

# **QUELS TESTS BIOLOGIQUES POUR LE DIAGNOSTIC DE LA BORRELIOSE DE LYME ?**

## **A L'INTENTION DE LYME SANS FRONTIERES**

**Viviane SCHALLER** Pharmacien biologiste

**Chantal BAUMERT** Professeur de Biologie Médicale

Sommaire :

### **INTRODUCTION**

## **1. TECHNIQUES INDIRECTES : RECHERCHE D'ANTICORPS**

### **1.1. METHODE QUALITATIVE ELISA**

- 1.1.1. PRINCIPE DU TEST ELISA :
- 1.1.2. EVOLUTION DES TECHNIQUES ELISA
- 1.1.3. LIMITES DU TEST ELISA
- 1.1.4. « SPOTIMMUNOASSAY » SIA

### **1.2. METHODES QUALITATIVES WESTERN-BLOT**

- 1.2.1. PRINCIPE DU TEST W.B :
- 1.2.2. LIMITES DU TEST WBLOT AVEC AG «RECOMBINANTS »:
- 1.2.3. COMPTE-RENDU DES RESULTATS

## **2. TECHNIQUES DIRECTES : RECHERCHE D'ANTIGENES**

- 2.1. POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) OU AMPLIFICATION GENIQUE
- 2.2. SEQUENCAGE A HAUT DEBIT (SHD)
- 2.3. OBSERVATION MICROSCOPIQUE

## **3. APPRECIATION DE LA REPOSE IMMUNITAIRE**

- 3.1. SURVEILLANCE DES CELLULES NK
- 3.2. TEST DE TRANSFORMATION DES LYMPHOCYTES « TTL»

INTRODUCTION :

Plusieurs grandes familles de tests sont à la disposition des biologistes pour le diagnostic de la Borréliose.

\*On dispose de 2 types de tests :

-les **tests indirects** qui détectent les anticorps (Ac) dans le sérum, le liquide céphalorachidien, le liquide de ponction. Ce sont les « techniques sérologiques » qui témoignent de la réponse immunitaire de l'organisme infecté par *Borrelia*. Ce sont les tests les plus courants. Comme les tests **ELISA** et le **WESTERN-BLOT**.

-les **tests directs** qui détectent les antigènes (Ag), l'ADN des *Borrelia*, ou les bactéries elles-mêmes : par **PCR, SHD, observation microscopique**.

\*On peut, en complément, faire appel à des tests appréciant la réponse immunitaire du patient.

**La plupart des techniques sérologiques sont qualitatives**

Elles permettent la détection globale d'un type d'anticorps (Ac) à partir d'un antigène (Ag) fixé sur un support :

**Aspects généraux d'une technique indirecte**

Pour cela on capture l'Ac à l'aide d'un Ag choisi et inclus dans le test, puis on révèle le complexe (Ag-Ac) avec un marqueur capable de produire un signal mesurable. Ce signal était initialement l'émission de radio activité (radio immunoassay = RIA), actuellement remplacé par une activité enzymatique (enzyme-linked-immuno-sorbent-assay= ELISA), ou une fluorescence (immuno fluorescence = IF)

Ce sont des tests de réalisation simple, donc peu coûteux. Leur valeur est liée à la qualité de l'Ag qui doit composer entre 2 valeurs : la sensibilité et la spécificité.

La **sensibilité** et la **spécificité** varient d'une technique à une autre, donc influent sur le choix de la technique retenue.

Pour un **dépistage** on cherche à avoir très peu de faux négatifs, c'est pourquoi une technique plus sensible sera valorisée.

Inversement pour une **confirmation**, on cherche à avoir très peu de faux positifs, ainsi une technique plus spécifique conviendra mieux.

***La sensibilité est la probabilité que le test soit positif si la maladie est présente.***

Elle est déterminée sur une population de patients dont on sait qu'ils sont porteurs de la maladie parce qu'ils ont subi un test de référence. Elle est définie par la proportion (%) de

patients qui ont la maladie recherchée et dont le test est +, donc par la proportion de patients porteurs de la maladie que le test détecte vraiment +.

La sensibilité des tests va de 30 à 100 %. Mais il est parfois difficile de faire la distinction entre une contamination ancienne, qui a été traitée avec succès ou s'est résolue d'elle-même et une infection active car les IgG (et les IgM) peuvent persister plusieurs années après la guérison.

Une mesure de la sensibilité s'accompagne toujours d'une mesure de la spécificité.

***La spécificité est la probabilité d'obtenir un test négatif chez les non-malades.***

Elle est déterminée sur une population de patients dont on sait qu'ils ne sont pas porteurs de la maladie. Elle est définie par la proportion (%) de patients non malades et dont le test est négatif donc par la proportion de patients non malades que le test détermine correctement comme de vrais négatifs.

Dans l'idéal un test doit être sensible et spécifique.

Ensemble, la sensibilité et la spécificité d'un test donnent une appréciation de sa validité intrinsèque. Prises séparément, elles ne veulent rien dire.

Par exemple, un test avec une sensibilité 95 % n'a aucune valeur si sa spécificité n'est que de 5 %. Dans cet exemple, le test est simplement positif chez 95 % des individus sans aucune corrélation avec la maladie. En effet, si la somme de la sensibilité et de la spécificité est égale à 100 % le test est sans aucune association avec la maladie.

Le concept de sensibilité et de spécificité est utilisé pour les tests dichotomiques (oui/non, positif/négatif, etc.) alors que beaucoup de mesures de laboratoire donnent une valeur continue.

Souvent, ces 2 critères sont contradictoires et il faut ajuster **le seuil**, comme un curseur, pour avoir soit le maximum de l'un, soit le maximum de l'autre, soit un compromis choisi entre les deux. En clair, si l'on veut détecter tous les malades, on va aussi détecter les non malades. C'est le principe d'un dépistage large, tel qu'il est pratiqué pour le HIV, avec nécessité d'un test de confirmation. Le test de confirmation est estimé trop coûteux pour être fait systématiquement et écarter d'emblée les faux positifs. A l'opposé, si on veut ne détecter que des malades, on va forcément en exclure certains.

C'est principalement ce point d'achoppement qui entretient la polémique actuelle

**Le seuil** d'un test est la valeur à laquelle on décide qu'il devient positif, il influence sa sensibilité et sa spécificité. Ainsi, si on abaisse ce *seuil*, le test sera plus sensible mais moins spécifique. La valeur de ce seuil dépend grandement de l'utilisation que l'on veut faire du test.

Les tests *très sensibles* sont surtout utiles pour s'assurer qu'une maladie *n'est pas présente* (peu de faux négatifs \*) alors que ceux qui sont *très spécifiques* sont utiles pour s'assurer qu'une maladie *est bien présente* (peu de faux positifs\* \*).

**Importance du seuil :**

Les tests qualitatifs (et non quantitatifs !) ELISA répondent positif ou négatif en fonction du seuil. On comprend l'importance de la fixation de ce seuil. Les critères à partir desquels il est fixé restent cependant obscurs, avec un évident effet curseur pour obtenir le résultat statistique recherché sur une population générale!

**(1) Or, pour établir ce seuil, le seul critère retenu par les experts est basé sur un pourcentage de 5% maximum de gens pouvant être atteints de la borréliose de Lyme dans une population générale, pourcentage qui caractérise une « maladie rare ». Ce critère est dépassé dans la réalité : la borréliose de Lyme est devenue une pandémie.**

#### **Interprétation :**

Les résultats des tests sérologiques doivent toujours être interprétés en prenant en compte

- le type de test utilisé
- ses performances intrinsèques (sensibilité, spécificité)
- ses performances extrinsèques (valeurs tenant compte de la prévalence de la maladie dans une population donnée)
- le stade de la maladie
- la probabilité que le patient ait bien cette maladie. Cette probabilité est à évaluer en fonction de la probabilité d'exposition du patient à des piqûres de tiques, et de la nature de ses signes (sont-ils évocateurs d'une borréliose de Lyme ?).

#### **Remarque:**

**Le WB est plus fiable que le test ELISA car plus spécifique.** Malheureusement, certains spécialistes assurent que plus de la moitié des tests ELISA restent négatifs même en cas d'infection. Or la confirmation par WB n'est demandée qu'en cas d'ELISA positif ou équivoque, ce qui pourrait priver un grand nombre de patients d'un diagnostic sérologique fiable et les abandonner avec leurs symptômes.

#### **\* Faux négatifs:**

- Les tests réalisés dans la phase précoce de la maladie au cours des premières semaines après la piqûre infectante (érythème migrant), seront donc souvent négatifs. Les anticorps IgM apparaissent 1 à 2 semaines après l'infection, avec un pic autour de la quatrième ou cinquième semaine. Les anticorps IgG apparaissent plus tardivement après l'infection (de 6 à 8 semaines).
- Si une personne a reçu des antibiotiques avant une sérologie, la réponse immunitaire a pu être supprimée si bien que cette personne peut avoir un ELISA et un WB négatifs, même en cas d'infection réelle.
- De même un traitement à la cortisone déprime le système immunitaire et les anticorps n'apparaîtront pas.

#### **\*\* Faux positifs :**

Les tests peuvent être faussement positifs si le patient est infecté par un autre agent qui induit la production d'anticorps contre des antigènes proches de ceux produits lors d'une infection par *Borrelia* (réaction croisée, exemple avec la syphilis, autre spirochète) ou par un agent stimulant la production anticorps contre un grand nombre d'antigènes par exemple lors d'infection à *Mycoplasme pneumoniae*, Cytomégalovirus, virus Epstein-Barr) ou si le

patient souffre d'une maladie auto-immune. On qualifie alors ce résultat de "réaction croisée". Les anticorps se trompent de cible antigénique

## 1. Techniques indirectes : recherches d'anticorps

### **Application aux borrélioses de Lyme**

Les tests sérologiques enzymatiques (ELISA) ou par Immunofluorescence(IF) existent pour les borrélioses de Lyme, avec malheureusement peu de bibliographie sur leur pratique quotidienne. Les tests IF ont été abandonnés au profit des tests ELISA (plus sensibles, automatisables, donc plus facile à réaliser en série), alors qu'ils sont considérés comme plus spécifiques et plus reproductibles pour le suivi !

### 1.1. METHODE QUALITATIVE ELISA :

Enzyme LinkedImmunoSorbentAssay - technique qualitative-

N.B. le CNR des Borrelia de Strasbourg affirme que le test ELISA est un test «quantitatif» (qui indique la quantité d'Ac développés par le malade) ce qui est contredit par la notice du fabricant) **(2)**.

#### **1 .1.1. PRINCIPE DU TEST ELISA :**

Test évaluant la présence d'Ac dans le sérum du patient. Ces Ac sont mis en présence des Ag fixés en excès dans des cupules, qui sont des protéines issues des Borrélios. Lavage pour éliminer les éléments non fixés. On rajoute un anti-Ac (Ac\*) marqué avec une enzyme E. Cet Ac\* va se fixer sur l'Ac présent dans le sérum. Lavage. Pour mettre en évidence l'ensemble de la réaction Ag+Ac+Ac\*, on rajoute un substrat réagissant avec l'enzyme E : apparait une substance fluorescente (ombelliférone), témoin de la réaction en chaîne, donc de la présence de l'Ac anti-Borrelia dans le sérum.

**AG +AC +AC\* + SUBSTRAT = FLUORESCENCE\***

- l'intensité du signal de fluorescence est proportionnelle à la quantité d'Ac présente dans le sérum.

## **1 .1.2. EVOLUTION DES TECHNIQUES ELISA :**

### **a) METHODES ANCIENNES :**

- On recherche 1 mélange d'immunoglobulines (Ig) : IgM + IgG

- On utilise 1 seul Ag selon le choix du fabricant :

Le fabricant Biomérieux a choisi l'Ag *Borrelia burgdorferi* souche B 31 (variété américaine) - Les protéines immunogènes sont des Ag inactivés de *Borrelia burgdorferi* souche B31

D'autres fabricants ont choisi la variété Ag *B.afzelli*, ou d'autres variétés.

Or, il existe une quinzaine de variétés européennes qui ne sont pas dépistées par le test ELISA. **(3) (6)**

Il peut être opportun de préciser que ce test fait appel à la variété *B.burgdorferi* relative essentiellement à la borréliose de Lyme américaine, et non aux autres borrelies *B. afzelli* *B. garinii*, *B. spielmanii*, *B.bavariensis*, *B. burgdorferi*, correspondant aux formes européennes. C'est pourquoi ce test doit être interprété avec circonspection. **(4)**

Conclusions :

**(1)** En France la maladie de Lyme est toujours considérée comme une « maladie rare » atteignant moins de 5% de la population, malgré toutes les preuves qui attestent le contraire au niveau international. Le seuil de positivité du test Elisa est basé sur cette donnée erronée.

**(2)** La notice du fabricant Biomérieux précise en introduction : « Vidas Lyme IgG/IgM (LYT) (réf 30298) est un test « qualitatif » automatisé de la famille Vidas, permettant la détection simultanée des immunoglobulines G et M anti *Borrelia burgdorferi* sensu lato dans le sérum ou le plasma humain »

**(3)** Dans sa notice d'utilisation du test, le fabricant lui-même émet des réserves quant aux résultats positifs ou négatifs en précisant que : « les résultats obtenus grâce aux méthodes de détection d'Ac ne permettent pas d'établir ou de réfuter de façon définitive le diagnostic d'une maladie de Lyme. Les résultats négatifs obtenus avec le test Vidas Lyme IgG and IgM n'excluent pas la possibilité d'une infection par B.burgdorferi. Les patients au stade précoce de la maladie ou sous antibiothérapie peuvent produire des Ac de type anti-IgG et/ou anti- IgM en quantité trop faible pour pouvoir être détectés. C'est pourquoi des patients présentant des antécédents ou des symptômes de la borréliose de Lyme, mais dont les résultats sont négatifs, doivent entrer dans la catégorie des personnes ne présentant pas d'Ac anti B.burgdorferi en quantité détectable.»

**(4)** « les symptômes cliniques, les données épidémiologiques, les résultats d'autres tests doivent être pris en considération au moment de l'interprétation du résultat » toujours selon la notice du fabricant.

#### **b) METHODES PLUS RECENTES :**

- Les IgM et les IgG sont dosées séparément, par 2 dosages distincts.
- Plusieurs Ag sont utilisés, provenant de Borréliaburgdorferi, B.afzelli, B.garinii

Ces Ag sont des protéines « recombinantes »

DbpA et OsPC pour la recherche des IgM,

VlsE ,DbpA , et OspC pour la recherche des IgG.

#### **1 .1.3. LIMITE DU TEST ELISA:**

##### **a) FAUX NEGATIFS**

-si le stade est précoce, les Ac ne sont pas encore formés

-Si le stade est chronique, les Ac ont chuté (immunodépression)

- Un traitement antibiotique ou corticoïde fait chuter les Ac
- Les Ag utilisés dans le test ne correspondent pas forcément aux Ac du patient
- la quantité d'Ac est trop faible pour être détectée
- le seuil de détection lui-même est trop élevé et arbitraire **(1) (8)**.

## **b) FAUX POSITIFS**

Par réactions croisées **(7)** avec :

Syphilis,  
Leptospire,  
HélicobacterPylori,  
E.B.V.  
C.M.V.  
Herpès  
CRP  
F. Rhumatoïde  
Ac anti nucléaires  
Lupus érythémateux disséminé.

Conclusions :

Cette nouvelle version ELISA présente les mêmes écueils que l'ancienne version ELISA. **(1) (3) (4)**

**(5)**La notice du fabricant Biomérieux précise en introduction que Vidas Lyme IgM (LYM) (réf. 30 319) et Vidas Lyme IgG (LYG) (réf. 30 320) est un test « qualitatif », automatisés sur les instruments de la famille Vidas » contrairement aux affirmations du CNR des Borrelia de Strasbourg qui parle d'un test « quantitatif ».

**Remarque : Consensus applicable en France**

La Conférence de Consensus de décembre 2006 recommande:



**« La démarche au diagnostic sérologique comprend en première intention une recherche des Ac spécifiques par une technique de dépistage Elisa.**

**En cas de résultat négatif et en accord avec la nomenclature de Biologie Médicale, il n'y a pas lieu de la confirmer.**

**Dans la situation où le résultat au test de dépistage est positif ou DOUTEUX, il doit toujours faire l'objet d'un test de confirmation par Immunoempreinte».**

N.B. tout patient qui demande un WBlot peut le faire réaliser à ses frais malgré la réponse négative du test de dépistage Elisa. Les laboratoires d'analyses ne refusent plus de le faire depuis quelque temps.

#### **1.1.4. « SPOTIMMUNOASSAY » SIA :**

##### **Principe du test**

Le test SIA permet la détection des Ac Anti-borrelia IgM et des Ac Anti-borrelia IgG spécifiques.

Sur un support circulaire sont fixés 10 Ag recombinants VlsE(B.afzelli)/ P39(B.afzelli)/ P58(B.garinii)/ P100(B.afzelli)/ OspC(B.afzelli)/ OspC (B.garinii) / OspC (B.burgdorferi s.s.)/P18 (B.afzelli) /P18 (B.garinii) / P18 (B.burgdorferi s.s.) et 6 spots de contrôle.

Un Ac\* marqué avec une enzyme va se fixer sur l'Ac, réagir avec un substrat correspondant à l'enzyme, pour donner une coloration bleue. La présence d'Ac spécifiques IgM et/ ou IgG dans le sérum ou le plasma est mise en évidence par l'apparition de spots sur le support, dont la coloration va du bleu pâle au bleu foncé, suite à la réaction Ag-Ac-Ac\* à l'endroit des 16 spots de réactions + témoins.

##### **Avantage du test**

Il utilise 10 Ag recombinants ayant une grande spécificité, il comprend 5 contrôles. Cette technique est comparable à un Western-Blot pour sa sensibilité et sa spécificité.

## **Conclusion**

Ce test est en principe utilisé pour confirmer un test Elisa de dépistage.

### **1.2. METHODES QUALITATIVES WESTERN-BLOT**

Le W.Blot fait appel à 15 Ag issus de différentes parties du corps bactérien, et provenant de plusieurs variétés de Borrélie.

#### **1.2.1. W.B. faisant appel à des Ag « natifs »**

Ce WBlot est utilisé actuellement par le CNR des Borrelia de Strasbourg.

Les Ag sont issus de la culture d'une seule souche de Borrélie:

- B.burgdorferi B31 (avant)
- B. Garinii souche IBS 6 (Actuellement)

Cette souche unique est traitée par lyse puis extraction des protéines Antigeniques Immunogènes

18,22,28,32,34,39,41,47,50,55,60,66,75,83,100 kDa.

Le résultat est considéré comme (+) si 4 bandes ou plus de réaction Ag-Ac en IgM ou IgG apparaissent.

#### **Limite du test WB avec Ag «natifs »:**

Ag « natifs » produits par extraction des différentes protéines immunogènes à partir d'un lysat bactérien peut entraîner une dénaturation des chaînes d'acides aminés avec perte de la spécificité des Ag face aux Ac correspondants recherchés dans le sérum. Ce qui peut entraîner:

- des réactions croisées = faux positifs, **(6)**
- une absence de réaction = faux négatifs. **(6)**

**Conclusion :**

**(6) Le WBlot par Ag « natifs » utilisé par le CNR des Borrelia de Strasbourg devrait être abandonné : c'est un test de confirmation du test de dépistage ELISA mais qui passe à côté du diagnostic dans de nombreux cas puisqu'il fait appel à une seule souche de Borrelia, contrairement à d'autres WBlot plus récents qui testent plusieurs variétés de Borrelies, celles qui sont les plus courantes dans nos régions.**

### **1.2.2. WB faisant appel aux Ag « recombinants » :**

Nous avons fait appel au réactif Mikrogen – All-Diag.

Les Ag «recombinants» sont produits par génie génétique, à partir de cultures d'Escherichia coli programmées pour synthétiser en grande quantité de copies strictement identiques au modèle initial, c'est à dire l'exacte reproduction en 3 dimensions des séquences d'acides aminés (environ 250) constituant les protéines bactériennes les plus « immunogènes ».

15 protéines ou Ag «recombinants» sont copiés à partir de 5 souches de borrelies :

- **P100** (afzelli)
- **VLSE** (burgdorferi, afzelli, garinii)
- **P58** (garninii)
- **P41** (burgdorferi)
- **P39** (afzelli)
- **OsPA** (afzelli)
- **OsPC**(burgdorferi, afzelli, garinii, spielmanii)
- **P18** (burgdorferi, afzelli, bavariensis, garinii, spielmanii)

Composition de ces protéines et leurs valeurs prédictives :

- **P100**: protéine cytoplasmique d'apparition tardive.

- **VLSE**: lipoprotéine responsable d'une grande partie de leur pathogénicité/ immuno dominante dans la réponse IgG, dominant les autres marqueurs.

- **P58**: protéine moins spécifique.

- **P41**: flagelline constituant du flagelle.

- est la moins spécifique

- sa composition a des similitudes avec la myéline

- reconnu à la phase initiale: EM (érythème migrant).

- IgM P41 persiste tant que la maladie est évolutive.

-**P39**: protéine de membrane très spécifique.

- **OSPC**: Outer Surface Protéine C

- est la plus spécifique

- à la phase précoce : EM - neuroborréliose.

- OspC est immunodominante en IgM

- OSPC IgM dans phase persistante évolutive.

- **OSPA**: OuterSurface Protéine A.

- **P18**: protéine de surface externe d'apparition tardive en IgG,

Exception : apparition précoce de la P18 dans les neuroborrélioses.

### **1.2.2.1. Limite du test WBlot avec Ag «recombinants»:**

- le seul cas de « faux positif » est la primo-infection de mononucléose (EBV) pouvant interférer avec les IgM par stimulation immunologique poly clonale (plusieurs clones de lymphocytes).

- Du fait de l'utilisation d'Ag recombinants: il n'y a pas de réactions croisées.

- Ce sont les variétés de Borrélioses les plus courantes dans nos régions, sachant qu'il existe plus de 15 variétés pathogènes.

#### **1.2.2.2. Compte-rendu des résultats :**

##### **1.2.3.1. En tenant compte de l'organotropisme préférentiel selon l'espèce de borrelie:**

- B.burgdorferi: Articulaire, cardiaque.
- B.afzelli: Peau, muqueuse, articulaire.
- B.garinii/B.bavariensis: Neurologique.
- B.spielmanii: articulaire.

#### **1.2.2.3. Résultat par lecture optique (à l'œil nu) :**

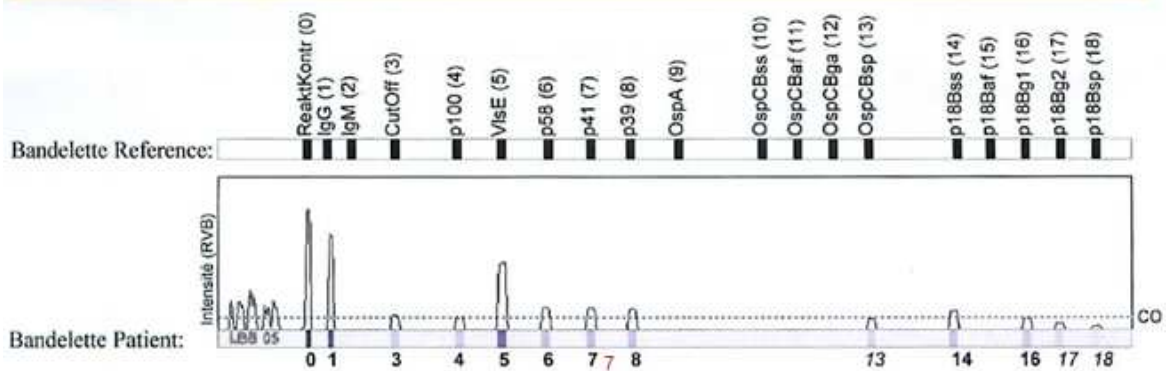
- 1) absence de réaction: pas de bande visible
- 2) intensité sous le « cut-off » : positif +/-
- 3) intensité = au « cut-off » : positif +
- 4) intensité sup. au « cut-off » : positif ++
- 5) intensité forte: positif +++
- 6) Négatif ou équivoque:
  - Immunité effondrée
  - Borrélioses camouflées
  - Autres variétés de B. concernées.
  - Faire traitement d'épreuve et refaire sérologie après 3mois

#### **1.2.2.4. Résultat par lecture laser :**

Les bandes sont soumises à un lecteur laser qui transforme le spot coloré en un signal de hauteur, de valeur proportionnelle à l'intensité de coloration, donc à la quantité d'Ac spécifiques : le « cut-off » a une valeur de 1,0

- sont en-dessous du « cut off » les valeurs de 0,0 à 0,9
- sont supérieures au « cut-off » les valeurs de 1,1 à 3,0

### Bandelette et Diagramme



Lecture laser chiffrée des bandes réactives :

Cut off 1,0

P100 1,0 / VlsE 3,1 / P58 1,2 / P41 1,2 / P39 1,1 / OspC spielmanii 1,0 / P18 burgdorferi 1,1/ P18 garinii 1,0 / P18 bavariensis 0,6 / P18 spielmanii 0,2

#### 1.2.2.5. Résultat selon la valeur particulière de chaque Ac :

IgM seul : - infection récente, ou

- infection réactivée, ou
- persistante, active, évolutive.

IgG seul: - infection chronique ou

- cicatrice sérologique.

IgM + IgG: - chronique persistante, évolutive.

- ou réinfestation sur infection ancienne.

Ac P100/P58/P39/P18 : Infection stade tardif.

(Sauf P18 IgG dans neuroborréliose)

Ac VLSE : signe de pathogénicité des borrelies.

#### **1.2.2.6. Score statistique du W.B.**

1. Une valeur statistique attribuée à chaque Ag:

IgM : P100: 5 / VLSE : 5 / P58 : 4 / P41 : 1/ P39 : 4    OsPA : 5/ OspC : 8 /P18 : 5 points.

IgG: idem sauf P39 : 5 / OspC : 5 points

2. Calcul mathématique statistique établi selon des études cliniques parallèles.

Réponse finale exprimée en total des points:

- inf. à 5 points : Ac « non décelables ».
- de 5 à 6 points : score équivoque, à contrôler.
- sup. à 6 points: sérologie positive.

#### **1.2.2.7. Conclusion :**

Le WBlot avec Ag « recombinants » est le meilleur test sérologique disponible. Il exige une interprétation fine des résultats de chacun des 15 spots sur chacune des 2 bandes IgM et IgG, que l'on peut corréler avec les symptômes cliniques.

D'après le rapport du HCSP de décembre 2014:

- Page 29 :« Le nombre de réactifs correspondant aux recommandations mentionnées en termes de sensibilité (études sur les 3 phases cliniques caractéristiques) et de spécificité (90% pour les tests de dépistage et 95% pour les tests de confirmation) est de 14/32 pour les réactifs IgG et IgM sur sérum type ELISA, et de 9/13 pour les WESTERN BLOT (Immunoblot) ».

Pourtant la SPILF (Société de Pathologies Infectieuses de Langue Française) continue d'affirmer que : « les tests Elisa utilisés en première intention ... permettent de détecter plus de 90% des patients au cours des formes tardives ». « Les espèces de Borrelia qui ne seraient pas détectées par ces tests sont très minoritaires » et qu'«en cas de test Elisa négatif, la réalisation d'un test WB n'apporte rien».

Ces affirmations sont fermement contredites par le rapport du HCSP, qui constate que :

« Des défauts ont été mis en évidence sur les éléments suivants :

-la composition du réactif est imprécise : elle ne permet pas de savoir si celui-ci est bien adapté aux souches européennes de Borrelia **(6)**

- les études de performances sur tous les types d'échantillons revendiqués (LCR et sang total) sont incomplètes ou inexistantes ;

- les études de sensibilité avec manque d'informations sur la sélection des patients en fonction des 3 stades cliniques caractéristiques de la borreliose ;

- les études de comparaison avec un autre réactif sont absentes ou incomplètes ;

- les études de spécificité sur la population adaptée à l'usage du réactif (Europe) sont absente ou incomplètes ;

-les réactions croisées et interférences sont parfois citées mais peu évaluées **(8)**

-la variation d'établissement du cut-off (seuil de positivité) d'où une importante variabilité du rendu des résultats. **(9)**»

-Page 32 :« Le taux de bonnes réponses fourni par le WESTERN BLOT est toujours supérieur ou égal à 95%. Une stratégie d'utilisation du WB en première intention nous a été proposée. ... Des cas séronégatifs sont en fait des patients dont la réponse anticorps mesurée par les tests ELISA est négative et la détection de cette même réponse par WB est positive. Cela renforce donc l'idée d'une stratégie diagnostique différente de celle préconisée par le



référentiel européen, de réaliser d'emblée le WB même en cas de sérologie négative. » N.B. Le référentiel européen (EUCALB) est représenté par la SPILF, le CNR des borrelia de Strasbourg, rédigé dans le « consensus 2006 ».

- C'est toujours l'anamnèse et le développement de symptômes spécifiques qui restent prépondérants, puis la situation clinique présente avec l'ensemble des symptômes, qui permettront en définitive de juger de « l'activité » de l'infection ainsi que de la nécessité d'une thérapie.