

Les méthodes diagnostiques lors de La maladie de Lyme

Pr Christian PERONNE

**Chef du service des maladies infectieuses
Hôpital Raymond-Poincaré,
Garches (92)**

Maladie de Lyme et maladies apparentées. Méthodes diagnostiques en 2014

- **Christian Perronne**
- *Infectiologie*
- *Hôpital Universitaire Raymond Poincaré (AP-HP)*
- *UFR des Sciences de la Santé Simone Veil*
- *Université de Versailles – St Quentin en Yvelines*
- *92 Garches*

Tique



Difficultés pour le clinicien

- La piqûre de tique est très souvent méconnue ou ancienne
- L'érythème migrant est souvent méconnu ou non diagnostiqué en tant que tel

Erythème migrant



**Acrodermatite
chronique
atrophiante (ACA)
= Syndrome
de Pick – Herxheimer :
Pathognomonique
du Lyme**



Aspects cliniques de la maladie de Lyme

- Peut tout simuler
- La « Grande simulatrice » comme l'était la syphilis

Sérologie, PCR, culture

- Assous Med Mal Infect 2007 ; Agüero-Rosenfeld Infect Dis Clin N Am 2008 ; Remy Med Mal Infect 2007

Sensibilité :	Sérologie	PCR	Culture
❖ Erythema migrans	20 à 50%	Peau 50 à 64%	50 à 88%
❖ Formes précoces	70 à 90%	Sang 10 à 18%	
❖ Neuroborréliose	42 à 90%	LCR 5 à 38%	10 à 30%
❖ Arthrites	60 à 100%	Liq. syn. 37 à 97%	
❖ Acrodermatite chronique atrophiante	33 à 86%	60 à 90%	20 à 60%

Maladie de Lyme

- Le diagnostic repose essentiellement sur la sérologie
- Conséquences :
 - Malades sous-diagnostiqués
 - Epidémiologie sous-estimée

Sérologie ELISA : sensibilité variable selon le test

- ❑ Marangoni J Med Microbiol 2005
3 tests ELISA du commerce différents
Sensibilité pour les mêmes sérums : 36,8% à 70,5% !
- ❑ De Marteno Med Mal Infect 2007
Comparaison de 14 kits ELISA pour le diagnostic de neuroborréliose
Sensibilité varie de 20,9 à 97,7% !
- ❑ Ang Eur J Microbiol Infect Dis 2011
Comparaison de 8 tests ELISA et de 5 Western blots
Sensibilité des IgM et/ou IgG varie de 34 à 59% !

Sérologie de la maladie de Lyme

- Aguero-Rosenfeld Infect Dis Clin N Am 2008
- **Le diktat de Boston :**
- **ELISA** : sonicat de la souche historique B31 de *Borrelia burgdorferi*
- **Recommandations : test en 2 étapes**
 - ❖ Première étape : ELISA
 - ❖ Si positif, confirmation par Western blot (IgG et IgM)
- **Interdiction officielle de faire le Western blot si ELISA négatif !**

Tests diagnostiques de la maladie de Lyme

- Agüero-Rosenfeld Infect Dis Clin N Am 2008

La précision des tests est impossible à mesurer par absence d'une référence pour étalonner

Clinique non fiable

Culture ou PCR peu sensible

Calibration des tests sérologiques

- Grande variabilité des tests commerciaux
- Beaucoup de tests utilisés il y a quelques années n'existent plus
- Les nouveaux tests se calibrent sur les plus anciens sans revoir les méthodes d'évaluation de la sensibilité et de la spécificité

Calibration des tests sérologiques

- Absence de définition claire des populations de « malades » et de « témoins »
- Grandes incertitudes sur les valeurs prédictives positives et négatives

Sensibilité des ELISA : mesurée chez des donneurs de sang en bonne santé (dans chaque région)

European concerted action on Lyme borreliosis (EUCALB)

- ❑ **La valeur seuil du test** est choisie pour éviter d'avoir plus de 5% de donneurs de sang séropositifs pour le Lyme
- ❑ Décision d'experts, pragmatique il y a 30 ans
- ❑ **Ce seuil devrait impérativement être revu**

Cas confirmés de maladie de Lyme à sérologie négative

- ❑ Fait établi dans la littérature depuis 30 ans
- ❑ Y compris dans les journaux médicaux majeurs

Ecosse : amélioration de la sensibilité de la sérologie

- Mavin J Clin Microbiol 2007 ; Mavin J Clin Pathol 2009
- En utilisant pour les tests des souches locales écossaises :
 - ❖ *Borrelia burgdorferi* sensu stricto
 - ❖ *Borrelia afzelii*

Epidémiologie au moment de la Conférence de consensus

- Lyme (pour 100 000 habitants par an)

■ France :	9,4
Alsace :	86 à 200
■ Allemagne :	37,3
■ Suède :	69
■ Angleterre :	0,32
■ USA :	8,2

Lyme en Europe

- Incidence en hausse forte, alors que les tests diagnostiques n'évoluent pas
- Les médecins y pensent davantage

Une modification écologique



Incidence of Lyme borreliosis in France 2011

- **43 cas pour 100 000 habitants par an**
(contre 9,4 pour 100 000 il y a quelques années)
- **Incidence élevée (> 100 pour 100 000)**
 - Alsace, Meuse
- **Incidence intermédiaire**
 - Champagne-Ardennes, Auvergne, Franche-Comté, Limousin, Rhône-Alpes
- **Incidence basse (< 50 pour 100 000)**
 - Centre, Basse Normandie, Aquitaine

Incidence of Lyme borreliosis in Europe 2010

Rizzoli et al. Eurosurveillance 2011, 16

- Accurate description impossible
- No plan to monitor at the European level
- Non standardized case criteria
- Uncoordinated systems of data collection
- Clinically diagnosed cases (including erythema migrans) under or not reported
- Criteria for serologies not standardized
- Great heterogeneity

Incidence of Lyme borreliosis in Europe 2010

Rizzoli et al. Eurosurveillance 2011, 16

- Incidence ranges
 - from 1 case per 100 000 inhabitants per year
 - to 350 per 100 000
- Some hotspots > 100 per 100 000 :
 - Slovenia, Germany, Austria, Baltic coastline of Southern Sweden, Estonian and Finish islands

2011 : le CDC d'Atlanta revoit les définitions de cas

- Le Western blot peut suffire +++
IDSA, EUCALB, CNR Strasbourg,
CNAM : exigent toujours l'ELISA positif !
- Possibilité de déclarer des cas certains
mais aussi des cas probables

Août 2013. CDC d'Atlanta

- Le Lyme est reconnu 10 fois plus fréquent aux USA
- 300 000 cas par an
Contre 30 000 cas par an au cours des 10 années précédentes
- « Lyme disease = a tremendous public health problem in the United States »

Impasse diagnostique

Faut-il attendre l'autopsie ?

**Alzheimer's disease – a
neurospirochetosis, analysis of
the evidence following Koch's
and Hill's criteria**

Judith Miklossy

International Alzheimer Research Center

Martigny-Combe, Suisse

J. Neuroinflammation, 2011, 8, 90

Spirochètes identifiés dans le cerveau des Alzheimer

- ***Borrelia burgdorferi* : 25,3% des cas, 13 fois plus que dans les cerveaux témoins**
- **Dans les autres cas : Tréponèmes non syphilitiques présents dans les périodontites**
Treponema pectinovorum, T. amylovorum, T. lecithinolyticum, T. maltophilum, T. medium, T. socranskii
- **Co-infection** avec plusieurs spirochètes possible

Analogies entre neurosyphilis (paralysie générale) et neuroborréliose de Lyme

Judith Miklossy
Open Neurology J. 2012, 6

- Similitudes cliniques, histologiques entre les deux maladies à spirochètes

Cas confirmés de maladie de Lyme à sérologie négative

- ❑ Fait établi dans la littérature depuis 30 ans
- ❑ Y compris dans les journaux médicaux majeurs

Acceptation du concept de Lyme séro-négatif par les cliniciens

- Variable selon les spécialités
- Beaucoup de médecins convaincus qu'il y a beaucoup plus de « faux positifs » (donc de « faux malades ») que de « faux négatifs »
- Rhumatologie : presque jamais de cas séronégatifs reconnus
- Neurologie : accepté pour les formes aiguës sévères (traitement antibiotique d'épreuve)

Neuro-borréliose de Lyme

- Blanc Neurology 2007
- **Sécrétion intrathécale d'anticorps (IAI)** nécessaire pour confirmer le diagnostic en Europe, pas aux USA !
- **Sensibilité de la sécrétion intrathécale :** 55 à 80%
- **Absence de gold standard :** propose des critères pragmatiques
- **Diagnostic nécessite 4 critères :**
 - ❖ Pas d'antécédent de neuroborréliose
 - ❖ ELISA positif dans le LCR
 - ❖ Sécrétion intrathécale d'anticorps positive
 - ❖ Réponse favorable à un traitement antibiotique d'épreuve
 - ❖ Pas d'autre diagnostic

Neuro-borréliose de Lyme chez l'enfant

Bennet Infection 2008 (Suède)

- **Sécrétion intrathécale d'anticorps anti-*Borrelia*** : 71% des enfants
(proportion encore plus faible aux USA qu'en Europe)
- **Sérologie positive dans le sang** : 23% des enfants !

Objectiver des anomalies

Troubles cognitifs (tests objectifs)

IRM

Potentiels évoqués

Lymphopénie

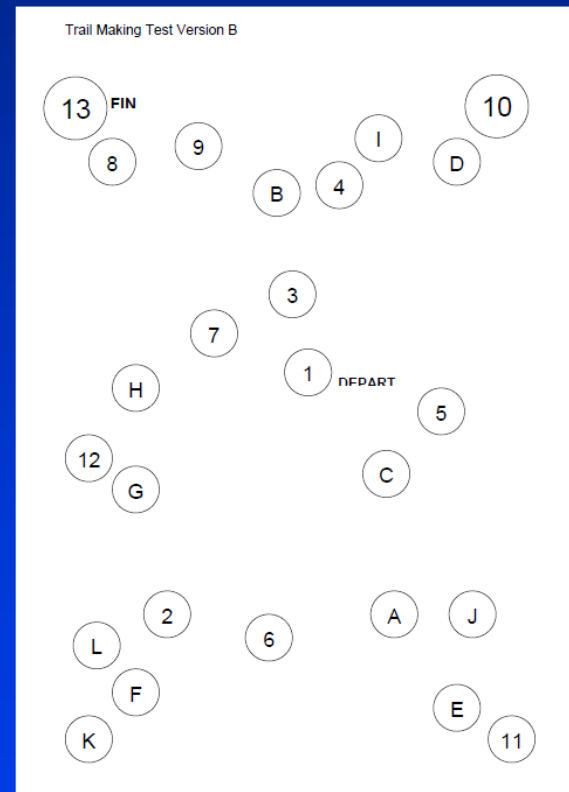
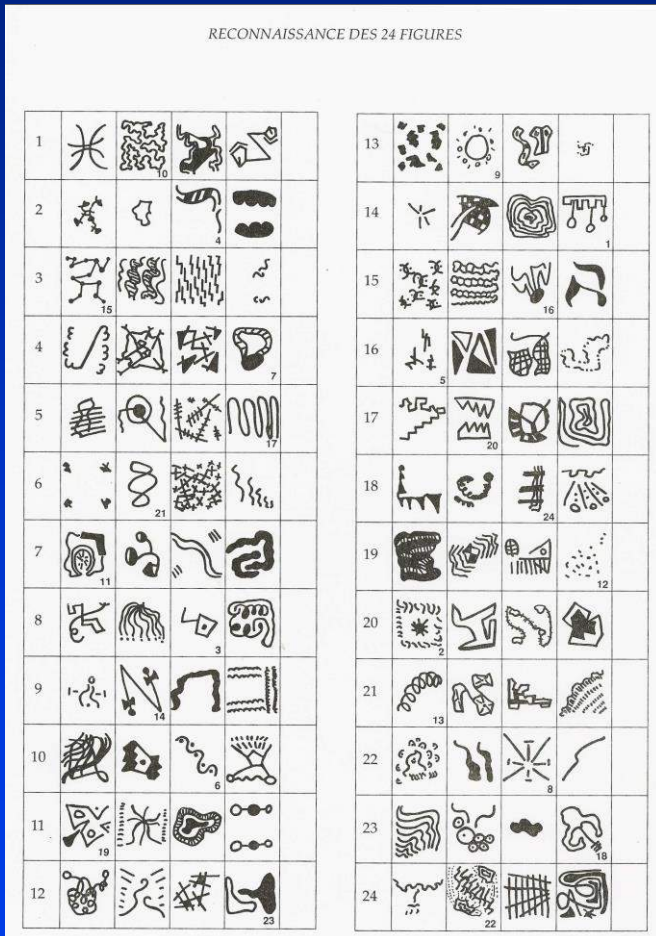
Ponction lombaire

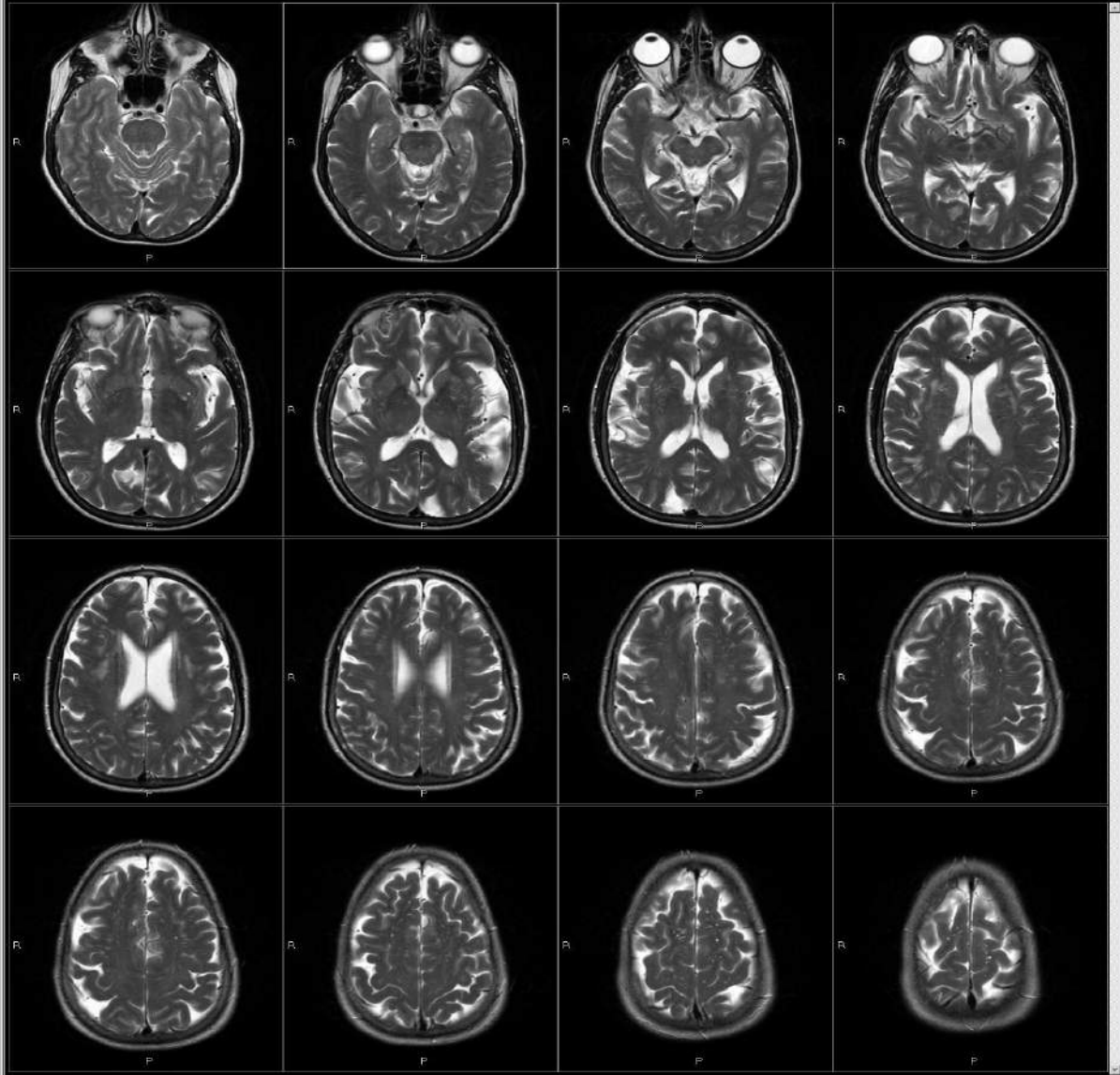
SPECT scan

Débit sanguin cérébral

Bilan neuro-cognitif Garches

Roche-Lanquetot et al. Med Mal Infect 2008





Maladie Lyme-like au Brésil

- Maganvoni et al.
- Signes et symptômes identiques
- Bactérie spiralée au microscope à fond noir (culture impossible)
- Non identifiée à ce jour (non *Borrelia*)
- Sérologie Lyme toujours négative

Microscope à fond noir

- Sur une goutte de sang (frottis)
- Possibilité de filmer
- Spirochètes mobiles



Espèces de *Borrelia* responsables de maladies de Lyme ou Lyme-like

- *Borrelia burgdorferi sensu lato*
 - *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (Amérique du Nord, Afrique du Nord, Europe, Asie)
(diversité génétique)
 - *B. afzelii*
 - *B. garinii* (plusieurs sérotypes)
 - *B. bavariensis* (ex *B. garinii* OspA serotype 4)
- *Borrelia lonestari* (Amérique du Nord)
- *Borrelia miyamotoi* (Asie, Europe, Amérique du Nord)
Aussi responsable de fièvres récurrentes
- Spirochète non identifié (Brésil) Microscope à fond noir

Autres espèces de *Borrelia* appartenant au complexe *B. burdorferi* sensu lato

- Pathogénicité inconnue au faiblement documentée
 - *B. japonica*, *B. sinica*, *B. lusitaniae* (vascularite ?),
B. carolinensis, *B. turdi*, *B. tanukii*, *B. californiensis*,
B. yangtze
- Isolées occasionnellement chez des malades symptomatiques (Lyme-like)
 - *B. spilmanii* (cutané), *B. andersonii*, *B. bisettii*,
B. valaisiana, *B. kurtenbachii*, *B. americana*

Lyme : Physiopathologie

- ***Borrelia burgdorferi***

- > 1500 gènes ; > 132 gènes fonctionnels
(*Treponema pallidum* : 22 gènes fonctionnels)
- 1 chromosome linéaire + 21 plasmides (*Chlamydomonada* : 7 plasmides)
- Permet une réponse rapide aux changements d'environnement

- **Induit une infection latente ou symptomatique**

- Effets immunodépresseurs
- Variation :
 - généétique
 - de phase (idem : trypanosome, VIH)
 - antigénique
- Fibronectine (comme streptocoques et staphylocoques)
- Formes dormantes (idem : mycobactéries)
- Formes kystiques (échappe aux antibiotiques, cycles)
- Tubules des cellules eucaryotes = tubules de spirochètes
- Survie extracellulaire + intracellulaire

- ***B. burgdorferi* échappe au système immunitaire**

Co-infections après piqûres de tique

- Wormser N Engl J Med 2006
- Lyme précoce aux USA :
 - ❖ 2 à 12% des patients ont aussi une **anaplasmose granulocytaire**
 - ❖ 2 à 40% des patients ont aussi une **babésiose (piroplasmose)**

Other human tick-borne infections

- **Parasites**

- *Babesia divergens*, *B. microti*

- **Bacteria**

- *Ehrlichia chaffeensis* (USA)
- *Anaplasma phagocytophilum* (Europe)
- *Rickettsia* sp., *Coxiella burnetii*
- *Francisella tularensis*
- ***Candidatus Neoehrlichia mikurensis***

- **Viruses**

- Several *Flaviviridae* (including Tick-borne encephalitis virus)
- *Bunyavirus* (Crimean-Congo hemorrhagic fever)

Borrelia sp. et autres microbes

- Nouvelles générations de PCR (amplification génique)
- Nouvelles techniques génomiques de séquençage à haut débit, pyroséquençage

PCR améliorée

Lee et al. Int J Med Sci 2014, 15

- Milford Hospital, Connecticut
- « Proper » PCR
- Pair of genus-specific PCR primers
- Detect all pathogenic spirochetes
- Prepares templates for DNA sequencing

PCR améliorée

Lee et al. Int J Med Sci 2014, 15

- *Borrelia burgdorferi*
- *Borrelia miyamotoi* (sérologie Lyme négative)
- Une nouvelle *Borrelia* (pas encore nommée)
 - apparentée aux *Borrelia* responsables des fièvres récurrentes
 - épitopes communs avec *B. burgdorferi* (la sérologie peut croiser)
 - plus résistante aux antibiotiques
- Différentes *Borrelia* possibles chez un même malade

Techniques microbiologiques innovantes

- Les vétérinaires ont une longueur d'avance

High throughput sequencing reveals unexpected bacteria in French ticks

Vayssier-Taussat et al. PLOS One 2013, 8

- *Anaplasma phagocytophilum*
- *Bartonella henselae*, *B. grahamii*
- *Borrelia afzelii*, *B. burgdorferi*, *B. miyamotoi*
- *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*
- *Ehrlichia canis*
- *Rickettsia canadensis*, *R. felis*, *R. helvetica*

Autres co-infections pouvant jouer un rôle

- ❑ *Mycoplasma, Chlamydia*
- ❑ *Toxoplasma gondii*
- ❑ *Leishmania*
- ❑ HHV-6, EBV, CMV





EN PARTENARIAT AVEC CHRONIMED ET LE G.R.A.I.N

MALADIES CHRONIQUES : LA PISTE INFECTIEUSE !

Un exemple : la maladie de Lyme

Pr Christian PERONNE
Chef du service des maladies infectieuses
Hôpital Raymond-Poincaré,
Garches (92)

