micro-immunothérapie dans le traitement de la maladie de Lyme

I. La réaction du système immunitaire face à la maladie de Lyme

1) La réaction face à la piqûre de tique

C'est par le biais de sa salive que la tique va générer une réaction du système immunitaire de l'hôte chez lequel elle effectue son repas sanguin.

La salive des tiques possède une activité vasodilatatrice (Figure 39) par le biais de la prostaglandine E2 (PGE2), ce qui permet d'augmenter l'apport de sang pour leur repas (57). La PGE2 induit une vasodilatation en se fixant sur son récepteur EP2 situé sur les cellules musculaires lisses des vaisseaux. Elle augmente aussi la perméabilité capillaire en stimulant les mastocytes grâce à l'IRS-2 (*Ixodes Ricinus* Serpin-2) pour la sécrétion notamment de l'histamine. De plus, elle inhibe l'agrégation plaquettaire par l'intermédiaire d'apyrases qui inhibent l'ADP (activateur plaquettaire) et de l'IRS-2 qui inhibe la thrombine, la PGE2 augmente donc le débit sanguin (58, 59). Lors de la piqûre, il se produit un contrôle du flux sanguin qui se fait par l'intermédiaire de l'histamine. L'Histamine Binding Protein (HBP) contrôle la fixation de l'histamine et ainsi l'arrivée des cellules du système immunitaire. La salive des tiques contient le tHRF (tick Histamine Release Factor) qui est un analogue structural de l'histamine, il permet donc la vasodilatation des vaisseaux en stimulant la sécrétion d'histamine (60). L'activité anticoagulante de la salive des tiques est également décrite. En effet, par l'intermédiaire de la PGE2, d'IRIS et de Salp14, la salive des tiques inhibe les facteurs de la cascade de la coagulation, tels que les facteurs VII activé et X activé (61, 62). Les composants de la salive des tiques sont capables d'inhiber la thrombine, ce qui empêche la fibrinolyse et donc la phase de cicatrisation.



Figure 39 : Vasodilatation lors d'une piqûre de tique

La salive de tiques présente également une activité immuno-modulatrice qui touche à la fois le système immunitaire inné et le système immunitaire adaptatif. Au niveau du système immunitaire inné, les tiques contrôlent, grâce aux différents composants de leur salive, l'action des polynucléaires neutrophiles. Leur salive contient donc des facteurs anti-complément, tels que Isac (*Ixodes scapularis* salivary anticomplement protein), Salp 20 (Salivary protein 20) et Irac-1/2 (*Ixodes ricinus* salivary anticomplement protein 1/2). Elle contient aussi des facteurs anti-chémokines, tels que des evasines, lipocalines, serpinines, ce qui va donc entraîner une diminution du recrutement des polynucléaires neutrophiles, des monocytes et des cellules dendritiques (63-69). Il y aurait aussi une inhibition de la prolifération des lymphocytes B, et donc une diminution de la production d'anticorps et cela grâce au composant BIP (protéine inhibitrice des lymphocytes B) (70). Face à la piqûre de tique, il y a donc une diminution de la réponse innée du système immunitaire. De plus, les protéines salivaires vont se fixer au TGF β 1, au PDGF, au FGF (Fibroblaste Growth Factor), ce qui inhibe donc la migration des fibroblastes (71, 72). Ces protéines bloquent aussi la voie ERK (Extracellular signal Regulated Kinase), empêchant la mise en place de la cicatrisation. Le repas sanguin peut ainsi se poursuivre (73). Au niveau de l'immunité adaptative, la piqûre de tique entraîne une inhibition de la voie Th1 qui est la voie des lymphocytes T CD4 auxiliaires. Cette inhibition se traduit par une inhibition des cytokines impliquées, une diminution de la différenciation des lymphocytes B, une diminution de l'activation des macrophages et des cellules NK. Les cytokines de la voie Th2 sont augmentées avec pour but d'activer la maturation de lymphocytes B grâce à l'IL-4 et à l'IL-13 pour la commutation

en plasmocytes (74, 75). La protéine Salp 15 (Salivary protein 15) contenue dans la salive des tiques joue un rôle important dans la modulation de l'immunité. Différentes activités immuno-modulatrices ont été décrites : (a) inhibition de l'expression du gène de l'Interleukine 2 (76), (b) protection des bactéries vis-à-vis du complément, (c) inhibition du complexe d'attaque membranaire (77), (d) diminution de l'activation des lymphocytes T CD4 par interaction avec le corécepteur CD4 (78), (e) inhibition de la production de l'IL-6 et du TNF α en interagissant avec les cellules dendritiques (79). Après fixation à la lipoprotéine OspC (Outer surface protein C) de la bactérie, la protéine Salp 15 empêche la fixation des anticorps sur leur cible et donc une nouvelle infestation est possible (80).

La salive des tiques, par le biais de ses composants, inhibe à la fois la phase vasculaire, la cicatrisation et le recrutement des cellules immunitaires innées et adaptatives.

La transmission de *Borrelia sp.* par la tique dépend aussi de la température du sang de l'hôte. En effet, une température comprise entre 23 et 35°C favorise, dans l'intestin de la tique, la réplication de la bactérie, ainsi que sa migration dans les glandes salivaires de la tique (81). La régurgitation effectuée par la tique entraîne ensuite la dissémination de la bactérie chez l'hôte. On considère que la transmission de *Borrelia sp.* est plus fréquente au cours des vingt-quatre à trente-six heures de repas sanguin (82).

La modulation du système immunitaire lors de la piqûre de tique est synthétisée par la Figure 40.

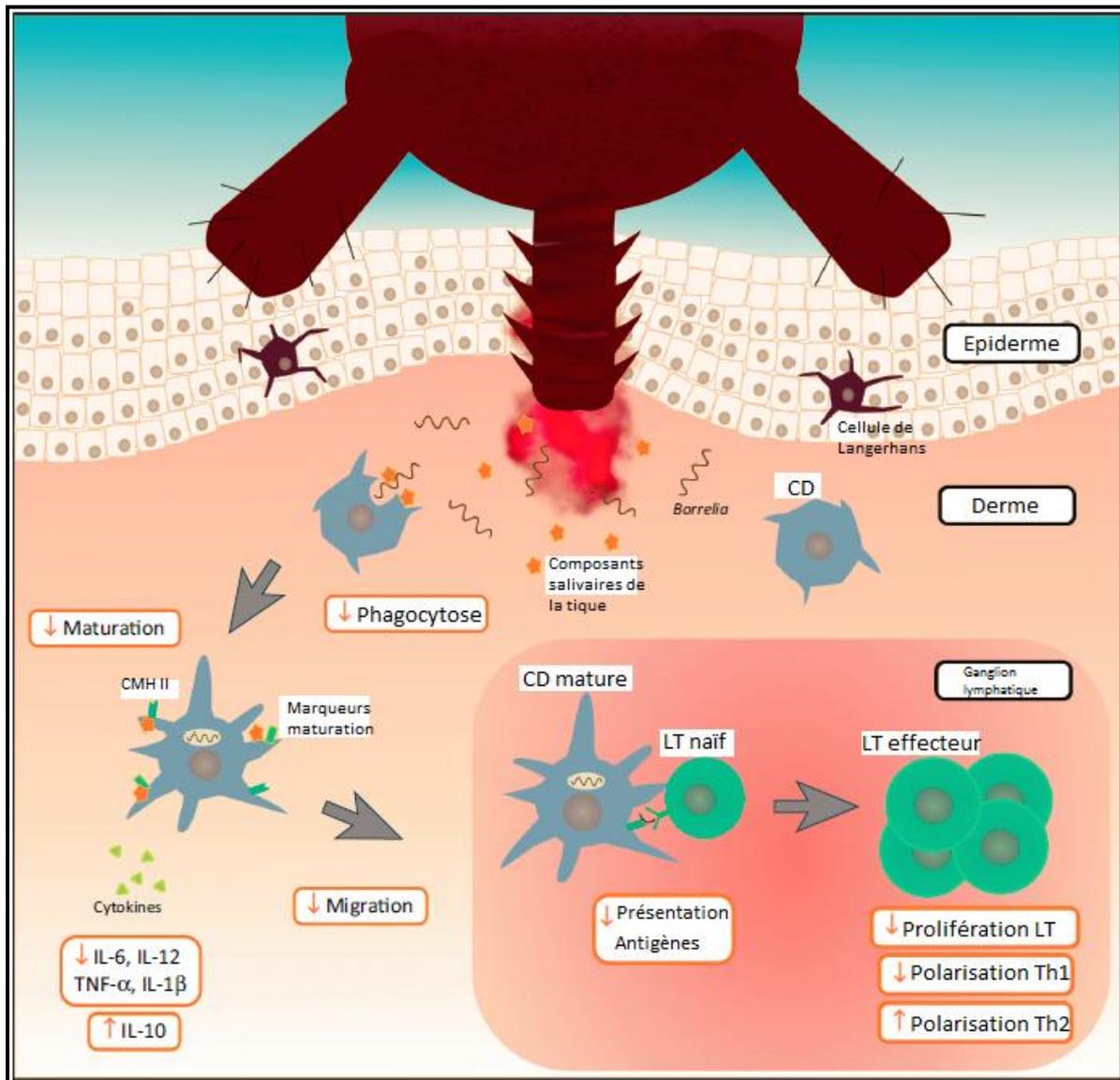


Figure 40 : Modulation du système immunitaire lors de la piqûre de tique

2) La réaction immunitaire face à *Borrelia sp.*

Borrelia burgdorferi possède un génome relativement petit, puisque le chromosome linéaire comporte aux alentours de neuf cents gènes qui codent les protéines impliquées dans la réplication, la transcription, la translation, le métabolisme énergétique et le transport transmembranaire. Cependant, aucun gène n'est retrouvé pour la synthèse des acides aminés, des acides gras, des cofacteurs enzymatiques et des nucléotides. Cela s'explique par la présence de plasmides qui comportent les gènes nécessaires et par l'utilisation des voies métaboliques de l'hôte, ce qui permet à *Borrelia sp.* d'échapper au système immunitaire (1). Lorsque *Borrelia sp.* est présente dans l'intestin de la tique, elle exprime à la surface externe

de sa membrane deux lipoprotéines majeures, OspA et OspB. Ces lipoprotéines jouent un rôle minoritaire dans l'infectivité de *Borrelia sp.* L'expression d'une protéine plus immunogène, OspC, débute lorsque la bactérie se trouve dans les glandes salivaires. Lorsque la tique termine son repas sanguin et qu'elle est gorgée de sang, *Borrelia sp.* diminue l'expression des lipoprotéines OspA et OspB au profit de OspC. La protéine OspA joue un rôle lors de la phase latente de l'infection car elle induit chez l'hôte une réponse pro-inflammatoire tardive (83). Des chercheurs ont mis en évidence la production d'anticorps anti-OspA chez des souris immunisées avec OspA. Cette découverte a permis le développement de vaccins, mais cela n'a pas abouti à leur commercialisation (84, 85, 86).

La protéine Salp15 présente dans les glandes salivaires de la tique joue un rôle important dans l'échappement de *Borrelia sp.* au système immunitaire (Figure 41). La lipoprotéine OspC de *Borrelia sp.* forme un complexe avec la protéine Salp15 chez la tique et lorsque la bactérie est transmise à un hôte, ce complexe protège la bactérie contre les anticorps pendant un certain temps, ce qui permet à *Borrelia sp.* de développer d'autres facteurs de virulence (80). Il a été montré que des protéines présentes dans la salive des tiques jouaient un rôle dans l'inhibition de la prolifération des lymphocytes T CD4 en se liant aux récepteurs CD4 (78, 87). Elles inhibent aussi les cellules NK, les cellules dendritiques, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles (79, 88, 89, 90). De plus, il a été montré chez la tique *Ixodes ricinus*, des protéines salivaires qui inhiberaient la stimulation des lymphocytes B par OspA et OspC. Cela explique donc en partie la faible réponse du système immunitaire de l'hôte face à l'infection par *Borrelia sp.* (70).

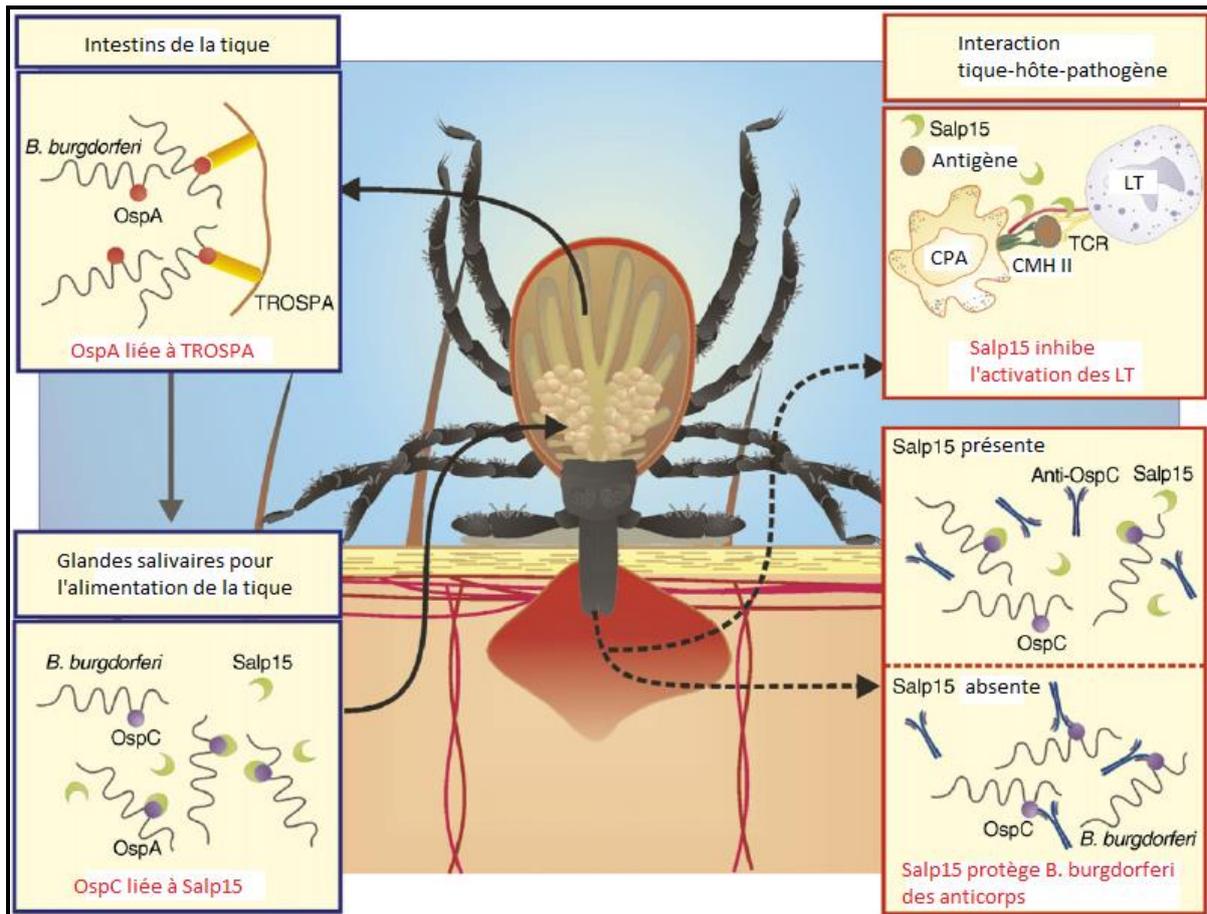


Figure 41 : Rôle de Salp15 dans l'échappement au système immunitaire

Des chercheurs ont mis en évidence que la protéine OspC fonctionne à la surface de la bactérie comme un récepteur au plasminogène, ce qui permet à *Borrelia sp.* lors de la fixation de l'OspC, d'assimiler l'action du plasminogène pour ses propres intérêts. Le plasminogène a pour rôle de digérer la fibrine et les grosses glycoprotéines, ce qui permet à la bactérie de mieux circuler dans la matrice extracellulaire et donc d'échapper plus aisément aux anticorps et aux cellules immunitaires qui circulent normalement dans le système vasculaire et lymphatique (91). *In vitro*, il a été montré que la protéine Salp15 joue également un rôle dans l'échappement au système immunitaire par l'intermédiaire de l'inhibition des éléments du système du complément (77). Cependant, d'autres chercheurs ont mis en évidence l'activation du complément dans le liquide cébrospinal des patients atteints de neuroborréliose. Dans un premier temps *Borrelia sp.* active le système du complément de l'hôte. La bactérie est capable ensuite de résister à l'action du complément, ce qui lui permet de se laisser du temps pour se développer dans des tissus où le système du complément n'a pas accès (92). Cela s'explique par le fait que des souches de *Borrelia sp.* sont capables de promouvoir le clivage du C3b par la présence, à leur surface, de facteurs de régulation du

système du complément, comme le facteur H qui empêche la destruction de la bactérie (93). Pour empêcher la formation du complexe d'attaque membranaire, *B. burgdorferi* se lie au facteur H grâce à des protéines CRASP-1 (Complement Regulator-Acquiring Surface Protein) situées sur sa membrane externe (94). Le facteur H est un inhibiteur de la convertase de la voie alterne du complément, cette liaison empêche donc l'activation du C3b du complément. De plus, il a été montré que le facteur H était en lien avec la protéine OspE dont la production dépend de l'expression de plasmides de la bactérie. Cette protéine intervient donc également dans l'échappement de *Borrelia sp.* (95). Chez certaines espèces d'*Ixodes*, des protéines Salp15 homologues réduiraient la synthèse de l'IL-10, qui joue normalement un rôle dans la maturation des cellules dendritiques, ce qui perturberait donc l'immunité adaptative face à la bactérie (96). La migration des macrophages dans l'immunité innée serait quant à elle inhibée par la protéine Tick-MIF (Macrophage Migration Inhibitory Factor) présente chez certaines espèces de tiques et notamment celles du genre *Dermacentor* (97).

Un mécanisme fréquemment rencontré dans l'échappement au système immunitaire est la variation antigénique, qui s'explique par une production d'épitopes de surface changeante au cours du temps, ce qui perturbe le système immunitaire (98). Avec *Borrelia sp.*, ce mécanisme prend forme par la production variable d'un locus qui exprime une lipoprotéine de surface, VlsE, ce qui modifie les antigènes de la bactérie (99). La variation antigénique est due à la présence d'une séquence modulable de l'ADN qui code pour des gènes intervenants dans des fonctions biochimiques. Par exemple, la séquence de l'ADN codant pour la VlsE est constituée de quinze séquences homologues qui vont coder pour différents acides aminés impliqués dans six régions variables de la lipoprotéine (100). Chaque séquence d'acides aminés peut varier, ce qui modifie la structure des antigènes et donc perturbe la réponse humorale du système immunitaire de l'hôte. Un facteur responsable de cette variation antigénique chez *Borrelia sp.* a été identifié, il s'agit de *ruvA*. Il a été montré chez des souris que des mutations de *ruvA* et *ruvB* étaient associées à une réduction de l'infectivité de *Borrelia sp.* et augmentaient l'élimination de la bactérie lors d'utilisations d'antibiotiques (101, 102).

Environ 6 % du chromosome linéaire de *B. burgdorferi* est consacré à la mobilité de la bactérie et à ses fonctions chémotactiques, ce qui est plus élevé que chez les autres bactéries en général (13). De plus, le génome de cette bactérie est aussi grandement consacré à la

production de lipoprotéines dont beaucoup ont des propriétés antigéniques (103). Concernant sa mobilité, *Borrelia sp.* se déplace à l'aide d'un flagelle dont la structure est similaire à celui des autres bactéries en possédant. Son mouvement est décrit comme une nage dans les liquides environnants, tels que le sang ou la lymphe et il donne l'impression que la bactérie se tortille dans la matrice extracellulaire et les autres tissus (104, 105). Cependant, cette bactérie est incapable de perforer les tissus, elle doit donc se lier à du plasminogène pour passer les cellules endothéliales. Une fois dans le sang, la bactérie profite du flux sanguin pour se déplacer (106).

Pour atteindre chez l'hôte certaines cellules ou certains tissus, *Borrelia sp.* se sert de différents chémorécepteurs (107, 108). Quand la bactérie a atteint son lieu de prédilection, elle utilise des adhésines pour se lier aux cibles des glycosaminoglycanes ou des fibronectines (109, 110, 111). Les adhésines mises en évidence sont les DbpA et DbpB (Decorin binding proteins) (112). Une étude a montré que l'utilisation d'anticorps contre DbpA avait permis de neutraliser l'inflammation due à *Borrelia sp.* au niveau des articulations et du tissu cardiaque, mais sans pour autant diminuer le nombre de bactéries (113). De plus, on constate que cette bactérie est préférentiellement attirée par les tissus de la matrice extracellulaire, puisqu'ils sont riches en éléments nutritifs et pauvres en cellules du système immunitaire.

Parfois, la maladie de Lyme peut toucher le système nerveux central et/ou périphérique, c'est ce que l'on appelle la neuroborréliose. Elle concerne environ 15 % des patients atteints par cette pathologie (114, 115, 116). Lorsque la neuroborréliose concerne le système nerveux central, les symptômes sont des céphalées importantes, un syndrome pseudo-grippal, une asthénie, des troubles de la mémoire et de l'attention, une dépression. Tandis que pour l'atteinte du système nerveux périphérique, il s'agit de paralysies faciales, des douleurs dorsales et des troubles de la motricité (39). Cliniquement, la neuroborréliose se manifeste telle une méningite qui est caractérisée par une méningo-radiculite, une infiltration méningée par les lymphocytes, une névrite crânienne, une encéphalopathie, une neuropathie périphérique (116). Il a été montré que les lésions neuronales étaient dues à des infiltrations vasculaires par des cellules inflammatoires, ce qui s'explique par l'adhésion de la bactérie au niveau de l'endothélium, ce qui attire donc les médiateurs de l'inflammation (117-122). Les cellules retrouvées sont principalement des lymphocytes T CD4 auxiliaires (123). De plus, chez les patients présentant une neuroborréliose, il a été retrouvé une augmentation des

concentrations des cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-6, l'IL-8, l'IL-12 et l'IL-18, de l'IFN γ , de chimiokines, telles que CCL2, CXCL-11 et CXCL13 (124-131). Chez les patients atteints de la maladie de Lyme dans son aspect neurologique et chronique, on constate une persistance après traitement de certains symptômes (douleur, asthénie, troubles cognitifs). Les concentrations élevées en IL-6 retrouvées dans ce contexte provoquent de la fatigue et des malaises, puisqu'en plus d'être pyrogène, l'IL-6 est promotrice de la différenciation des lymphocytes B et elle contribue à l'hypersensibilité des terminaisons nerveuses (39, 132). De plus, l'IL-8 est inductrice de l'expression de protéases pro-inflammatoires. La chimiokine CCL2 joue aussi un rôle important dans l'inflammation lors de pathologies neurodégénératives (133, 134). Enfin, *Borrelia sp.* est capable d'induire une production tardive de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10, ce qui a pour but de limiter des dommages causés par l'inflammation au cours des infections persistantes (135).

Aux Etats-Unis, lors d'une suspicion de maladie de Lyme, le dosage des NK CD57+ est demandé de façon quasi-systématique (136). Les NK CD57+ constituent une sous-population des cellules NK, leur expression permet de définir la fin de la maturation cellulaire des NK. Ce sont des cellules hautement cytotoxiques qui interviennent dans de nombreuses pathologies et dont leur taux varie en fonction de la pathologie en question (137). Une étude relate que chez des patients souffrant de la maladie de Lyme dans sa phase chronique le taux de NK CD57+ était abaissé, de même que ce taux revient à son état normal lors d'une réponse favorable au traitement médicamenteux. Ce dosage peut donc permettre de contrôler l'efficacité du traitement mis en place (138). De plus, il a été montré que le dosage des NK CD57+ pouvait intervenir dans le diagnostic de la maladie de Lyme, notamment dans les phases tardives ou chroniques. Physiologiquement, les NK CD57+ suivent l'évolution des NK CD56+, c'est pourquoi, il peut être utilisé dans le diagnostic de la maladie de Lyme, le rapport NK CD57 / NK CD56, dont les valeurs normales sont comprises entre 0.35 et 0.75. L'utilisation de ce rapport permet de s'affranchir des valeurs des leucocytes, lymphocytes, NK CD56 et NK CD57 en mm³. Lors de l'interprétation, un abaissement du rapport conduit à une baisse spécifique des NK CD57+ et donc à un diagnostic de maladie de Lyme (139). Cependant, l'utilisation de ce rapport dans le diagnostic d'une infection par *Borrelia sp.* ne fait pas encore partie des recommandations françaises.

II. Utilisation de la micro-immunothérapie

1) Protocole (140)

Dans la prise en charge de la maladie de Lyme, la micro-immunothérapie n'est jamais utilisée seule, elle rentre toujours dans un protocole de soins qui tient compte de la clinique et de la biologie du patient. Comme pour une prise en charge classique, le protocole de soins comporte des antibiotiques, puisqu'il s'agit avant tout d'une pathologie bactérienne. Les antibiotiques peuvent être associés à d'autres anti-microbiens dans les cas de co-infections. La micro-immunothérapie peut être utilisée dans le contexte du renforcement de l'immunité vis-à-vis de *Borrelia sp.*

Lors de la phase aiguë de la pathologie, le médicament de micro-immunothérapie LABO'LIFE-2LEID-N® peut être associé aux antibiotiques. La composition pour une séquence de dix gélules est la suivante :

- Interleukin 1 (IL-1) : 7 CH
- Interleukin 2 (IL-2) : 5 CH
- Interleukin 3 (IL-3) : 3 CH
- Interleukin 4 (IL-4) : 27 CH
- Interleukin 6 (IL-6) : 6 CH
- Interleukin 10 (IL-10) : 17 CH
- Interleukin 12 (IL-12) : 5 CH
- Ribonucleicum Acidum (ARN) : 8 CH
- Desoxyribonucleicum Acidum (ADN) : 8 CH
- Granulocyt. Colony Stimul. Fact. (GCSF) : 5 CH
- Interferon Gamma (IFN- γ) : 6 CH
- Tum. Nocr. Fact. Alpha (TNF- α) : 5 CH
- Molgramostim (GMCSF) : 5 CH
- Transform. Growth. Fact. Beta (TGF- β) : 27-30 CH
- Acid. Nucleic. Specif. SNA®-EIDa-02 : 18 CH
- Acid. Nucleic. Specif. SNA®-EIDb-02 : 18 CH
- Acid. Nucleic. Specif. SNA®-HLA I-01 : 18 CH

- Acid. Nucleic. Specif. SNA®-HLA II-01 : 18 CH
- Excip. Lactos. Saccharos. Pro caps. Gel. Una.

« Les domaines d'emploi sont dérivés des propriétés et des dilutions des composants. En fait partie le soutien immunitaire dans les infections aiguës, chroniques et récidivantes en cas de déficience immunitaire, en particulier dans le cadre de la sphère ORL. »

Ce médicament est à utiliser à la posologie d'une gélule par jour dix à vingt jours par mois au cours de la phase initiale pour renforcer la voie Th1.

Pour les phases chroniques de la maladie, on peut associer aux antibiotiques cette même formule avec la même posologie. Cependant, dans les cas d'arthrites, ce médicament ne sera utilisé que dix jours par mois seulement. Dans les cas de maladie auto-immune, il est préférable d'utiliser la formule LABO'LIFE-2LEID® pour éviter le passage à l'auto-immunité. La composition pour une séquence de dix gélules est la suivante :

- Interleukin 1 (IL-1) : 5-10 CH
- Interleukin 2 (IL-2) : 5-10 CH
- Interleukin 5 (IL-5) : 6-10 CH
- Interleukin 6 (IL-6) : 6-10 CH
- Interfer. Gamma (IFN- γ) : 6-10 CH
- Transform. Cresc. Fact. Beta (TGF- β) : 10-30 CH
- Tum. Necr. Fact. Alpha (TNF- α) : 5-10 CH
- Acid. Desoxyribonucleic. (ADN/DNA) : 8-10 CH
- Acid. Ribonucleic. (ARN/RNA) : 8-10 CH
- Acid. Nucleic. Specif. SNA®-HLA I : 10-16 CH
- Acid. Nucleic. Specif. SNA®-HLA II : 10-16 CH
- Acid. Nucleic. Specif. SNA®-EID : 10-16 CH
- Excip. Lactos. Saccharos. Pro caps. Gel. Una.

« Les domaines d'emploi sont dérivés des propriétés et des dilutions des composants. En fait partie le soutien immunitaire dans les infections aiguës, chroniques et récidivantes en cas d'état immunitaire « normal » ou déficient. »

Lorsque la réponse inflammatoire est trop élevée et qu'elle se traduit, dans certaines formes de la maladie, par des troubles du sommeil, du stress et avec une biologie perturbée, elle peut être modulée en utilisant le médicament LABO'LIFE-2LINFLAM® à raison d'une gélule

par jour dix à vingt jours par mois ou en continu au cours des premiers mois du traitement.

La composition pour une séquence de dix gélules est la suivante :

- Interleukin 1 (IL-1) : 17 CH
- Interleukin 1 Ra. (IL-1 Ra) : 3 CH
- Interleukin 2 (IL-2) : 9 CH
- Interleukin 4 (IL-4) : 7 CH
- Interleukin 6 (IL-6) : 9 CH
- Interleukin 8 (IL-8) : 9 CH
- Interleukin 10 (IL-10) : 4 CH
- Interleukin 13 (IL-13) : 9 CH
- Ciliary Neuro Trophic Factor (CNTF) : 17 CH
- Leukemia Inhibitory Factor (LIF) : 17 CH
- Oncostatine M (OSM) : 9 CH
- Plateled Derived Growth Factor (PDGF) : 5 CH
- Prostaglandine E2 (PGE2) : 200 K
- Rantes : 17 CH
- Transforming Growth Factor Beta (TGF- β) : 5 CH
- Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) : 17 CH
- Acid. Nucleic. Specif. SNA®-INFLAMa-01 : 18 CH
- Acid. Nucleic. Specif. SNA®-INFLAMb-01 : 18 CH
- Excip. Lactos. Saccharos. Pro caps. Gel. Una.

« Les domaines d'emploi sont dérivés des propriétés et des dilutions des composants. En fait partie le soutien immunitaire dans les mécanismes inflammatoires. »

Il est possible d'associer au cours d'un même mois les médicaments LABO'LIFE-2LEID-N® et LABO'LIFE-2LINFLAM®, par exemple en prenant les dix premiers jours LABO'LIFE-2LEID-N® et les vingt jours suivants LABO'LIFE-2LINFLAM®.

2) Mode d'action du médicament LABO'LIFE-2LEID® (141)

La formule de ce médicament est destinée à renforcer le système immunitaire, cela se déroule en trois phases. Tout d'abord, lorsque la bactérie pénètre dans les tissus, il se produit

une activation des monocytes circulants en macrophages. Les macrophages vont ensuite sécréter des cytokines pro-inflammatoires, tels que l'IL-1 ou le $TNF\alpha$, pour permettre le recrutement d'autres macrophages sur le lieu de l'infection et ils vont également sécréter de l'IL-6 et de l'IFN, pour permettre le recrutement des polynucléaires neutrophiles. L'action simultanée des macrophages et des polynucléaires neutrophiles va conduire à la destruction de la bactérie. Le médicament LABO'LIFE-2LEID® contient du $TNF\alpha$, de l'IL-1, de l'IL-6, de l'IL-2 et de l'IFN γ à des dilutions stimulatrices, ce qui permet de soutenir les acteurs de cette première phase. La Figure 42 expose le fonctionnement du système immunitaire inné lors de la phagocytose de *Borrelia sp.* et notamment les cytokines et les chimiokines impliquées dans la différenciation et dans la maturation des cellules immunocompétentes.

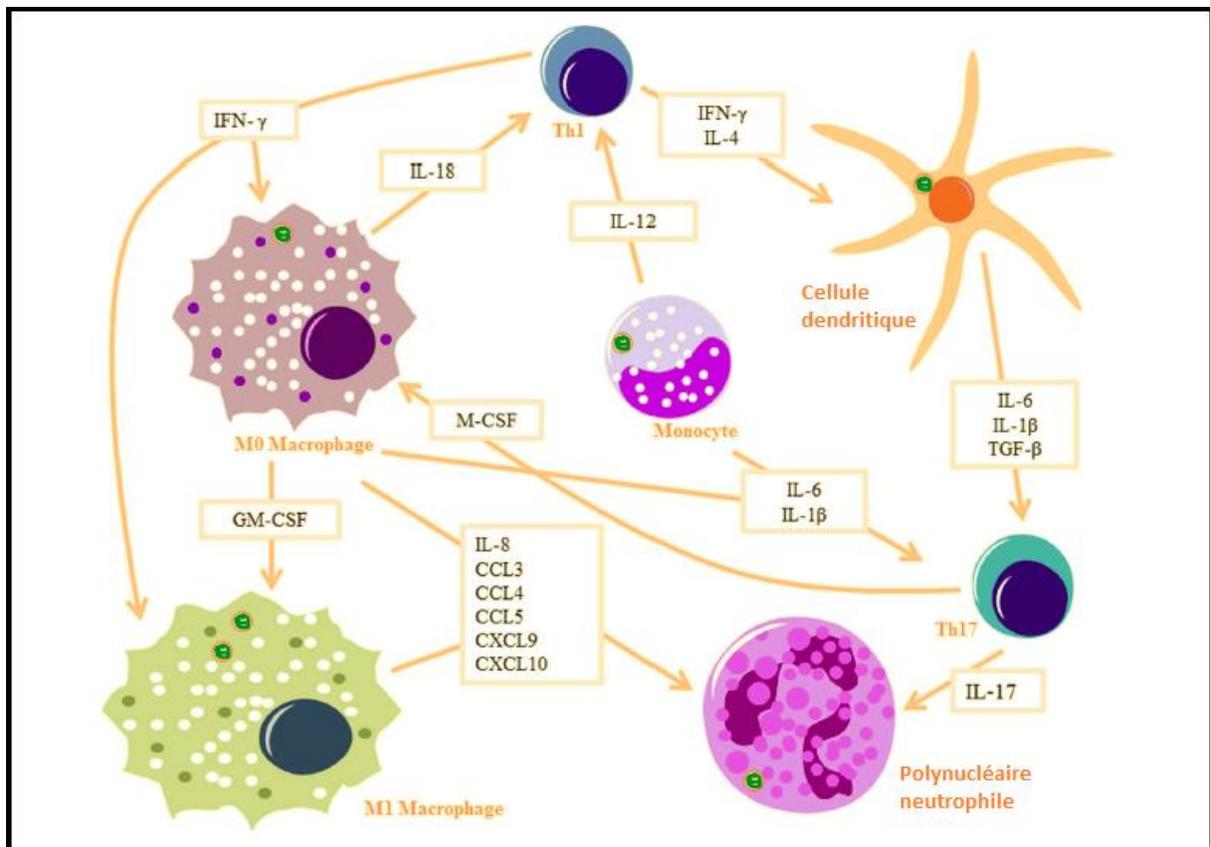


Figure 42 : Activation du système immunitaire inné suite à la phagocytose de *Borrelia sp.*

Dans un second temps, les macrophages vont recruter des cellules présentatrices d'antigènes grâce aux cytokines pro-inflammatoires. Lors de la phagocytose par les macrophages, des débris sont libérés, ils vont donc être captés par les cellules présentatrices d'antigènes pour être présentés à leur surface. Les cellules présentatrices d'antigènes vont ensuite migrer vers le ganglion lymphatique et présenter les antigènes aux lymphocytes T CD4 et T CD8

cytotoxiques. Après reconnaissance de l'antigène, les lymphocytes T CD4 vont sécréter des cytokines pro-inflammatoires pour permettre l'activation des lymphocytes B en plasmocytes. Les lymphocytes et les plasmocytes, une fois activés, vont migrer vers le lieu de l'infection et les lymphocytes T CD4 vont sécréter de l'IL-2, de l'IL-4 et de l'IL-6 pour contrer les bactéries. Les plasmocytes, quant à eux, vont sécréter des immunoglobulines qui vont se fixer sur les bactéries et les lymphocytes T CD8 cytotoxiques vont détruire les bactéries par le biais des perforines, des granzymes et des granulysines. Le médicament LABO'LIFE-2LEID®, de par ses dilutions stimulatrices de TNF α , d'IL-6 et d'IL-1, va stimuler l'activation des lymphocytes. Les dilutions stimulatrices d'IL-2 et d'IL-6 vont renforcer la libération d'immunoglobulines et donc permettre la prise en charge de la bactérie.

Enfin, une fois les bactéries détruites, les lymphocytes T CD4 vont sécréter des cytokines anti-inflammatoires, telles que le TGF β , l'IL-10 et l'IL-1Ra, pour signaler au système immunitaire que l'attaque est terminée. Le médicament LABO'LIFE-2LEID® contient des dilutions frénatrices de TGF β , ce qui retarde la fin de la réaction du système immunitaire et donc les différents acteurs pourront accomplir leur rôle en intégralité, par exemple, cela va minimiser l'apoptose des polynucléaires neutrophiles et permettre la libération des enzymes des lymphocytes T CD8 cytotoxiques.

3) Etudes permettant de mettre au point la composition du médicament LABO'LIFE-2LEID-N® vis-à-vis de la maladie de Lyme

Le médicament LABO'LIFE-2LEID-N® est notamment composé d'IL-2 qui possède une action anti-inflammatoire et antivirale, d'IL-3 qui est assimilée à un facteur de croissance des cellules dendritiques et qui stimule le système immunitaire aspécifique, d'IL-4 qui inhibe la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, TNF α , IL-6, IL-8), d'IL-10 qui inhibe l'IFN γ et qui freine la production de l'IL-1 et du TNF α , de l'IL-6 et du TNF α (142). Ce médicament a comme actions de stimuler l'IL-1, l'IL-10, l'IL-4 et l'activité cytokinique des cellules NK. Il permet aussi la production et la différenciation de la voie Th1 et induit la différenciation des lymphocytes T cytotoxiques (143).

L'étude réalisée par Codolo *et al.* (2008) a cherché à évaluer le rôle de l'immunité innée et adaptative suscitées par la NapA (Neutrophil-activating protein A) de *B. burgdorferi* chez

des patients atteints de la maladie de Lyme. Chez ces patients, les lymphocytes T du liquide synovial produisent de l'IL-17 en réponse à la NapA. Cependant, NapA peut induire, par le biais du TLR2 (Toll-like Receptor 2), l'expression de l'IL-23 dans les neutrophiles et les monocytes, aussi bien que d'autres interleukines comme l'IL-6, l'IL-1 ou le TGF. La conclusion de cette étude est que la NapA de la bactérie est capable de moduler l'expression de l'IL-6, l'IL-1, l'IL-23 et du TGF par les cellules de l'immunité innée et de susciter la réponse Th17 du liquide synovial, ce qui pourrait jouer un rôle primordial dans la maladie de Lyme (144).

L'Interféron γ (IFN- γ) et l'IL-17 ont des rôles importants dans la réaction de l'hôte face à *Borrelia sp.* et dans l'affection du système immunitaire dans la maladie de Lyme. La production d'IL-17 par les lymphocytes T est liée à la caspase-1 qui est dépendante de l'IL-1 β . Cependant, cette caspase contrôle aussi l'IL-18 qui est indispensable dans la production d'IFN- γ . Une étude a démontré le rôle de la caspase-1 dans la régulation de la réponse cytokinique provoquée par la bactérie. Un déficit en caspase-1, lors de l'infection par *Borrelia sp.*, entraîne un abaissement de la production d'IFN- γ et d'IL-17. Un manque d'IL-1 β est responsable d'une baisse de la production d'IL-17 (145).

L'étude de Zeidner *et al.* (1996) a montré que chez des souris ayant reçu du TNF α , la protection après une piqûre de tique était de 95 %. Chez les souris qui avaient reçu de l'IL-2 ou de l'IFN γ , le taux d'infection était de 30 à 45 %, comparé au taux d'infection de 83 % chez les souris qui n'avaient rien reçu. La culture de *B. burgdorferi* dans un milieu contenant des cytokines montre bien que le TNF α , l'IFN γ et l'IL-2 ne sont pas nocifs pour la bactérie. En conclusion, cette étude suggère qu'il se produit une protection face à la bactérie grâce à la production de cytokines dans le cadre de l'immunité innée et que les cellules immunocompétentes jouent un rôle dans la protection de la maladie de Lyme induite par la piqûre des tiques. La bactérie serait inhibée par l'utilisation d'acteurs de la voie Th1 ou de macrophages associés à des cytokines dans la période précédant l'inoculation de la bactérie lors de la piqûre de tique (146).

Il a été retrouvé, dans la salive de nombreuses tiques et notamment chez *Ixodes scapularis*, un puissant inhibiteur de la prolifération des lymphocytes T. Cet inhibiteur peut contrer la stimulation entraînée par les cellules présentes dans la rate de souris associées à des anticorps anti-CD3, de plus, une interaction de l'inhibiteur avec les lymphocytes T ne

semble pas nécessaire. Les composants de la salive empêchent la capture de l'IL-2 lors des tests ELISA, ce qui suppose la présence d'un récepteur soluble de l'IL-2 dans la salive. Grâce à des tests *in vitro* utilisant la trypsine, il a été montré qu'il s'agissait d'une protéine capable de fixer l'IL-2. En bloquant l'IL-2, les constituants de la salive empêchent donc la prolifération des lymphocytes T et des autres cellules immunocompétentes qui nécessitent en temps normal la présence de l'IL-2 (147).

Des chercheurs ont étudié les concentrations d'IFN γ , d'IL-6, d'IL-12 et d'IL-15 dans le sérum et le liquide cébrospinal de patients atteints de maladie de Lyme, avant et après un traitement antibiotique. Avant le traitement, les concentrations de ces cytokines étaient significativement élevées dans les maladies de Lyme contrairement aux patients sains. Après quatre semaines d'antibiotiques, les concentrations des cytokines avaient diminué (148).

Pancewicz *et al.* (2007) ont montré que l'IL-10 supprimerait le développement d'arthrite chez les souris qui étaient infectées par *B. burgdorferi*. Chez des souris infectées et déficitaires en IL-10, il a été montré une production d'interféron dans les tissus articulaires qui était prolongée. Chez des souris infectées dont l'IL-10 était présente, il a été retrouvé des macrophages et des lymphocytes T CD4 comme la première source d'IL-10 dans les tissus articulaires infectés. Le traitement de ces souris déficitaires en IL-10 avec de l'IFN γ a permis de réduire la sévérité des arthrites et de supprimer la transcription d'interféron en un type sauvage. La maladie chez les souris déficitaires en IL-10 a donc été reliée à un dérèglement de l'IFN γ , l'arthrite chez ces souris est associée à une élévation du taux de cellules NK, de cellules NKT, de lymphocytes T et de macrophages dans les articulations. De plus, il avait été montré que les cellules NK et les lymphocytes T CD4 étaient sources d'IFN γ dans les tissus articulaires des souris déficitaires en IL-10. Ces résultats supposent la présence d'un rétrocontrôle positif dans les tissus infectés des souris déficitaires en IL-10 où il y a la production de cytokines inflammatoires et l'infiltration d'IFN γ , ce qui entraîne une arthrite. En temps normal, sans la maladie de Lyme, le développement d'arthrite est lié à une interruption dans la production d'interféron et est indépendant de l'IFN γ (148).

L'étude de Zajkowska *et al.* (2004) a évalué, grâce à la technique ELISA, les taux de CD4, CD8, CD25, IFN γ et IL-4 dans le surnageant de cultures de lymphocytes venant de patients atteints de maladie de Lyme chronique, en les comparant à des patients sains. Les cellules sanguines ont été incubées avec les bactéries en question pendant cinq jours. Il a été retrouvé

une élévation des taux de CD4, CD8 et CD25, ce qui montre l'activation des lymphocytes contenus dans le surnageant grâce aux récepteurs respectifs. Une concentration élevée d'IFN γ conclut à une réponse cellulaire prolongée par le biais des cytokines issues de la voie Th1. Dans cette étude, il ressort que *B. afzelii* est la bactérie qui engendre la maladie de Lyme la plus importante en terme de gravité (149).

Dans la maladie de Lyme, il se produit une accumulation de leucocytes au niveau périvasculaire. L'incubation de cellules endothéliales humaines avec de l'IL-1 et *B. burgdorferi* a conduit à une augmentation du taux de monocytes qui avaient migré dans les couches de tissu endothélial. Cette migration est contrôlée par VLA-4 (Very Late Antigen 4) et des intégrines CD11/CD18. Cependant, elle est inhibée par l'anticorps de MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1). La présence de la bactérie augmente la migration des lymphocytes T CD4. La MCP-1 intervient dans la migration des monocytes et des lymphocytes T CD4. L'IL-10 limite la migration des monocytes et la production de MCP-1. Cependant, lorsque les cellules sont stimulées par l'IL-1, l'IL-10 n'empêche plus la migration, ni la sécrétion de MCP-1. Dans cette étude, il a été montré que la migration des monocytes induite par la présence de la bactérie est moins dépendante de MCP-1 que l'est la migration induite par l'IL-1. L'inhibition sélective par l'IL-10 indique que la bactérie et l'IL-1 utilisent respectivement des moyens distincts pour activer les cellules endothéliales (150).

La réponse de l'hôte face à une piqûre de tique et à la transmission de la bactérie est modulée de par la présence de molécules contenues dans la salive de tique. Ces molécules agissent sur la prolifération des lymphocytes T par le biais de cytokines spécifiques. La réponse par les cytokines issues de la voie Th2 ne permet pas une protection contre la transmission de la bactérie, cependant, les cytokines issues de la voie Th1 permettent de neutraliser la modulation de l'immunité de l'hôte et donc d'assurer une protection vis-à-vis de la bactérie. La suppression de l'IL-4 et de l'IL-5 avant le repas de la tique contaminée entraîne une diminution du taux de bactérie dans les organes tels que les articulations, la vessie, le cœur et la peau (75).

Dans l'étude de Harjacek *et al.* (2000), les cytokines ont été dosées dans le liquide synovial de patients présentant une maladie de Lyme avec une composante d'arthrite. Ils ont utilisé une hybridation *in-situ* pour déterminer l'expression d'ARNm de cytokines. La plupart des

patients atteints de maladie de Lyme possède les ARNm de cytokines pro-inflammatoires pour environ 1 % des cellules, tandis que les ARNm des cytokines anti-inflammatoires sont moins fréquents (151).

Le GM-CSF est un facteur de croissance hématopoïétique avec un spectre d'activité large. Il est produit par différents types cellulaires et notamment par les lymphocytes T et les macrophages, mais il est nécessaire que sa production soit stimulée par des cytokines telles que l'IL-1 et le TNF ou par des agents inflammatoires. Il agit sur la survie des progéniteurs hématopoïétiques, ainsi que sur leur prolifération et leur différenciation, mais aussi sur l'activation des cellules matures auxquelles il a permis la production, comme les monocytes et les polynucléaires neutrophiles. Une étude a montré une concentration élevée d'IFN γ et de GM-CSF chez les patients atteints de maladie de Lyme, par rapport aux patients sains. Après le traitement antibiotique, les patients présentaient les mêmes concentrations que les patients sains. L'élévation des concentrations d'IFN γ et de GM-CSF pourrait donc être expliquée par une activation des lymphocytes T lors de la contamination par la bactérie (152).

En récapitulatif, dans la maladie de Lyme, les acteurs du système immunitaire augmentés sont l'IL-1, l'IL-6, le TGF- β , l'IL-12, l'IL-15, l'IL-4, l'IL-5, le GM-CSF, l'ARNm des cytokines pro-inflammatoires et l'IL-10. Les acteurs abaissés sont l'IL-2 et le TNF α . Par contre, les informations concernant l'IFN γ sont contradictoires. Dans ce contexte, la micro-immunothérapie se base sur la loi d'Arndt-Schultz pour le choix de la dilution utilisée. Les hautes dilutions freinent l'effet ciblé, les moyennes dilutions le modulent et les basses dilutions le stimulent. Le médicament LABO'LIFE-2LEID-N® se compose de dilutions basses (3-5CH) pour l'IL-2, l'IL-3, l'IL-12, le GCSF, le TNF α et le GMCSF, il cherche donc à stimuler l'effet de ces acteurs, ce qui semble cohérent avec les publications pour l'IL-2 et le TNF α . Le médicament comporte des hautes dilutions (supérieures à 9CH) pour l'IL-4, l'IL-10 et le TGF- β , il cherche donc à freiner leurs effets. Les autres composants du médicament sont présents à des dilutions moyennes, ce qui a pour but de moduler l'effet de ces acteurs dans la réaction du système immunitaire.

Chapitre IV : Utilisation actuelle de la micro-immunothérapie

I. L'avis des médecins prescripteurs de la micro-immunothérapie

Selon le Docteur Luc Bodin (médecin généraliste spécialisé en cancérologie clinique et pratiquant d'autres thérapeutiques alternatives, n'exerce plus en tant que généraliste), la thérapeutique, qui lui a apporté le plus de résultats chez ses patients qui avaient passé le stade primaire de la maladie de Lyme, est la micro-immunothérapie. Il l'associait à des huiles essentielles, à la bromélaïne et à la vitamine C. Ce médecin s'est tourné vers la micro-immunothérapie dans la prise en charge de la maladie de Lyme, puisqu'il a constaté que les antibiotiques ne présentaient pas une efficacité totale et qu'il était souvent nécessaire de les utiliser au long terme pour obtenir une efficacité. De plus, ces patients étaient parfois réfractaires à l'utilisation des antibiotiques (153).

Dans une interview réalisée par l'institut 3IDI, le Docteur André Segyo (allergologue exerçant à Nevers (58)), qui a découvert la micro-immunothérapie par le biais d'une brochure, révèle que l'utilisation de cette thérapeutique au quotidien est parfois difficile, puisque d'une part, elle n'est pas remboursée par la sécurité sociale et que d'autre part, son utilisation est parfois compliquée à faire comprendre à certains patients. Ce médecin a souhaité réaliser une évaluation concernant l'efficacité du médicament « EID-N ». Il a prescrit ce médicament chez trente patients souffrant de pathologies ORL et/ou pulmonaires. Comme certains des patients n'ont pas pris ce traitement, il s'est servi de leurs résultats comme éléments de comparaison. Chez tous les patients, il a dosé les immunoglobulines, les CD3, les CD4 et les CD8 avant le traitement et les a comparés un an après. Il en a conclu que l'amélioration chez les patients traités uniquement par oligoéléments et lavages nasals était plus lente que chez les patients traités par micro-immunothérapie. Selon lui, la micro-immunothérapie a son intérêt dans la prise en charge des patients, puisqu'elle joue un rôle dans l'éducation du système immunitaire.

II. L'avis des patients

Isabelle est née en 1965 (patiente belge), elle souffre de disque poreux et d'absence de noyau, accompagné de douleurs importantes, elle recevait régulièrement des infiltrations de cortisone et a subi plusieurs arthrodèses des vertèbres lombaires. Elle a aussi subi une opération consistant à placer une cage à la place du disque et à rectifier la position des vertèbres, de plus, une lésion du nerf crural a été mise en évidence. Elle est incapable d'assurer une activité professionnelle du fait de l'intensité des douleurs et ne peut se déplacer qu'avec un déambulateur. Une amie lui a fait connaître la micro-immunothérapie. Avec l'accord de son médecin, elle débute cette thérapeutique en plus de son traitement antidouleur habituel. Après huit mois de traitement, elle constate une amélioration de son état général, elle a réussi à diminuer ses prises de morphiniques et elle a réussi à allonger son temps de marche. Lors d'un arrêt d'une semaine de la micro-immunothérapie, elle a pu observer une réapparition de douleurs à la même intensité qu'au début de sa maladie, celles-ci ont diminué lors de la reprise de la micro-immunothérapie (153).

Kerstin Krimmer, jeune femme allemande de 20 ans, souffrait depuis deux ans du syndrome de fatigue chronique, pendant neuf mois, elle dormait jusqu'à vingt-trois heures par jour. Après de nombreuses consultations médicales, de nombreux diagnostics, de nombreux traitements, elle n'a constaté aucune amélioration. Elle a alors consulté une naturopathe qui utilise la micro-immunothérapie. Celle-ci lui a diagnostiqué une mononucléose infectieuse chronique qui a été provoquée par le virus d'Epstein-Barr suite à un système immunitaire affaibli. Elle lui a donc prescrit un programme personnalisé de micro-immunothérapie sur une année. Au bout d'un certain temps, Kerstin a commencé à constater une amélioration, et à la fin du traitement, elle était complètement rétablie, le point positif de ce traitement était l'absence d'effets indésirables. Cependant, la micro-immunothérapie n'est pas prise en charge par l'assurance maladie, il a donc fallu compter environ 100 € de frais par mois (154).

Peter S, médecin spécialiste allemand, a souffert pendant plus de douze ans d'une sclérose en plaques. Cette maladie a entraîné une détérioration progressive accompagnée d'une diminution des capacités physiques et mentales. A cinquante ans, il n'était plus capable de travailler. Il a tout d'abord été traité par de l'interféron bêta, des immunoglobulines et de la cortisone, cependant, les symptômes ont persisté. En janvier 2009, il a découvert la micro-immunothérapie par le biais d'un article, il a donc pris contact avec un médecin qui utilise

cette thérapeutique. Celui-ci lui a prescrit, en plus de son traitement neurologique, des médicaments de micro-immunothérapie combinés à de la phytothérapie, à de l'aromathérapie et à la prescription de nutriment. Après onze mois de traitement, Peter S. a constaté une amélioration de ses capacités physiques et mentales, ainsi qu'une diminution, voire une disparition de certains symptômes caractéristiques de la maladie. De plus, son taux de lymphocytes est redevenu normal. Actuellement, Peter S. est traité par le traitement combiné et une demi-dose du médicament neurologique, il ne présente quasiment plus de symptômes de sa maladie (155).

Madame O, 49 ans, atteinte d'une sclérose en plaques depuis plus de trente ans et en fauteuil roulant depuis quinze ans, n'a jamais souhaité prendre de médicaments à base de cortisone, du fait de leurs possibles effets indésirables. Elle prend depuis plus de quatre ans (au moment de la publication de l'article) un traitement de micro-immunothérapie, dont elle est satisfaite. Sa maladie s'est stabilisée, elle ne présente plus de poussées (156).

III. Evaluations

1) « Evaluation du 2LHERP dans les préventions des récurrences de l'herpès génital »

En 2000, les conclusions d'une enquête ont été publiées dans le « British Homeopathic Journal ». Cette enquête a été réalisée de 1996 à 1997 et elle utilisait le complexe homéopathique 2LHERP® en monothérapie chez cinquante-trois patients ayant présenté au moins quatre crises d'herpès génital dans l'année. Il s'agissait d'une évaluation multicentrique ouverte. Elle a étudié la fréquence de réapparition des récurrences et l'intensité des symptômes avec le traitement et lors de l'arrêt de celui-ci. Parmi les patients suivis, dix d'entre eux étaient auparavant traités par l'aciclovir et deux d'entre eux ont été traités par l'association aciclovir et micro-immunothérapie. Ce traitement de micro-immunothérapie a été administré chez ces patients dès la fin de la phase aiguë d'une crise d'herpès et pendant au moins deux mois, à raison d'une prise quotidienne. La conclusion de cette évaluation rapporte que 41 % des patients n'ont pas présenté de récurrence dans les huit à cinquante mois suivant le premier traitement. Pour ces patients, la durée du traitement dépendait de la fréquence et de l'intensité des crises antérieures, deux patients ont été traités pendant dix-huit mois en continu, trois patients ont bénéficié d'un traitement de six à douze

mois et chez les autres patients, le traitement a duré de deux à quatre mois. Pour 32 % des patients, l'efficacité de ce traitement est apparue après une à plusieurs rechutes et chez 9 % des patients, les récurrences étaient toujours présentes. Cependant, pour tous les patients, la fréquence et l'intensité des crises étaient diminuées. Sur les quarante-neuf patients correctement suivis pendant l'évaluation, vingt-deux n'ont pas présenté de récurrence. Chez cinq patients, le traitement de micro-immunothérapie a été jugé inefficace. Pour les vingt-deux autres patients, il a été noté une nette diminution de l'intensité des récurrences. Il faut aussi noter que ce traitement de micro-immunothérapie n'a pas présenté d'effet secondaire et même lors de traitements prolongés. De plus, chez les dix patients résistants ou intolérants à l'aciclovir, il a été retrouvé que 80 % de ces patients était améliorés par le 2LHERP®. Au cours de cette évaluation, il a été suggéré qu'il fallait augmenter le nombre de prises quotidiennes à deux ou trois, lorsque les patients ne répondaient au traitement au bout de deux mois. En conclusion, le médicament 2LHERP® semble jouer un rôle dans le traitement de l'herpès génital chronique, il serait nécessaire de réaliser une étude clinique randomisée en double-aveugle pour confirmer ces résultats. Depuis la publication de cette évaluation, la composition du médicament a évolué et donne les mêmes résultats avec un recul plus important (157).

2) « Utilisation de la Micro-immunothérapie à titre de traitement antinéoplasique adjuvant : une étude chez des patients atteints de cancers métastasés »

Cette étude a voulu tester le médicament 2LC1®, après avoir défini une atoxicité de ce médicament, il a été administré chez quatre-vingt-dix-neuf patients souffrant de cancers métastatiques de localisations primitives variées (sein, poumon, système digestif...), en association avec une chimiothérapie et une radiothérapie. Ce médicament avait tout d'abord été administré chez des patients en phase terminale qui ne répondaient plus à la chimiothérapie, cela avait conduit à une amélioration de la qualité de vie de ces patients. Entre 1997 et 2001, le médicament a donc été administré chez les patients, soit en monothérapie, soit associé à de la chimiothérapie et/ou à de la radiothérapie, à raison d'une prise par jour. Suite à trois mois de traitement, il a été constaté une amélioration de l'IFK (Indice Fonctionnel de Karnofsky) chez 61 % des patients, une réponse partielle objective a été retrouvée chez 24 % des patients. L'IFK mesure l'état physique global du patient observé par le clinicien. Le taux de survie a été estimé à 69 % à un an et à 44 % à deux ans. De plus,

le taux de survie chez les patientes atteintes d'un cancer du sein était de plus de 75 %. En ce qui concerne les patients traités uniquement avec la micro-immunothérapie, six d'entre eux sont décédés environ dix-sept mois après l'instauration du traitement. Quatre patients sont décédés lors des trois premiers mois de traitement. Il a aussi été noté une meilleure tolérance à la chimiothérapie lorsque celle-ci était associée à la micro-immunothérapie. L'intégration de ce médicament dans la stratégie thérapeutique mise en place a donc permis d'améliorer la qualité de vie des patients, mais le fait d'utiliser la micro-immunothérapie en traitement adjuvant ne permet pas de faire la part de ce qui est imputable uniquement à cette thérapeutique. De même que pour la publication précédente, il est proposé de réaliser une étude randomisée en double aveugle pour confirmer les conclusions obtenues (158).

Conclusion

La maladie de Lyme reste une pathologie très fréquente au niveau mondial et malgré un traitement antibiotique assez bien connu du corps médical, il reste encore des zones d'ombre. C'est le cas du syndrome post-Lyme qui est toujours controversé et dont la prise en charge thérapeutique des patients concernés reste encore difficile. Selon les associations de patients atteints par cette pathologie, « Lyme sans frontières », « France Lyme » (Figure 40) ou « Réseau borréliose », la maladie de Lyme serait mal diagnostiquée du fait de l'existence de peu de spécialistes, ce qui conduirait à une errance des patients en termes de prise en charge. Selon le Centre National de Référence sur la maladie de Lyme, cette pathologie n'est pas chronique, la persistance des symptômes est due à des séquelles provoquées par la bactérie en cause, mais aussi par les autres microbes transmis par la tique, c'est pourquoi il considère que trois semaines d'antibiotiques renouvelables une seule fois sont suffisantes pour éradiquer *Borrelia sp.* de l'organisme. Cependant, aux Etats-Unis, le traitement antibiotique ponctuel n'est pas considéré comme efficace (5). Du fait de l'ignorance des autorités françaises concernant cette pathologie, certains médecins et certains patients cherchent de nouvelles solutions à leurs problèmes et notamment en termes de thérapies. En France, la recherche clinique pour la maladie de Lyme est quasiment inexistante, de par le manque de financement et du rejet du possible syndrome post-Lyme.



Figure 43 : Association France Lyme

La micro-immunothérapie est une thérapie encore récente dans le domaine médical, mais des évaluations cliniques commencent à se mettre en place et à être publiées, ce qui permet d'en éclaircir le principe et de prouver son efficacité. Cependant, il faut bien préciser qu'il s'agit

d'une thérapie adjuvante et donc qu'elle ne doit pas se substituer aux thérapies conventionnelles déjà en place. Le large panel d'applications qu'elle possède en fait une thérapie innovante et intéressante pour l'avenir. Il est nécessaire qu'elle soit plus étudiée et plus utilisée pour justifier de son intégration dans les différentes stratégies thérapeutiques déjà mises en place. De plus, la meilleure connaissance de la micro-immunothérapie par le corps médical permettra peut-être dans les années à venir de la faire enregistrer auprès des instances de santé françaises, et notamment puisqu'elle l'est déjà dans des pays européens voisins.

La maladie de Lyme est régulièrement présente dans les faits d'actualité. En effet, lors du mois de septembre 2014, un procès est relaté dans les journaux télévisés, il concerne deux pharmaciens alsaciens jugés pour escroquerie et exercice illégal de la profession de pharmacien. L'un d'eux possède un laboratoire d'analyses médicales, il lui est reproché de réaliser systématiquement un test ELISA et un test Western blot pour le diagnostic de la maladie de Lyme, ce qui ne correspond pas aux recommandations officielles. Ce biologiste considérait que le test ELISA utilisé seul n'apportait pas une réponse assez fiable en termes de détection. Le second accusé est un pharmacien d'officine, il lui est reproché d'avoir préparé et délivré un produit à base d'huiles essentielles, nommé « Tic Tox », cependant l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament a considéré ce produit comme un médicament n'ayant pas reçu d'autorisation de mise sur le marché et donc en a interdit la vente. Le verdict doit être rendu le 13 novembre 2014 (159).

Bibliographie

- (1) Keith Berndtson. Review of evidence for immune evasion and persistent infection in Lyme disease. *International Journal of General Medicine*. 2013; 6 ; 291-306.
- (2) <http://www.science.gouv.fr/fr/actualites/bdd/res/4413/l-adn-de-la-momie-d-otzi-vient-de-devoiler-de-nouveaux-secrets/>
- (3) Hubalek Z. Epidemiology of lyme borreliosis. *Curr Probl Dermatol*. 2009; 37:31-50.
- (4) Bridget M. Kuehn. CDC Estimates 300000 US Cases of Lyme Disease Annually. *JAMA*. September 18, 2013; 310(11):1110.
- (5) « La maladie de Lyme, quand les tiques attaquent. » France 5, 21/05/2014
- (6) Grazyna Biesiada et al. Lyme disease : review. *Arch Med Sci* December 6, 2012 ; 8 (6) : 978-982.
- (7) <http://www.sante.gouv.fr/maladie-de-lyme.html>
- (8) <http://www.invs.sante.fr/>
- (9) Wall R, Shearer D. *Veterinary Ectoparasites : Biology, Pathology and Control*. Wiley-Blackwell. Second Edition. 2001:58-59.
- (10) <http://www.cbip.be/Folia/2002/F29F05B.cfm>.
- (11) <http://borreliaburgdorferi.org/>
- (12) De Martino SJ et al. Enhanced culture of *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii* strains on a solid BSK-based medium in anaerobic conditions. *Res Microbiol*. 2006 Oct ;157(8) :726-9.
- (13) Fraser CM et al. Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature*. 1997 Dec 11 ;390(6660) :580-6.
- (14) Casjens S et al. A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol*. 2000 Feb ;35(3) : 490-516.
- (15) <http://lymedisease.org/pdf/Bbfacts.pdf>
- (16) <http://textbookofbacteriology.net/Lyme.html>
- (17) <http://www.maladies-a-tiques.com/Maladie-de-Lyme.htm>
- (18) Souccar T. La maladie de Lyme. *Les dossiers de santé et nutrition*. Août 2013 : 23 ; 1-8.

- (19) Steere AC, Sikand VK. The presenting manifestations of Lyme disease and the outcomes of treatment. *N Engl J Med* 2003;348:2472-2474.
- (20) Feder Jr HM et al. A critical appraisal of « chronic Lyme disease ». *N Engl J Med* 2007 ;357 :1422-30.
- (21) Wormser GP et al. Duration of antibiotic therapy for early Lyme disease. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 2003 ;138 :697-704.
- (22) Hickien I et al. Post-infective and chronic fatigue syndromes precipitated by viral and non-viral pathogens : prospective cohort study. *BMJ* 2006 ;333 :575.
- (23) Sordet C. Chronic Lyme disease : Fact or fiction ? *Joint Bone Spine*. 2014 : 1-2.
- (24) <http://www.ilm.pf/PCR>
- (25) Dunaj J et al. The role of PCR in diagnostics of Lyme borreliosis. *Przegl Epidemiol*. 2013;67(1):35-9.
- (26) http://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/consensus/2006-lyme-long.pdf
- (27) <http://ansm.sante.fr/>
- (28) Fallon BA et al. A reappraisal of the U.S. clinical trials of post-treatment Lyme disease syndrome. *Open Neurol J*. 2012 ;6(Suppl 1-M2) :79-87.
- (29) Klemmner MS et al. Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. *N Engl J Med*. 2001 ;345 :85-92.
- (30) Krupp LB et al. Study and treatment of post Lyme disease (Stop-LD). A randomized double-masked clinical trial. *Neurology*. 2003 ;60:1923-1930.
- (31) Mark S. Klemmner et al. Treatment Trials for Post-Lyme Disease Symptoms Revisited. *The American Journal of Medicine*. 2013 ; 126 : 665-669.
- (32) Yrjänäinen et al. Persistent joint swelling and *Borrelia*-specific antibodies in *Borrelia garinii*-infected mice after eradication of vegetative spirochetes with antibiotic treatment. *Microbes Infect*. 2006 ; 8(8) : 2044-2051.
- (33) Yrjänäinen et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha treatment activates *Borrelia burgdorferi* spirochetes 4 weeks after ceftriaxone treatment in C3H/He mice. *J Infect Dis*. 2007 ; 195(10) :1489-1496.
- (34) Yrjänäinen et al. Persistence of borrelial DNA in the joints of *Borrelia burgdorferi*-infected mice after ceftriaxone treatment. *APMIS*. 2010 ; 118(9) : 665-673.
- (35) Wormser et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis : clinical practice guidelines by the

- infectious diseases society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 2006 ; 43 : 1089-134.
- (36) Peter Parham. *Le système immunitaire*. De Boeck. 1-30.
- (37) Cavaillon JM. *Les cytokines*. Masson. 2^{ème} édition ; 1-13
- (38) Dr Maurice Jenaer. *Micro-immunothérapie : la méthode*. Institut 3IDI. 2002
- (39) Geeta Ramesh et al. *Cytokines and Chemokines at the Crossroads of Neuroinflammation, Neurodegeneration, and Neuropathic Pain. Mediators of Inflammation*. 2013 ; 1-11.
- (40) Merchant et al. *Immunotherapy for malignant glioma using human recombinant interleukin-2 and activated autologous lymphocytes*. *J Neurooncol*. 1990; 8: 173-188.
- (41) Takeda K et al. *STAT6 : its role in interleukin 4-mediated biological functions*. *J Mol Med*. 1997 May ; 75(5) :317-26.
- (42) Apte RN et al. *Involvement of immune responses in the eradication of IL-1 alpha gene-transduced tumour cells :mechanisms of tumour rejection and immunotherapeutical implications*. *Folia Biol*. 1994 ; 40(1-2) :1-18.
- (43) Falfan VR et al. *Factor de Necrosis Tumoral :activated biological en neuropatias intersticiales*. *Rev Ins Nal Enf Resp Mex*. 2002 ;15 (1) : 48-53.
- (44) Simpson RJ et al. *Interleukin-6 : structure-function relationships*. *Protein Sci*. May 1997; 6(5) :929-55.
- (45) Oosterling SJ et al. *Perioperative IFN-alpha to avoid surgically induced immune suppression in colorectal cancer patients*. *Histol Histopathol*. Jul 2006 ; 21(7) :753-60.
- (46) Ranges et al. *Inhibition of cytotoxic T cell development by transforming growth factor beta and reversal by recombinant tumor necrosis factor alpha*. *J Exp Med*. 1987 ;166 :991-998.
- (47) Kehrl et al. *Transforming growth factor beta is an important immunomodulatory protein for human B lymphocytes*. *J Immunol*. 1986 ; 137 :3855-3860.
- (48) Herrmann S et al. *Both IL-2 and IL-4 synergize with IL-12 to induce a CTL response, a response completely blocked by TGF-beta*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1996 ; 795 :168-180.
- (49) Bright JJ et al. *TGF-beta inhibits IL-12-induced activation of Jak-STAT pathway in T lymphocytes*. *J Immunol*. Aug 15 1998; 161(4) :1772-7.
- (50) Dr Maurice Jenaer. *Naissance et spécificités de la micro-immunothérapie*. Institut 3IDI. 2008.

- (51) A. Moro. La micro-immunothérapie : une piste anti-allergique. Principes de santé. Avril 2013 ; n°55 ; 19.
- (52) <http://www.labolife.info/index.php?ln=fr>
- (53) Oranskiĭ SP et al. Body structure and serum concentration of adiponectin and cytokines (IL-6, -10 and TNF-alpha) in rheumatoid arthritis combined with obesity. Vopr Pitan. 2013;82(4):10-4.
- (54) Richard Pinto. Conseil en homéopathie. Pro-Officina ; 2^{ème} édition ; 2009 : 3-4
- (55) Institut 3IDI. Les 7 outils de la micro-immunothérapie.
- (56) Dr Luc Bodin. La micro-immunothérapie les français n'y ont pas droit. Pratiques de santé. 15 janvier 2008 ; n°74 ; 4-5.
- (57) Sá-Nunes A et al. Prostaglandin E2 is a major inhibitor of dendritic cell maturation and function in *Ixodes scapularis* saliva. J Immunol. 2007 Aug 1;179(3):1497-505.
- (58) Chmelar J et al. A tick salivary protein targets cathepsin G and chymase and inhibits host inflammation and platelet aggregation. Blood. 2011 Jan 13 ;117(2) :736-44
- (59) Kovářová Z et al. Crystallization and diffraction analysis of the serpin IRS-2 from the hard tick *Ixodes ricinus*. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 2010 Nov 1;66(Pt 11):1453-7.
- (60) Dai J et al. Tick histamine release factor is critical for *Ixodes scapularis* engorgement and transmission of the lyme disease agent. PLoS Pathog. 2010 Nov 24;6(11):e1001205.
- (61) Prevot PP et al. Protective immunity against *Ixodes ricinus* induced by a salivary serpin. Vaccine. 2007 Apr 30;25(17):3284-92.
- (62) Prevot PP et al. Anti-hemostatic effects of a serpin from the saliva of the tick *Ixodes ricinus*. J Biol Chem. 2006 Sep 8;281(36):26361-9.
- (63) Tyson K et al. Biochemical and functional characterization of Salp20, an *Ixodes scapularis* tick salivary protein that inhibits the complement pathway. Insect Mol Biol. 2007 Aug;16(4):469-79.
- (64) Valenzuela JG et al. Purification, cloning, and expression of a novel salivary anticomplement protein from the tick, *Ixodes scapularis*. J Biol Chem. 2000 Jun 23;275(25):18717-23.
- (65) Soares CA et al. Capillary feeding of specific dsRNA induces silencing of the isac gene in nymphal *Ixodes scapularis* ticks. Insect Mol Biol. 2005 Aug;14(4):443-52.
- (66) Schroeder H et al. The paralogous salivary anti-complement proteins IRAC I and IRAC II encoded by *Ixodes ricinus* ticks have broad and complementary inhibitory

- activities against the complement of different host species. *Microbes Infect.* 2007 Feb;9(2):247-50. Epub 2006 Dec 11.
- (67) Déruaz M et al. Evasin-4, a tick-derived chemokine-binding protein with broad selectivity can be modified for use in preclinical disease models. *FEBS J.* 2013 Oct;280(19):4876-87.
- (68) Preston SG et al. Novel immunomodulators from hard ticks selectively reprogramme human dendritic cell responses. *PLoS Pathog.* 2013;9(6):e1003450.
- (69) Chalaire KC et al. *Amblyomma americanum* (L.) (Acari: Ixodidae) tick salivary gland serine protease inhibitor (serpin) 6 is secreted into tick saliva during tick feeding. *J Exp Biol.* 2011 Feb 15;214(Pt 4):665-73.
- (70) Hannier S et al. Characterization of the B-cell inhibitory protein factor in *Ixodes ricinus* tick saliva: a potential role in enhanced *Borrelia burgdorferi* transmission. *Immunology.* 2004 Nov;113(3):401-8.
- (71) Kramer C et al. *Dermacentor variabilis*: regulation of fibroblast migration by tick salivary gland extract and saliva. *Exp Parasitol.* 2008 Jul;119(3):391-7.
- (72) Slovák M et al. Antiplatelet-derived growth factor (PDGF) activity in the saliva of ixodid ticks is linked with their long mouthparts. *Parasite Immunol.* 2014 Jan;36(1):32-42.
- (73) Oliveira CJ et al. Tick saliva induces regulatory dendritic cells: MAP-kinases and Toll-like receptor-2 expression as potential targets. *Vet Parasitol.* 2010 Feb 10;167(2-4):288-97.
- (74) Slámová M et al. Effect of tick saliva on immune interactions between *Borrelia afzelii* and murine dendritic cells. *Parasite Immunol.* 2011 Dec;33(12):654-60.
- (75) Zeidner NS et al. Suppression of Th2 cytokines reduces tick-transmitted *Borrelia burgdorferi* load in mice. *J Parasitol.* 2008 Jun;94(3):767-9.
- (76) Juncadella IJ et al. The tick saliva immunosuppressor, Salp15, contributes to Th17-induced pathology during Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Nov 5;402(1):105-9.
- (77) Schuijt TJ et al. The tick salivary protein Salp15 inhibits the killing of serum-sensitive *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates. *Infect Immun.* 2008 ;76(7) :2888-2894.
- (78) Juncadella IJ et al. T-cell signaling pathways inhibited by the tick saliva immunosuppressor, Salp15. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007 ; 49(3) :433-438.

- (79) Hovius JW et al. Salp15 binding to DC-SIGN inhibits cytokine expression by impairing both nucleosome remodeling and mRNA stabilization. *PLoS Pathog.* 2008 ;4(2) :e31.
- (80) Ramamoorthi N et al. The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. *Nature.* 2005 ; 436(7050) :573-577.
- (81) Stevenson B et al. *Borrelia burgdorferi* erp proteins are immunogenic in mammals infected by tick bite, and their synthesis is inducible in cultured bacteria. *Infect Immun.* 1998 Jun;66(6):2648-54.
- (82) Wilhelmsson P et al. Prevalence, diversity, and load of *Borrelia* species in ticks that have fed on humans in regions of Sweden and Åland Islands, Finland with different Lyme borreliosis incidences. *PLoS One.* 2013 Nov 21;8(11):e81433.
- (83) Schwan TG et al. Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995 ;92(7) :2909-2913.
- (84) De Silva AM et al. Arthropod- and host-specific gene expression by *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Invest.* 1997 ; 99(3) : 377-379.
- (85) De Silva AM et al. *Borrelia burgdorferi* OspA is an arthropod-specific transmission-blocking Lyme disease vaccine. *J Exp Med.* 1996 ;183(1) :271-275.
- (86) Weintraub P. *Cure Unknown : Inside the Lyme Epidemic.* New York, NY :St Martin's Press ;2008.
- (87) Anguita J et al. Salp15, an ixodes scapularis salivary protein, inhibits CD4+ T cell activation. *Immunity.* 2002 ; 16(6) :849-859.
- (88) Kubes M et al. Heterogeneity in the effect of different ixodid tick species on human natural killer cell activity. *Parasite Immunol.* 2002 ; 24(1) :23-28.
- (89) Gwakisa P et al. Salivary gland extract of *Rhipicephalus appendiculatus* ticks inhibits in vitro transcription and secretion of cytokines and production of nitric oxide by LPS-stimulated JA-4 cells. *Vet Parasitol.* 2001 ; 99(1) :53-61.
- (90) Montgomery RR et al. Tick saliva reduces adherence and area of human neutrophils. *Infect Immun.* 2004 ; 72(5) :2989-2994.
- (91) Önder Ö et al. OspC is potent plasminogen receptor on surface of *Borrelia burgdorferi*. *J Biol Chem.* 2012 ; 287(20) :16860-16868.
- (92) Henningson AJ et al. Complement activation in Lyme neuroborreliosis – increased levels of C1q and C3a in cerebrospinal fluid indicate complement activation in the CNS. *J Neuroimmunol.* 2007 ; 183(1-2) :200-207.

- (93) Alilato A et al. Complement evasion by *Borrelia burgdorferi* : serum-resistant strains promote C3b inactivation. *Infect Immun*. 2001 ; 69(6) :3865-3891.
- (94) Kraiczy P et al. Complement regulator-acquiring surface proteins of *Borrelia burgdorferi*: Structure, function and regulation of gene expression. *Ticks Tick Borne Dis*. 2013 Feb;4(1-2):26-34.
- (95) Alilato A et al. Complement inhibitor factor H binding to Lyme disease spirochetes is mediated by inducible expression of multiple plasmid-encoded outer surface protein E paralogs. *J Immunol*. 2002 ; 169(7) : 3847-3853.
- (96) Liu J et al. Identification and partial characterization of a Salp15 homolog from *Ixodes ricinus*. *Ticks Tick Borne Dis*. 2014 Apr;5(3):318-22.
- (97) Wasala NB et al. Expression and regulation of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in feeding American dog ticks, *Dermacentor variabilis*. *Exp Appl Acarol*. 2012 Jun;57(2):179-87.
- (98) Vink C et al. Microbial antigenic variation mediated by homologous DNA recombination. *FEMS Microbiol Rev*. 2011: 1574–6976.
- (99) Zhang JR et al. Antigenic variation in Lyme disease borreliae by promiscuous recombination of VMP-like sequence cassettes. *Cell*. 1997; 89(2): 275–285.
- (100) Norris SJ. Antigenic variation with a twist – the *Borrelia* story. *Mol Microbiol*. 2006; 60(6):1319–1322.
- (101) Dresser AR et al. Investigation of the genes involved in antigenic switching at the *vlsE* locus in *Borrelia burgdorferi*: an essential role for the *ruvAB* branch migrase. *PLoS Pathog*. 2009;5(12):e1000680.
- (102) Lin T et al. Central role of the Holliday junction helicase *RuvAB* in *vlsE* recombination and infectivity in *Borrelia burgdorferi*. *PLoS Pathog*. 2009;5(12):e1000679.
- (103) Porcella SF et al. *Borrelia burgdorferi* and *Treponema pallidum*: a comparison of functional genomics, environmental adaptations, and pathogenic mechanisms. *J Clin Invest*. 2001; 107(6): 651–656.
- (104) Liu J et al. Intact flagellar motor of *Borrelia burgdorferi* revealed by cryo-electron tomography: evidence for stator ring curvature and rotor/C-ring assembly flexion. *J Bacteriol*. 2009; 191(16): 5026–5036.
- (105) Sal MS et al. *Borrelia burgdorferi* uniquely regulates its motility genes and has an intricate flagellar hook-basal body structure. *J Bacteriol*. 2008; 190(6): 1912–1921.

- (106) Coleman JL et al. *Plasminogen* is required for efficient dissemination of *B. burgdorferi* in *ticks* and for enhancement of spirochetemia in mice. *Cell*. 1997 Jun 27;89(7):1111-9.
- (107) Xu H et al. Chemoreceptors and flagellar motors are subterminally located in close proximity at the two cell poles in spirochetes. *J Bacteriol*. 2011; 193(10): 2652–2656.
- (108) Zhang K et al. Two CheW coupling proteins are essential in a chemosensory pathway of *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol*. 2012; 85(4): 782–794.
- (109) Parveen N et al. Identification of a candidate glycosaminoglycan-binding adhesin of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol*. 1998; 35(5): 1220–1234.
- (110) Guo BP et al. Decorin-binding adhesins from *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol*. 1998; 30(4): 711–723.
- (111) Probert WS et al. Identification of a 47 kDa fibrinectin-binding protein expressed by *Borrelia burgdorferi* isolate B31. *Mol Microbiol*. 1998; 30(5): 1003–1015.
- (112) Wu RR et al. cDNA cloning of the basement membrane chondroitin sulfate proteoglycan core protein, bamacan: a five domain structure including coiled-coil motifs. *J Cell Biol*. 1997; 136(2):433–444.
- (113) Barthold SW et al. Antibody-mediated disease remission in the mouse model of lyme borreliosis. *Infect Immun*. 2006; 74(8): 4817–4825.
- (114) Halperin J. Nervous system Lyme disease. *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*. 2010;40(3):248-255.
- (115) Fallon BA et al. Inflammation and central nervous system Lyme disease. *Neurobiology of Disease*. 2010;37(3):534-541.
- (116) Elamin M et al. The clinical spectrum of Lyme neuroborreliosis. *Irish Medical Journal*. 2010;103(2):46-49.
- (117) Logigian EL. Peripheral nervous system Lyme borreliosis. *Seminars in Neurology*. 1997 ;17(1) :25-28.
- (118) Meurs L et al. Acute transverse myelitis as a main manifestation of early stage II neuroborreliosis in two patients. *European Neurology*. 2004 ;52(3) :186-188.
- (119) Koc F et al. Lyme disease presenting as subacute transverse myelitis. *Acta Neurologica Belgica*. 2009 ;109(4) :326-329.

- (120) Halperin J et al. Lyme neuroborreliosis: peripheral nervous system manifestations. *Brain*. 1990 ;113(4) :1207-1221.
- (121) Halperin J. Neuroborreliosis. *American Journal of Medicine*. 1995 ;98(4) :52-56.
- (122) Sellati TJ et al. *Borrelia burgdorferi* upregulates expression of adhesion molecules on endothelial cells and promotes transendothelial migration of neutrophils in vitro. *Infection and Immunity*. 1995 ;63(11) :4439-4447.
- (123) Meurers B et al. Histopathological findings in the central and peripheral nervous systems in neuroborreliosis. A report of three cases. *Journal of Neurology*. 1990 ;237(2) :113-116.
- (124) Weller M et al. Cerebrospinal fluid interleukins, immunoglobulins, and fibronectin in neuroborreliosis. *Archives of Neurology*. 1991;48(8):837–841
- (125) Grusell M et al. Increased expression of the Th1-inducing cytokines interleukin-12 and interleukin-18 in cerebrospinal fluid but not in sera from patients with Lyme neuroborreliosis. *Journal of Neuroimmunology*. 2002;131(1-2):173–178.
- (126) Widhe M et al. *Borrelia*-specific interferon- γ and interleukin-4 secretion in cerebrospinal fluid and blood during Lyme borreliosis in humans: association with clinical outcome. *Journal of Infectious Diseases*. 2004;189(10):1881–1891.
- (127) Widhe M et al. Up-regulation of *Borrelia*-specific IL-4- and IFN- γ -secreting cells in cerebrospinal fluid from children with Lyme neuroborreliosis. *International Immunology*. 2005;17(10):1283–1291.
- (128) Grygorczuk S et al. Concentration of interferon-inducible T cell chemoattractant and monocyte chemoattractant protein-1 in serum and cerebrospinal fluid of patients with Lyme borreliosis. *Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku*. 2005;50:173–178.
- (129) Rupprecht TA et al. CXCL11 is involved in leucocyte recruitment to the central nervous system in neuroborreliosis. *Journal of Neurology*. 2005;252(7):820–823.
- (130) Rupprecht TA et al. The chemokine CXCL13 (BLC): a putative diagnostic marker for neuroborreliosis. *Neurology*. 2005;65(3):448–450.
- (131) Ljøstad U et al. CSF B—Lymphocyte chemoattractant (CXCL13) in the early diagnosis of acute Lyme neuroborreliosis. *Journal of Neurology*. 2008;255(5):732–737.

- (132) Wei XH et al. The up-regulation of IL-6 in DRG and spinal horn contributes to neuropathic pain following L5 ventral horn transection. *Experimental Neurology*. 2013;241:159-168.
- (133) Conductier G et al. The role of monocyte chemoattractant protein MCP1/CCL2 in neuroinflammatory diseases. *Journal of Neuroimmunology*. 2010;224(1-2):93-100.
- (134) Gerard C et al. Chemokines and disease. *Nature Immunology*. 2001;2(2):108-115.
- (135) Rasley A et al. Murine glia express the immunosuppressive cytokine, interleukin-10, following exposure to *Borrelia burgdorferi* or *Neisseria meningitidis*. *GLIA*. 2006;53(6):583-592.
- (136) Stricker RB et al. Longterm decrease in the CD57 lymphocyte subset in a patient with chronic Lyme disease. *Ann Agric Environ Med*. 2002 ; 9(1) :111-3
- (137) Nielsen CM et al. Functional Significance of CD57 Expression on Human NK Cells and Relevance to Disease. *Front Immunol*. Dec 9 2013; 4 : 422.
- (138) Stricker RB et al. Decreased CD57 lymphocyte subset in patients with chronic Lyme disease. *Immunol Lett*. 2001 Feb 1 ; 76(1) :43-8.
- (139) Chapy L. Rapport NK CD3- CD57+ / NK CD3- CD56+ lymphocytes and Lyme disease. Annual Meeting of the French Society for Immunology. 2013 (Paris)
- (140) Labo'Life : Nomenclature des médicaments de Micro-immunothérapie. 2013.
- (141) Soutien du système immunitaire dans les infections. Institut 3IDI. 2012.
- (142) Joosten LA et al. Protection against cartilage and bone destruction by systemic interleukin-4 treatment in established murine type II collagen-induced arthritis. *Arthritis Res*. 1999;1(1):81-91. Epub 1999 Oct 26.
- (143) Segyo A. Evaluation immunologique de la formule EID-N dans les infections hivernales de l'enfant. Institut 3IDI.
- (144) Gaia Codolo et al. *Borrelia burgdorferi* NapA–Driven Th17 Cell Inflammation in Lyme Arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. Vol. 58, No. 11, November 2008, pp 3609–3617.
- (145) Marije Oosting et al. *Borrelia* species induce inflammasome activation and IL-17 production through a caspase-1-dependent mechanism. *Eur J Immunol*. January 2011; 41(1): 172–181.

- (146) Nordin Zeidner et al. Suppression of Acute Ixodes scapularis-Induced Borrelia burgdorferi Infection using Tumor Necrosis Factor- α , Interleukin-2, and Interferon- γ . The Journal of Infectious Diseases 1996; 173:187-95
- (147) R. Dean Gillespie et al. Identification of an IL-2 Binding Protein in the Saliva of the Lyme Disease Vector Tick, Ixodes scapularis. The Journal of Immunology, 2001, 166: 4319–4327.
- (148) Pancewicz SA et al. Concentrations of pro-inflammatory cytokines IFN- γ , IL-6, IL-12 and IL-15 in serum and cerebrospinal fluid in patients with neuroborreliosis undergoing antibiotic treatment]. Pol Merkur Lekarski. 2007 Apr ; 22(130) :275-9.
- (149) Zajkowska JM et al. Concentration of soluble CD4, CD8, CD25 receptors as well IFN- γ and IL-4 released by lymphocyte of chronic Lyme patients cultured with 3 genotypes of Borrelia burgdorferi. Pol Merkur Lekarski. 2004 May ;16(95) : 447-50.
- (150) Burns MJ et al. Borrelia burgdorferi and interleukin-1 promote the transendothelial migration of monocytes in vitro by different mechanisms. Infect Immun. Oct 1998; 66(10) : 4875-83.
- (151) Harjacek M et al. Prominent expression of mRNA for proinflammatory cytokines in synovium in patients with juvenile rheumatoid arthritis or chronic Lyme arthritis. J Rheumatol. Feb 2000; 27(2): 497-503.
- (152) Izycka A et al. INF- γ and GM-CSF concentrations in serum of patients with Lyme disease. Pol Merkur Lekarski. Dec 2002; 13(78): 459-61.
- (153) <http://monsysteimmunitaire.fr/>
- (154) La Micro-immunothérapie : Des transmetteurs homéopathiques ont vaincu ma fatigue chronique. Freizeit Revue n°26. 17 juin 2009.
- (155) Dr Peter S. La sclérose en plaque peut être traitée ! Décembre 2009. Témoignage envoyé à des associations allemandes de patients atteints de SEP.
- (156) Marie-Laure Wallon. Autres pistes. Alternative Santé – L'Impatient. Juin 2002. N°290 ; p30.
- (157) M Jenaer et al. Evaluation of 2LHERP in preventing recurrences of genital herpes. British Homeopathic Journal. 2000 ; 89 : 174-177.
- (158) C. Santi, C. Mor. Utilisation de la Micro-immunothérapie à titre de traitement antinéoplasique adjuvant : une étude chez des patients atteints de cancers métastasés. Journal of tumor marker oncology. 2003 ; 18(2) : 105-109.

(159) <http://www.rue89strasbourg.com/index.php/2014/09/23/societe/strasbourg-le-proces-du-traitement-de-la-maladie-de-lyme/>

Bibliographie des figures

- (1) savpeople.com
- (2) <http://usbiologic.com/prevalence>
- (3) http://www.cdc.gov/lyme/resources/ReportedCasesofLymeDisease_2012.pdf
- (4) <http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET-maps-tick-species.aspx>
- (5) <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-transmission-vectorielle/Borreliose-de-lyme/Donnees-epidemiologiques>
- (6) <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-transmission-vectorielle/Borreliose-de-lyme/Donnees-epidemiologiques>
- (7) Figure communiquée par Mme Alvarez Rueda
- (8) <http://www.larousse.fr/archives/grande-encyclopedie/page/63>
- (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) Wall R, Shearer D. Veterinary Ectoparasites : Biology, Pathology and Control. Wiley-Blackwell. Second Edition. 2001:58-75. (figure 16 modifiée)
- (17) <http://www.maladies-a-tiques.com/Allergies.htm>
- (18) carevox.fr
- (19) Figure originale
- (20) http://umvf.univ-nantes.fr/microbiologie/enseignement/microbiologie_1/site/html/5.html
- (21) Rosa PA et al. The burgeoning molecular genetics of the Lyme disease spirochaete. Nat Rev Microbiol. 2005 Feb;3(2):129-43 (figure modifiée)
- (22) <http://www.invs.sante.fr/%20fr/layout/set/print/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-transmission-vectorielle/Borreliose-de-lyme/Points-sur-les-connaissances>
- (23) (24) <http://www.maladies-a-tiques.com/Maladie-de-Lyme.htm>
- (25) lymediseaseguide.org
- (26) lymenet.nl
- (27) drugs.com
- (28) <http://aicheng.cphi-online.com/Products?categories=10461>
- (29) futura-sciences.com
- (30) <http://fr.wikipedia.org/wiki/Tire-tique>
- (31) http://umvf.univ-nantes.fr/semiologie/enseignement/esemio5/site/html/5_3.html

- (32) (33) <http://www.3idi.org>
- (34) homeoclassique.com (figure modifiée)
- (35) monsystemeimmunitaire.fr
- (36) pharmaclic.be
- (37) Module 2 – Les outils biologiques. Institut 3IDI. 2012.
- (38) labtestsonline.fr
- (39) 1001-remedes-naturels.blogspot.com
- (40) Mason et al. Ménage à trois : *Borrelia*, dendritic cells, and tick saliva interactions. *Trends in Parasitology*. February 2014 ;30(2) :99. (figure modifiée)
- (41) Hovius et al. Tick-host-pathogen interactions in Lyme borreliosis. *Trends in Parasitology*. July 2007 ;23(9) :436. (figure modifiée)
- (42) Cervantes et al. Phagosomal TLR signaling upon *Borrelia burgdorferi* infection. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. May 2014 ;4(55) :2. (figure modifiée)
- (43) francelyme.fr

Annexe 1 : Communiqué de presse n°46/05 du 26 mai 2005 « Arrêt de la Cour dans l'affaire C-212/03 »

TRIBUNAL DE JUSTICIA DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS
SODNÍ DVŮR EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ
DE EUROPÆISKE FÆLLESSKABERS DOMSTOL
GERICHTSHOF DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN
EUROOPA ÜHENDUSTE KOHUS
ΔΙΚΑΣΤΗΡΙΟ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ
COURT OF JUSTICE OF THE EUROPEAN COMMUNITIES
COUR DE JUSTICE DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES
CÚIRT BHREITHIÚNAIS NA gCOMHPHOBAL EORPACH
CORTE DI GIUSTIZIA DELLE COMUNITÀ EUROPEE
EIROPAS KOPIENU TIESA



LUXEMBOURG

EUROPOS BENDRIJŲ TEISINGUMO TEISMAS
EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK BÍRÓSÁGA
IL-QORTI TAL-GUSTIZZJA TAL-KOMUNITAJIET EWROPEJ
HOF VAN JUSTITIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN
TRYBUNAŁ SPRAWIEDLIWOŚCI WSPÓLNOT EUROPEJSKICH
TRIBUNAL DE JUSTIÇA DAS COMUNIDADES EUROPEIAS
SÚDNY DVOR EURÓPSKÝCH SPOLEČENSTEV
SODIŠČE EVROPSKIH SKUPNOSTI
EUROOPAN YHTEISÖJEN TUOMIOISTUIN
EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS DOMSTOL

Presse et Information

COMMUNIQUÉ DE PRESSE n°46/05

26 mai 2005

Arrêt de la Cour dans l'affaire C-212/03

Commission européenne / République française

LA PROCÉDURE D'AUTORISATION D'IMPORTATION EN FRANCE DE MÉDICAMENTS À USAGE PERSONNEL, NON RÉALISÉE PAR TRANSPORT PERSONNEL, EST INCOMPATIBLE AVEC LES RÈGLES DU TRAITÉ RELATIVES À LA LIBRE CIRCULATION DES MARCHANDISES

La France n'a pas démontré que des raisons de protection de la santé imposent une procédure d'autorisation préalable pour l'importation d'un médicament homéopathique légalement mis sur le marché de l'État membre d'exportation.

Le code de la santé publique français¹ impose une procédure d'autorisation pour l'importation de médicaments à usage personnel, non réalisée par transport personnel. À la suite d'une plainte, la Commission a examiné la compatibilité de cette procédure avec le droit communautaire et considéré qu'elle était susceptible d'entraver la libre circulation des marchandises. Elle a alors introduit le présent recours devant la Cour de justice des Communautés européennes en visant trois situations d'importations.

Pour les médicaments autorisés en France et dans l'État membre d'achat, le gouvernement français a admis que, selon une pratique administrative, une autorisation d'importation est requise pour certains produits ayant une autorisation de mise sur le marché en France. Néanmoins, cette procédure ne concernerait les demandes des ressortissants d'États membres que dans 1 % des cas. La Cour constate que le simple fait que ces autorisations soient exigées constitue une restriction à la libre circulation des marchandises.

Pour l'importation d'un médicament homéopathique légalement mis sur le marché dans l'État membre d'exportation, la Cour indique que l'exigence d'une autorisation préalable constitue une restriction à la libre circulation des marchandises qui, toutefois, pourrait être justifiée par la nécessité de protéger la santé des personnes.

¹ Articles R. 5142-12 à R. 5142-14 du code de la santé publique français dans leur rédaction alors en vigueur.

La directive 92/73² fixe des règles d'harmonisation relatives à la fabrication, au contrôle et à l'inspection de ces médicaments. Elle distingue entre les médicaments homéopathiques mis sur le marché sans indications thérapeutiques (soumis à une procédure d'enregistrement simplifiée spéciale) et ceux avec des indications thérapeutiques (qui doivent être autorisés conformément aux règles applicables aux médicaments autres qu'homéopathiques). Pour ces derniers, les États membres peuvent introduire ou maintenir des règles particulières pour les essais pharmacologiques, toxicologiques et cliniques des médicaments conformément aux principes et aux particularités de la médecine homéopathique pratiquée dans cet État membre. Or, en l'occurrence, le grief de la Commission ne vise que les médicaments ayant été fabriqués, contrôlés et inspectés conformément aux règles harmonisées et présentant un degré de dilution garantissant leur innocuité. La Cour juge que, **pour l'importation personnelle de tels médicaments, la France n'a pas démontré que des raisons de protection de la santé imposent une procédure d'autorisation préalable.**

Pour les médicaments non autorisés en France, mais autorisés dans l'Etat membre où ils ont été achetés, la Cour relève que la réglementation française dispense d'autorisation leur importation par transport personnel, alors que les règles générales relatives aux autorisations d'importations commerciales sont en principe applicables lorsque l'importation n'est pas réalisée par transport personnel. À cet égard, la Cour indique que si des raisons de protection de la santé peuvent justifier des restrictions à la libre circulation des marchandises, ces mesures doivent respecter le principe de proportionnalité par rapport à l'objectif poursuivi d'assurer la sauvegarde de la santé publique.

En l'occurrence, le gouvernement français n'a pas démontré la nécessité de soumettre ces importations à la procédure d'autorisation exigée pour les importations à des fins commerciales.

Il incombe aux autorités françaises d'adopter une procédure d'autorisation adaptée à la spécificité de ces importations, dont les effets restrictifs sur les échanges communautaires ne vont pas au-delà de ce qui est nécessaire pour atteindre l'objectif poursuivi, facilement accessible et devant pouvoir être menée à terme dans un délai raisonnable. En l'absence de cette réglementation spécifique, **la Cour constate que la France a manqué à ses obligations.**

En conséquence, la Cour conclut au manquement de la France.

² Directive 92/73/CEE du Conseil, du 22 septembre 1992, élargissant le champ d'application des directives 65/65/CEE et 75/319/CEE concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives aux médicaments et fixant des dispositions complémentaires pour les médicaments homéopathiques (JO L 297, p. 8).

Document non officiel à l'usage des médias, qui n'engage pas la Cour de justice.

Langues disponibles : FR, DE, EN

Le texte intégral de l'arrêt se trouve sur le site Internet de la Cour

<http://curia.eu.int/jurisp/cgi-bin/form.pl?lang=fr>

Généralement il peut être consulté à partir de 12 heures CET le jour du prononcé.

Pour de plus amples informations, veuillez contacter Laetitia Chrétien

Tél: (00352) 4303 3205 Fax: (00352) 4303 2034

Nom – Prénoms : GODARD Amandine

Titre de la thèse :

Intégration de la micro-immunothérapie dans la stratégie thérapeutique de la maladie de Lyme.

Résumé de la thèse :

La maladie de Lyme est due aux bactéries du genre *Borrelia*. Cette pathologie est présente dans soixante-trois pays de façon endémique. En France, l'incidence est estimée à 43 cas pour 100 000 habitants sur l'ensemble du territoire. Selon les études, il existe une disparité régionale dans les données d'incidence qui est due en partie à une sous-déclaration de cas prouvés de la maladie. L'érythème migrant est le symptôme emblématique survenant à la suite d'une piqûre de tique. Le diagnostic et la prise en charge thérapeutique lors des phases aiguës sont bien connus du corps médical. En revanche, le diagnostic lors des phases chroniques reste encore difficile à mettre en œuvre. Cette phase de la maladie de Lyme serait due à une modulation du système immunitaire, à la fois par la tique lors de son repas sanguin, mais aussi par la bactérie responsable. C'est pourquoi la micro-immunothérapie, thérapeutique encore peu connue en France, peut jouer son rôle d'adjuvant dans la stratégie de prise en charge. En effet, cette thérapeutique est un mélange d'homéopathie alliée à l'immunothérapie.

L'objectif de ce travail de thèse est tout d'abord de décrire le principe général de la micro-immunothérapie, et d'autre part de montrer son application dans la prise en charge de la maladie de Lyme.

MOTS CLÉS : LYME, BORRELIA, TIQUE, SYSTEME IMMUNITAIRE, MICRO-IMMUNOTHERAPIE

JURY

**PRÉSIDENT : Mr Alain PINEAU, Professeur de Toxicologie
Faculté de Pharmacie de Nantes**

**ASSESEURS : Mme Nidia ALVAREZ-RUEDA, Maître de Conférences de
Parasitologie
Faculté de Pharmacie de Nantes
Mme Lina Jadeau, Docteur en Pharmacie
15 rue Louis Capelle 85200 FONTENAY LE COMTE**

Adresse de l'auteur : 5 impasse de l'école 85120 ST MAURICE DES NOUES