



Le diagnostic au laboratoire

Que prescrire et comment interpréter les résultats?

Dr Carole ELDIN

carole.eldin@ap-hm.fr

MCU-PH en maladies infectieuses et tropicales

2 types de tests

- Tests de détection directe du pathogène
 - Ex: PCR, hémocultures, cultures cellulaires, examen direct



- Tests indirects
 - Sérologies



Examens de laboratoire et Borréliose de Lyme

Borréliose de Lyme

Phase localisée

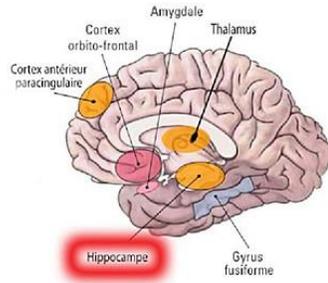


EM

Phase disséminée précoce



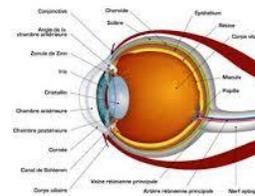
Lymphocytome borrelien



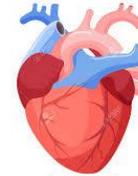
Neuroborréliose précoce



Articulaire

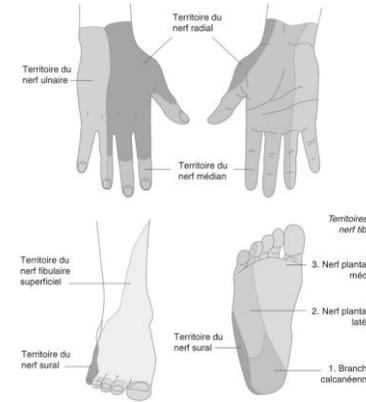


Ophthalmo



Cardio

Phase disséminée tardive



Neuroborréliose tardive



ACA



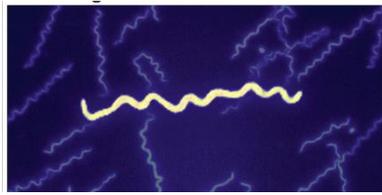
1 semaine

6 semaines

< 6 mois

> 6 mois

Diagnostic: points communs avec les autres spirochètes (*Treponema pallidum*/ *Leptospira*)



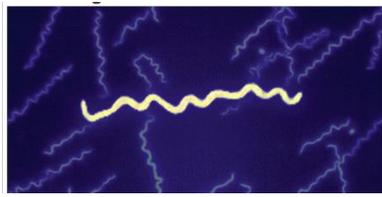
- **Difficultés du diagnostic direct:**

- Microscope à fond noir: nécessite un personnel formé
- Culture: Fastidieuse, (milieu spécial)
- PCR en temps réel: sensibilité acceptable uniquement à la phase précoce de la maladie (EM)

- **Conséquence: place centrale du diagnostic indirect (Sérologie)**

Inconvénients de toutes les sérologies bactériennes

- Réactions croisées
- ≠ des sérologies virales car pool important de gènes communs et de protéines communes entre bactéries (ribosomes, HSP, peptidoglycanes, LPS)
- Exemples:
 - Réactions croisées entre tous spirochètes
 - Réactions croisée Borreliose de Lyme/ Borrélioses récurrentes
 - Cross réactions Coxiella/Legionella/Bartonella
- Pas de ≠ infection active et cicatrice sérologique (IgG)



Les sérologies bactérienne

Risque de faux négatif

Phase précoce de l'infection
(Chancre, EM, bactériémie à
Lepto)

Risque de faux positif

Réactions croisées

Théorème de Bayes

Risque de faux + augmente si
probabilité de la maladie dans
la population est faible

Théorème de Bayes: comment réduire le risque de faux positif?

- Sélection d'une population à forte prévalence de la maladie
 - Ex: Scores diagnostique: Lepto
 - Examen clinique+++++++
 - **Test en deux temps :**
 - 1^{er} test très sensible avec risque de faux positif mais sélectionne une sous population
 - 2^e test plus spécifique
 - Exemple ELISA puis Western Blot pour Lyme

Diagnostic de la borréliose de Lyme: guidelines actuelles?

- Au delà de la polémique médiatique, consensus sur le diagnostic?
- **Revue de la littérature:**
 - 16 Guidelines analysées (France, USA, Canada, Suisse, Belgique, Pologne, Royaume-Uni, Europe)
 - Evaluation méthodologique des guidelines par score de qualité
 - Références citées (1)
 - Méthodologie décrite (1)
 - Lien explicite recommandation/littérature (1)
 - Nombre de sociétés savantes (1)
 - Méthode bibliographique (1)
 - Gradation des recos (1)

Guidelines	References	Method for searching evidence	Systematic search of evidence	Explicit link between recommendation and evidence	Gradation	Single or multiple organism(s)	Total score
SPILF 2006	Yes	No	No	Yes	Yes	Multiple	4
IDSA 2006 United States	Yes	No	No	Yes	Yes	Single	3
British Infection Association 2011	Yes	Yes	No	Yes	No	Single	3
Swiss Infectious Diseases Society 2006	Yes	No	No	Yes	No	Single	2
Canadian Public Health Laboratory Network 2006	Yes	No	No	Yes	No	Single	2
Committee for infectious diseases and vaccinations of the German academy for pediatrics and adolescent health 2012	Yes	No	No	Yes	No	Single	2
German Borreliosis Society 2010	Yes	No	No	No	No	Single	1

Consensus sur le diagnostic pour tous les stades de la maladie

- **Erythème migrant**

- Pas de sérologie car sensibilité entre 40 et 60% à ce stade
- PCR sur biopsie cutanée possible (70% de sensibilité)

- **Lymphocytome borrélien**

- Sérologie en deux temps: sensibilité 70 à 95%
- Biopsie pour anapath et PCR

- **Neuroborréliose**

- Ponction lombaire: pléiocytose production intrathécale d'Anticorps (Sensibilité 100% après 8 semaines, 80% avant 6 semaines)
- Si précoce, répéter sérologie dans le sang et le LCR

Suspicion clinique	Sérologie ELISA	Sensibilité sérologie	Spécificité sérologie	PCR	Autres examens utiles
Piqûre de tique	Pas d'intérêt	/	/	/	Non
Erythème migrant	Non recommandée	IgG : 36% IgM : 42%	IgG : 96% IgM : 95%	PCR biopsie cutanée : Sensibilité 35-81%	PCR biopsie cutanée
Neuroborréliose précoce < 6 semaines	IgG + IgM	67-85%	92-97%	PCR LCS : Sensibilité variable	Synthèse intra-thécale (index Ac) Cytologie du LCS (lymphocytose)
Neuroborréliose semi-précoce 6 semaines - 6 mois	IgG + IgM	90-99%	92-97%	PCR LCS: Pas d'intérêt	Synthèse intra-thécale Cytologie du LCS (lymphocytose)
Neuroborréliose tardive > 6 mois	IgG	99%	92-97%	PCR LCS: Pas d'intérêt	/

Consensus sur le diagnostic pour tous les stades de la maladie

- **Atteinte articulaire**
 - Sérologie
 - PCR sur liquide synovial
- **Atteinte cardiaque et ophtalmo**
 - Sérologie
- **Acrodermatite chronique atrophiante**
 - Sérologie
 - Biopsie cutanée

Review

Methodological Quality Assessment with the AGREE II Scale and a Comparison of European and American Guidelines for the Treatment of Lyme Borreliosis: A Systematic Review

Steve Nguala ¹, Elisabeth Baux ², Solène Patrat-Delon ³, Florian Saunier ⁴, Julien Schemoul ⁵, Pierre Tattevin ³, Céline Cazorla ⁴, Carole Eldin ^{6,7}, Kevin Bouiller ^{8,9} and Alice Raffetin ^{1,10,*}

- Même résultats
- Guidelines homogènes concernant le traitement
- Niveaux de preuve modérés
- Doxy/C3G 10 à 28 jours en fonction des stades
- Seule outsider: ILADS

Interprétation de la sérologie

- ELISA positif WB négatif = Sérologie négative
- Positivité en IgM au WB:
 - Au moins 2 bandes parmi:
 - -p24 (OspC), p39 (BmpA) and p41 (flagellin) souche américaine
 - -p41 et p17 souche Européenne
- Positivité en IgG au WB:
 - Au moins 5 bandes positives
- **IgM isolées plus de 6 semaines après la piqure= faux positif**

Examens de laboratoire et autres MVT

Borrélioses récurrentes à tiques

Incubation environ 7 jours après la piqure

Début Brutal Frissons Fièvre Céphalées Arthralgies Myalgies
(Spirochétémie+++)

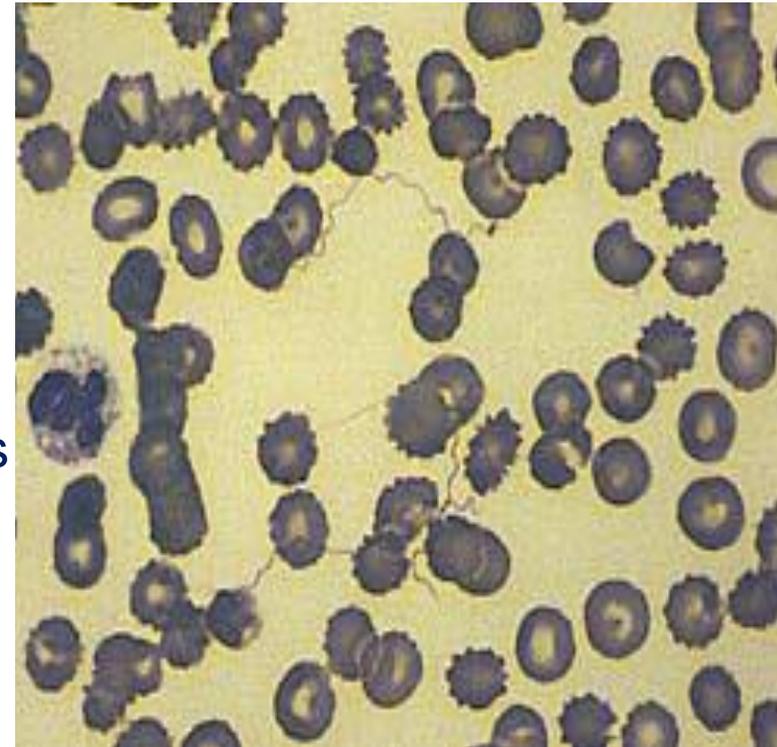
Durée du 1er épisode: 3 jours en moyenne (jusqu'à 15)

Puis défervescence .

Intervalles sans fièvre de 7 j en moyenne

3 récurrences en moyenne (jusqu' à 15)

Formes sévères possibles avec atteintes neurologiques
(Méningites, méningo encéphalites)



RELAPSING FEVER BORRELIAE

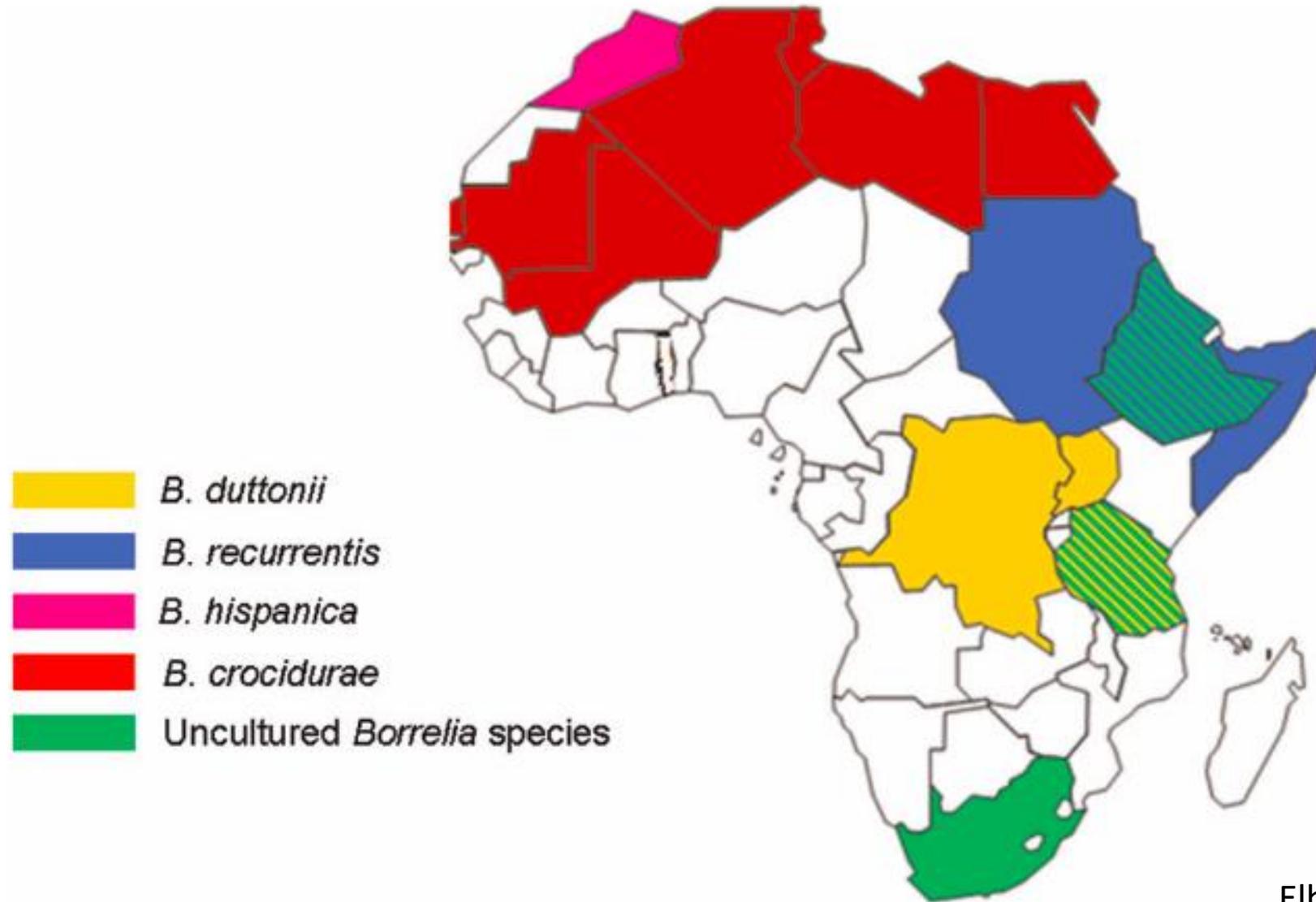


FIGURE 1. Geographical distribution of African relapsing fever of the *Borrelia* species.

Elbir et al. Relapsing Fever Borreliae in Africa
AJTMH 2013

Borrélioses récurrentes à tiques

- Peu d'intérêt de la sérologie (séroconversion après la phase aiguë et peu de tests commercialisés standardisés)
- Frottis sanguin
- PCR spécifique sur tube EDTA



Figure 3. Frottis sanguin coloré au May-Grünwald-Giemsa : mise en évidence de *Borrelia recurrentis* (collection personnelle du Dr Jacques Sevestre).

MISE AU POINT

Moins connues que la maladie de Lyme, les borrélioses récurrentes sont transmises par des tiques ou des poux. Elles sont à l'origine de tableaux cliniques parfois sévères.

Borrélioses et fièvres récurrentes

Alice Raffetin*
Solène Patrat-Delon**
Céline Cazorla***
Pierre Tattevin**
Carole Eldin#

Au sein du genre bactérien des *Borrelia*, on distingue plusieurs espèces. Certaines sont responsables d'un tableau clinique

tions sanitaires sont défavorables et propices à l'infestation par les poux de corps (guerre, famine, promiscuité, surpeuplement, manque d'hygiène...). Le pou vit dans les



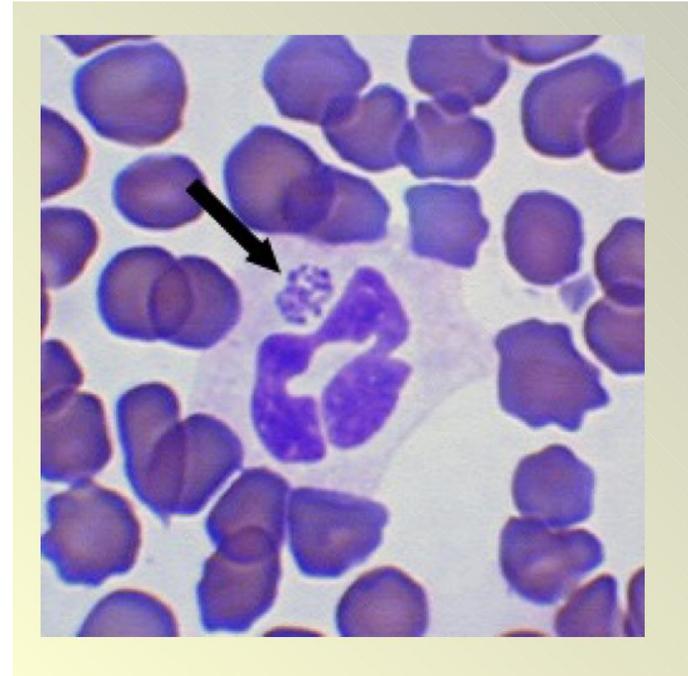
Rickettsies du groupe boutonneux

- Meilleur échantillon: escarre d'inoculation
- Biopsie pour PCR culture, IHC
- Ou écouvillon pour PCR!!
- Sérologie possible, mais confirmation diagnostique tardive



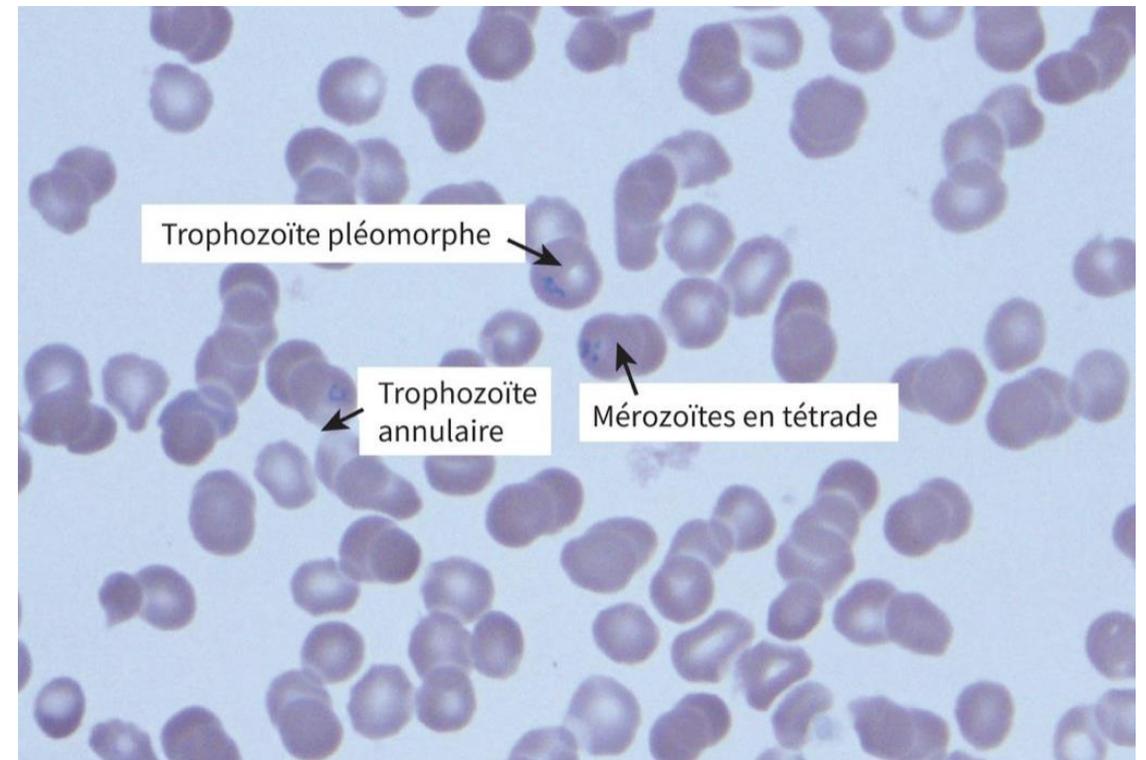
Anaplasmosse/Ehrlichiose

- Frottis sanguin
- Sérologie: tardive (séroconversion à 4 semaines)
- PCR sur sang



Babésiose

- Maladie parasitaire transmise par les *Ixodes*
- Fièvre anémie hémolytique
- Sévère chez ID
- Frottis sanguin
- PCR sur tube EDTA
- Sérologie? Peu d'intérêt en dehors de symptômes typiques



Quelques situations cliniques fréquentes...

- **Mme P** 39 ans, cadre dans une Start-up, mariée 3 enfants
- Asthénie, troubles de la concentration, douleurs articulaires d'horaire mécanique
- Piqûre de tique lors d'une randonnée dans les Vosges il y a 3 ans
- Examen clinique : T°: 37,5°C, FC: 80/min, TA: 130/70, examen cutané et articulaire normaux
- Résultats de Sérologie Lyme: IgM positifs (en ELISA et en WB à 3 bandes) IgG négatifs (ELISA et WB) il y a 6 mois et il y a 48H
- **INTERPRETATION????**
- **FAUX POSITIF EN IGM**

Quelques situations cliniques fréquentes...

- Patiente de 29 ans, vit à Marseille mais vacances tous les ans en Lorraine, pas de notion de piqûre de tique
- Consulte pour amimie et douleur MI droit d'aggravation progressive depuis 3 semaines
- A l'examen: diplégie faciale, douleur à type de brûlure de trajet radiculaire MI droit
- CAT?
- **Sérologie Lyme sang et PL pour sérologie dans le LCR (recherche synthèse intrathécale)**
- **Résultats: IgM et IgG positives dans le sang avec présence de synthèse intrathécale**
- **Neuroborréliose**

Quelques situations cliniques fréquentes...

- Mme F 54 ans, 2 piqûres de tiques retrouvées lors d'une ballade dans les Vosges il y a 3 mois, patiente effectuant de nombreux séjours dans cette région où elle a grandi
- **ATCDS:** arthrose de hanche, dépression
- Asthénie et arthralgies des 2 hanches d'horaire mécanique depuis 3 semaines dans un contexte de prise de poids récente
- L'examen clinique à la consultation est sans particularité
- Elle vous montre ses sérologies Lyme réalisées en ville sur prescription du médecin traitant dans le bilan d'asthénie, elle est très inquiète

- Sérologie maladie de Lyme:
 - ELISA: positive en IgG, négative en IgM
 - WB: positif 6 bandes en IgG, négative en IgM
- Conclusion: sérologie positive en IgG pour la maladie de Lyme

Que faites Vous?

Quelques situations cliniques fréquentes...

- Mme S 30 ans est adressée par son médecin traitant pour une maladie de Lyme en « échec thérapeutique »
- Elle vit à Marseille, et présente à l'examen une fièvre à 39°C
- Elle dit avoir été piquée par une tique il y a 15 jours
- Son médecin traitant l'a mise sous amoxicilline devant un syndrome fébrile survenant à J6 de la piqûre associée à une sérologie Lyme retrouvant des IgM en ELISA, négative en WB, mais les symptômes se sont aggravés sous cette antibiothérapie avec apparition d'une éruption maculo-papuleuse

Quel est votre diagnostic clinique?



Comment le confirmer-vous?



Merci de votre attention

Carole.eldin@ap-hm

