

# Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

**Bactériologie**

**14BAC2**

**Novembre 2014**

**Identification bactérienne et antibiogramme : *Staphylococcus aureus mecA+*  
et *Staphylococcus epidermidis mecA+*  
Sérologie de la borréliose de Lyme**

**Octobre 2015**

Christophe de CHAMPS (Reims)  
Muriel FROMAGE (Ansm)  
Benoît JAULHAC (Strasbourg)  
Gérard LINA (Lyon)

Expédition : 5 novembre 2014

Clôture : 1 décembre 2014

Edition des compte-rendus individuels : 16 avril 2015

Paramètres contrôlés :

**Identification et antibiogramme** *Staphylococcus aureus mecA+* et *Staphylococcus epidermidis mecA+*  
**Sérologie de la borréliose de Lyme**

Nombre de laboratoires concernés\* : 1181

Nombre de laboratoires participants\*\* : 1135

\* Laboratoires ayant déclaré à l'Ansm pratiquer au moins une des analyses concernées par l'envoi

\*\* Laboratoires ayant saisi leurs résultats sur internet avant la date de clôture de l'opération

## Résumé de l'opération

Cette opération de contrôle comportait deux souches de staphylocoques lyophilisées pour identification et antibiogramme : *Staphylococcus epidermidis mecA+* et *S. aureus mecA+*.

En ce qui concerne *S. epidermidis*, le pourcentage d'identification exacte (91,9%) est le meilleur obtenu à ce jour. Il s'agissait d'une souche Méti-R, détectée comme telle par 97% des laboratoires. Les résistances associées aux fluoroquinolones, à la gentamicine, au cotrimoxazole, à l'acide fusidique et au linézolide ont également été mises en évidence par l'ensemble des participants. En revanche, la sensibilité diminuée aux glycopeptides (CMI teicoplanine : 8 mg/l) n'a pas été détectée par un tiers des laboratoires. Les recommandations du CA-SFM 2014 indiquent que pour tous les staphylocoques, la détermination de la sensibilité aux glycopeptides ne doit plus être réalisée par diffusion en milieu gélosé (méthode des disques), mais par la mesure de la CMI. Cependant, on observe que l'utilisation, par 159 participants, de bandelettes pour préciser la CMI de la teicoplanine sur cette souche a conduit à 41% de résultats  $\leq$  4 mg/l susceptibles d'être catégorisés à tort « sensible ».

L'identification de *S. aureus* n'a pas posé de problème avec 99,6% de diagnostics exacts, ce qui représente pour cette espèce bactérienne le meilleur score obtenu à ce jour. Il s'agissait d'une souche *mecA+*, résistante à la méticilline détectée par 97,7% des laboratoires, soit 5,4% de plus par rapport à l'envoi précédent en 2010 d'un *S. aureus mecA+*.

Cette opération de contrôle de contrôle comportait également trois échantillons lyophilisés (L1, L2, L3), chacun accompagné d'un cas clinique, destinés au sérodiagnostic de la borréliose de Lyme.

A l'exception de l'érythème migrant typique, le polymorphisme clinique de la borréliose de Lyme implique un recours très fréquent à la sérologie afin de confirmer l'hypothèse diagnostique. Par conséquent, les pièges et les limites de cette sérologie doivent être connus des biologistes qui interprètent les résultats et peuvent être amenés à en discuter avec le prescripteur ou le patient. C'est pourquoi, en plus des résultats positifs ou négatifs rendus par les réactifs pour les trois échantillons, les laboratoires participants devaient répondre à un questionnaire abordant différents thèmes tels que l'utilité d'une sérologie de dépistage, d'un Western-blot, d'un traitement antibiotique, d'une sérologie de contrôle post-traitement, etc ... en fonction de trois cas cliniques ciblés et des résultats sérologiques obtenus pour chacun.

En ce qui concerne la sérologie de dépistage, les performances des réactifs utilisés dans les laboratoires sur les trois échantillons proposés sont très satisfaisantes aussi bien en IgG qu'en IgM. En revanche, la confirmation d'un dépistage positif (vrai positif ou faux positif dû à une réaction croisée en dépistage) par immuno-empreinte est plus délicate car l'interprétation des bandes présentes dépend des instructions données dans les notices des réactifs et des biologistes. Enfin, les réponses obtenues aux questionnaires ont permis de détecter quelques notions importantes encore ignorées par un pourcentage non négligeable de biologistes ; ce qui a été une aide précieuse dans l'élaboration des recommandations ministérielles à venir, à destination des biologistes d'une part (Borréliose de Lyme : diagnostic biologique) et des médecins d'autre part (Borréliose de Lyme : comment la reconnaître et la diagnostiquer ?).

# Identification et antibiogramme

## Définition des échantillons

Deux échantillons contenant chacun une souche de staphylocoque lyophilisée (*Staphylococcus epidermidis mecA* + ou *Staphylococcus aureus mecA* +) ont été proposés. Il était demandé aux laboratoires participants d'identifier la souche isolée et de tester sa sensibilité vis-à-vis de 14 antibiotiques définis.

En complément de l'antibiogramme standard, les participants devaient répondre par « oui » ou par « non » à la question suivante : « Est-ce que la souche testée est résistante à la méticilline ? » tout en précisant la(les) méthode(s) utilisée(s) dans leur laboratoire pour détecter ce type de résistance.

Les laboratoires ayant identifié un *Staphylococcus aureus* devaient également répondre à la question suivante : « Est-ce que la souche testée est de sensibilité diminuée aux glycopeptides ? »

De plus, les laboratoires qui utilisent la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques) devaient préciser les diamètres d'inhibition obtenus pour cinq antibiotiques : céfoxitine, gentamicine, érythromycine, vancomycine et teicoplanine.

Enfin, les laboratoires qui réalisent la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de la daptomycine, de la vancomycine et de la teicoplanine devaient reporter les résultats obtenus.

Les numéros d'échantillons attribués à chaque souche ainsi que les renseignements cliniques qui les accompagnaient sont rapportés dans le tableau I. En ce qui concerne l'antibiogramme, les résultats des experts - Pr G. LINA, Lyon, Pr C. de CHAMPS, Reims - obtenus pour chacune de ces deux souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé sont présentés dans les tableaux II et III. La détermination des CMI lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-Test et/ou par microdilution en milieu liquide (méthode de référence).

tableau I - définition des deux échantillons

Bactérie	N° des échantillons	Renseignements cliniques
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	151, 278, 370, 429, 539, 600, 711, 863.	Bactérie isolée de 2 flacons d'hémoculture aérobie prélevés le même jour à la même heure, l'un par ponction veineuse périphérique, l'autre au cathéter, après 24 heures de fièvre, chez un patient de 15 ans traité en cancérologie.
<b><i>Staphylococcus epidermidis</i></b>	113, 296, 461, 642, 684, 805, 877, 902.	

tableau II - antibiogramme *Staphylococcus aureus* (*mecA* +) : résultats des experts

Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis
Pénicilline G	R	R
Céfoxitine	R	R
Gentamicine	S	S
Fluoroquinolone *	R	R
Cotrimoxazole	S	S
Vancomycine	S	S
Teicoplanine	S	S
Rifampicine	S	S
Erythromycine	R	R
Lincosamide **	R	R
Streptogramine ***	S	S <sup>(a)</sup>
Acide fusidique	S	S
Linézolide	S	S
Daptomycine	S	S

\* : réponse pour cipro-, lévo-, oflo-, péflo- et norfloxacine, \*\* : réponse pour clinda- et lincomycine, \*\*\* : réponse pour pristinamycine et quinupristine/dalfopristine

(a) : *erm(A)* +, phénotype MLS<sub>B</sub> constitutif, activité bactéricide réduite.

**tableau III** - antibiogramme *Staphylococcus epidermidis* (*mecA* +) : résultats des experts

Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis
Pénicilline G	R	R
Céfoxitine	R	R
Gentamicine	R	R
Fluoroquinolone *	R	R
Cotrimoxazole	R	R
Vancomycine	S	S
Teicoplanine	R	R <sup>(a)</sup>
Rifampicine	S	S
Erythromycine	R	R <sup>(b)</sup>
Lincosamide **	R	R
Streptogramine ***	S	S <sup>(c)</sup>
Acide fusidique	R	R
Linézolide	R	R
Daptomycine	S	S

\* : réponse pour cipro-, lévo-, oflo-, péflo- et norfloxacine, \*\* : réponse pour clinda- et lincomycine, \*\*\* : réponse pour pristinamycine et quinupristine/dalfopristine

(a) : souche de sensibilité diminuée aux glycopeptides

(b) : CMI (E-test) = 4 mg/l

(c) : pristinamycine : réponses S ou R selon le réactif utilisé. CMI = 1 mg/l, CMI quinupristine/dalfopristine = 0,25 mg/l

## Résultats des participants

En ce qui concerne l'identification, les résultats obtenus pour chacune des deux souches sont rassemblés dans le tableau IV. Les résultats obtenus lors des deux envois précédents sont rapportés dans les tableaux V et VI.

**tableau IV** - identification d'un staphylocoque : résultats des participants

Réponse attendue	Genre exact				Genre faux	Total identifications
	espèce exacte	espèce fausse	espèce non précisée	Total		
<b><i>S. aureus</i></b>	530 (99,6%)	1 (0,2%)	1 (0,2%)	532 (100%)	-	532
<b><i>S. epidermidis</i></b>	491 (91,9%)	24 (4,5%) <sup>(a)</sup>	17 (3,2%) <sup>(b)</sup>	532 (99,6%)	2 (0,4%)	534

(a) : dont 18 « *S. hominis* »

(b) : « staphylocoque coagulase négative »

**tableau V** - bilan des trois opérations de contrôle « *S. aureus* ».

Année	Effectif	Espèce exacte (%)	Espèce fausse (%)	Espèce non précisée (%)	Genre exact (%)
2014	532	99,6	0,2	0,2	100
2012	768	99,1	0,5	0,1	99,7
2010	1389	98,9	0,9	0,2	100

**tableau VI** - bilan des trois opérations de contrôle « *S. epidermidis* ».

Année	Effectif	Présentation *	Espèce exacte (%)	Espèce fausse (%)	Espèce non précisée (%)	Genre exact (%)
2014	794	M	91,9	4,5	3,2	99,6
1997	1890	P	71	17	10	98
1993	949	P	64	14	14	92

\* : échantillon monomicrobien (M) ou plurimicrobien (P)

Les réactifs utilisés par les participants pour réaliser l'antibiogramme des staphylocoques, lors de cette opération de contrôle et lors des opérations précédentes en 2012 et 2010 sont détaillés dans le tableau VII, tandis que les résultats obtenus pour chaque antibiotique, tous réactifs confondus, sont rapportés dans les tableaux VIII et IX respectivement pour *S. aureus* et *S. epidermidis* (la réponse attendue pour chaque antibiotique apparaît en gras).

**tableau VII** - réactifs utilisés pour l'antibiogramme des staphylocoques : opérations 14BAC2, 12BAC1 et 10BAC1

Réactifs	Fournisseur	Effectif 2014 (%)	Effectif 2012 (%)	Effectif 2010 (%)
<b>Automates</b>		<b>62,7%</b>	<b>48,8%</b>	<b>36,9%</b>
Phoenix	BD	32 (3,0)	42 (2,7)	52 (1,9)
Vitek 2 ou 2 Compact	BioMérieux	595 (56,4)	679 (43,7)	914 (33,5)
Microscan / Walkaway	Siemens	35 (3,3)	37 (2,4)	41 (1,5)
<b>Galeries</b>		<b>14,2%</b>	<b>31,3%</b>	<b>43,4%</b>
ATB Staph EU	BioMérieux	150 (14,2)	485 (31,2)	1159 (42,4)
Rapid ATB Staph	BioMérieux	-	-	28 (1,0)
ATB UR EU	BioMérieux	-	2 (0,1)	-
<b>Disques</b>		<b>22,4%</b>	<b>19,2%</b>	<b>16,8%</b>
Disques	BioMérieux	-	6 (0,4)	29 (1,1)
Disques	Bio-rad	150 (14,2)	230 (14,8)	339 (12,4)
NeoSensitabs	Eurobio	-	2 (0,1)	5 (0,2)
Disques	i2a	56 (5,3)	43 (2,8)	42 (1,5)
Disques	Mast Diagn.	-	-	3 (0,1)
Disques	Oxoid	30 (2,8)	17 (1,1)	28 (1,0)
Multidisk	Sobioda	-	1 (<0,1)	12 (0,5)
<b>Réactif non précisé</b>		<b>7 (0,7)</b>	<b>10 (0,6)</b>	<b>80 (2,9)</b>
Total		1055	1554	2732

**tableau VIII - antibiogramme *Staphylococcus aureus* : résultats des participants**

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Pénicilline G	514	0,2	0,4	<b>99,4</b>	509	0,2		<b>99,8</b>
Céfoxitine	422	0,2	0,5	<b>99,3</b>	413	0,2	0,2	<b>99,6</b>
Gentamicine	525	<b>99,4</b>		0,6	519	<b>99,0</b>	0,2	0,8
Fluoroquinolones :								
Ciprofloxacine	28	3,6		<b>96,4</b>	28	3,6		<b>96,4</b>
Lévofloxacine	65			<b>100,0</b>	65			<b>100,0</b>
Ofloxacine	404	0,2		<b>99,8</b>	399	0,3		<b>99,7</b>
Péfloxacine	18	5,6		<b>94,4</b>	17	5,9		<b>94,1</b>
Norfloxacine	5			<b>100,0</b>	5			<b>100,0</b>
Cotrimoxazole	511	<b>98,4</b>	0,6	1,0	504	<b>98,6</b>	0,4	1,0
Vancomycine	521	<b>99,2</b>	0,4	0,4	516	<b>99,0</b>	0,6	0,4
Teicoplanine	512	<b>99,8</b>		0,2	508	<b>99,6</b>		0,4
Rifampicine	514	<b>100,0</b>			506	<b>99,6</b>		0,4
Erythromycine	524	1,0		<b>99,0</b>	517	1,0		<b>99,0</b>
Lincosamides :								
Clindamycine	43			<b>100,0</b>	42			<b>100,0</b>
Lincomycine	471	0,2		<b>99,8</b>	466	0,2		<b>99,8</b>
Streptogramines :								
Pristinamycine	506	<b>61,6</b>	36,4	2,0	499	<b>58,5</b>	36,3	5,2
Quinu/dalfopristine	12	<b>91,7</b>	8,3		12	<b>83,4</b>	16,1	
Acide fusidique	519	<b>99,8</b>		0,2	511	<b>99,6</b>		0,4
Linézolide	468	<b>100,0</b>			465	<b>100,0</b>		
Daptomycine	77	<b>100,0</b>			77	<b>100,0</b>		

**tableau IX - antibiogramme *Staphylococcus epidermidis* : résultats des participants**

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Pénicilline G	495		0,2	<b>99,8</b>	499			<b>100,0</b>
Céfoxitine	394	1,3	0,2	<b>98,5</b>	360	1,1		<b>98,9</b>
Gentamicine	517	1,0		<b>99,0</b>	515	1,0		<b>99,0</b>
Fluoroquinolones :								
Ciprofloxacine	30	3,3		<b>96,7</b>	29	3,4		<b>96,6</b>
Lévofloxacine	57			<b>100,0</b>	57			<b>100,0</b>
Ofloxacine	408	0,7	0,2	<b>99,1</b>	403	0,7	0,5	<b>98,8</b>
Péfloxacine	18	5,6		<b>94,4</b>	17	5,9		<b>94,1</b>
Norfloxacine	3			<b>100,0</b>	3			<b>100,0</b>
Cotrimoxazole	494	2,0	1,0	<b>97,0</b>	490	2,0	0,8	<b>97,2</b>
Vancomycine	514	<b>88,7</b>	0,4	10,9	505	<b>86,9</b>	1,0	12,1
Teicoplanine	319	37,0	4,4	<b>58,6</b>	319	33,9	3,4	<b>62,7</b>
Rifampicine	509	<b>97,0</b>	1,0	2,0	501	<b>97,6</b>	0,6	1,8
Erythromycine	516	13,8	6,8	<b>79,4</b>	512	13,5	5,1	<b>81,4</b>
Lincosamides :								
Clindamycine	41	2,4		<b>97,6</b>	41	2,4	2,4	<b>95,2</b>
Lincomycine	472	0,9	0,2	<b>98,9</b>	465	1,1	0,2	<b>98,7</b>
Streptogramines :								
Pristinamycine	478	44,1	10,5	45,4	472	35,0	12,7	52,3
Quinu/dalfopristine	25	<b>96,0</b>		4,0	25	<b>96,0</b>		4,0

Acide fusidique	517	3,1	1,0	<b>95,9</b>	512	3,1	1,0	<b>95,9</b>
Linézolide	452	1,1	0,4	<b>98,5</b>	506	1,2	0,4	<b>98,4</b>
Daptomycine	64	<b>98,4</b>		1,6	65	<b>96,9</b>		3,1

En complément de l'antibiogramme, les participants devaient préciser :

- pour les deux staphylocoques, le phénotype de résistance à la méticilline (Méti-S ou Méti-R) et pour le *S.aureus*, une éventuelle sensibilité diminuée aux glycopeptides. Les réponses obtenues sont rapportées dans le tableau X.
- la (les) technique(s) utilisé(es) au laboratoire pour détecter la résistance à la méticilline, à choisir parmi la liste suivante : Phoenix BD, Vitek 2 Biomérieux, Microscan Siemens, Sensititre Biocentric, ATB STAPH EU Biomérieux, disque d'oxacilline, de céfoxitine, de moxalactam, CMI de l'oxacilline (E-test ou M.I.C.E), test d'agglutination au latex, test immunochromatographique, milieu de culture chromogène, détection d'un gène additionnel (*mecA*, *mecC*) par PCR. Les réponses des laboratoires concernant les techniques utilisées sont détaillées dans le tableau XI.

**tableau X** - questionnaire : réponses des participants

	Souche résistante à la méticilline ?		Souche de sensibilité diminuée aux glycopeptides ?	
	<i>S. aureus mecA</i> +	<i>S. epidermidis mecA</i> +	<i>S. aureus mecA</i> +	
Effectif	529	526	529	
Pas de réponse	7 (1,3%)	11 (2,1%)	19 (3,6%)	
OUI	<b>517 (97,7%)</b>	<b>510 (97,0%)</b>	12 (2,3%)	
NON	5 (1,0%)	5 (0,9%)	<b>498 (94,1%)</b>	

**tableau XI** - techniques utilisées pour détecter la résistance à la méticilline

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Effectif	522	513
<b>Automates ou galeries utilisés seuls (sans test complémentaire)</b>		
Vitek	144/295 (48,8%)	165/294 (56,1%)
Galerie ATB Staph EU	45/60 (75,0%)	58/70 (82,9%)
Phoenix	7/21 (33,3%)	6/13 (46,2%)
Microscan	12/17 (70,6%)	8/14 (57,1%)
<b>Tests ou combinaisons de tests utilisées en complément d'un automate ou d'une galerie (n &gt; 5)</b>		
céfoxitine	68	52
PCR <i>mecA</i> + autre(s) test(s)	29	38
latex	28	8
gélose chromogène	23	11
oxacilline + céfoxitine	8	10
céfoxitine + moxalactam	19	27
céfoxitine + immunochromatographie (IC)	12	15
céfoxitine + latex	7	8
céfoxitine + moxalactam + IC	16	18
oxacilline + céfoxitine + moxalactam	9	13
céfoxitine + gélose chromogène	6	5
Immunochromatographie (IC)	16	11
céfoxitine + moxalactam + gélose chromogène	2	6
céfoxitine + moxalactam + latex	11	6
céfoxitine + moxalactam + IC + gélose chromogène	6	3
Autres combinaisons	54	53

En ce qui concerne les diamètres d'inhibition, 396 laboratoires participants ont relevé le diamètre d'au moins un antibiotique sur les cinq demandés. Le mode de lecture des diamètres, précisé dans 95% des cas, est rapporté dans le tableau XII.

Les paramètres statistiques pour chaque antibiotique (effectif, moyenne et écart-type) ont été calculés à partir des données fournies. Ils ont ensuite été recalculés après une troncature à 2 écart-types (opération consistant à éliminer les valeurs situées au-delà de 2 écart-types de part et d'autre de la moyenne).

L'ensemble des paramètres statistiques obtenus pour *S. aureus* est rapporté dans le tableau XIII. A l'exception de l'érythromycine pour laquelle on observe une résistance « contact », la distribution des diamètres d'inhibition tous réactifs confondus relevés pour chacun des quatre autres antibiotiques est représentée figures 1 à 4. De la même façon, l'ensemble des paramètres statistiques obtenus pour *S. epidermidis* est rapporté dans le tableau XIV et les distributions des diamètres d'inhibition (à l'exception de la céfoxitine et de la gentamicine pour lesquelles on note une résistance « contact ») sont représentées sur les figures 5 à 7.

**tableau XII** - mode de lecture des diamètres d'inhibition

Mode de lecture	effectif
non précisé	20
visuel	167
automate :	209
non précisé	8
Biorad Adagio	23
Biorad Osiris	16
Biorad non précisé	5
I2a sirscan non précisé	106
I2a sirscan 2000	23
I2a sirscan 2000 auto	18
I2a sirscan micro	10

**tableau XIII** - *S. aureus* : diamètres d'inhibition (mm) obtenus par les participants tous réactifs confondus

Antibiotique	effectif	effectif tr*	moyenne tr*	écart-type tr*
Céfoxitine	173	164	16,9	2,5
Gentamicine	134	125	26,2	2,0
Erythromycine	R contact			
Vancomycine **	121	117	19,8	1,4
Teicoplanine **	111	110	19,1	1,2

tr \* : après troncature à 2 écart-types, \*\* : selon le CA-SFM 2014, la détermination de la sensibilité aux glycopeptides ne doit pas être réalisée par la méthode des disques mais par la détermination de la CMI.



figure 1 : *S. aureus* / céfoxitine

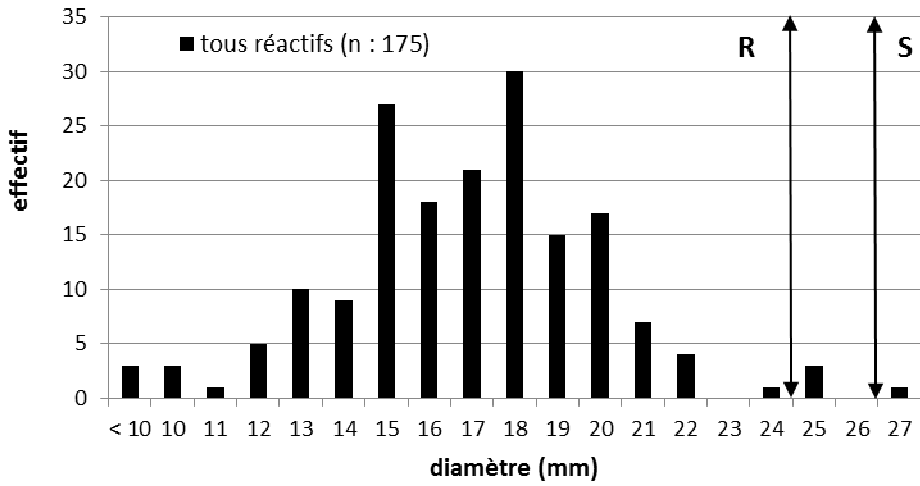


figure 2 : *S. aureus* / gentamicine

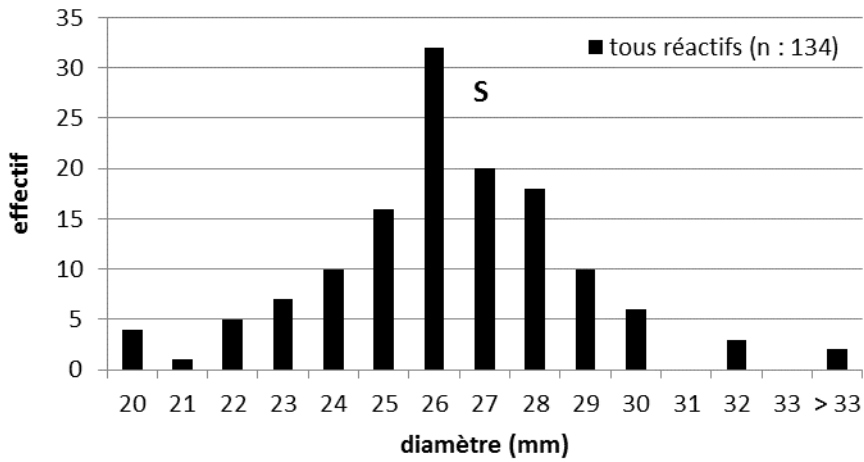


figure 3 : *S. aureus* / vancomycine

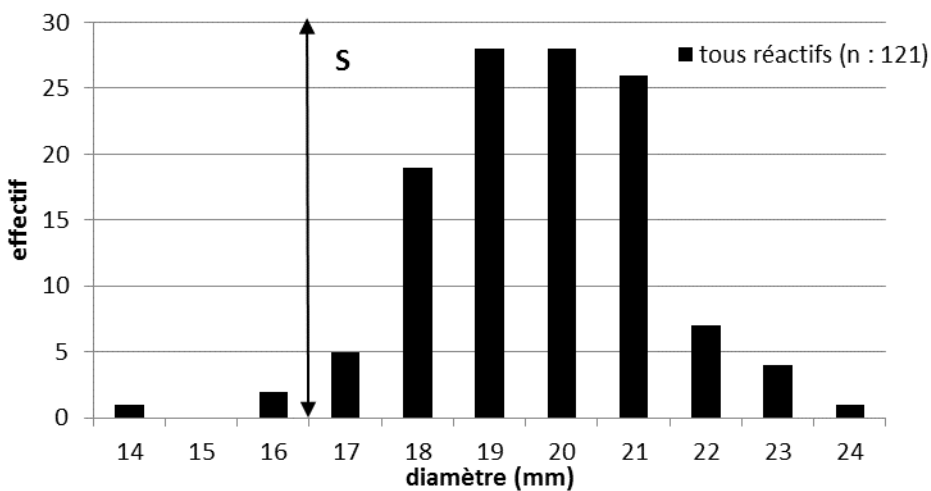


figure 4 : *S. aureus* / teicoplanine

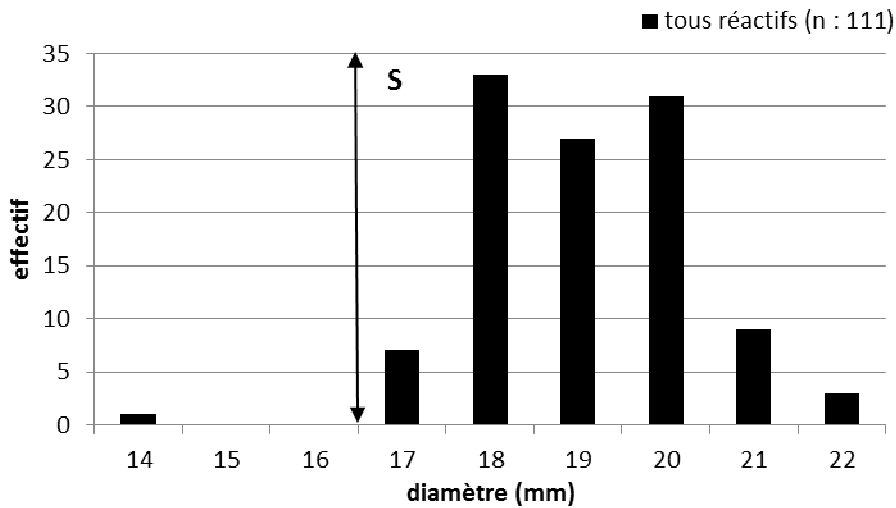


tableau XIV - *S. epidermidis* : diamètres d'inhibition (mm) obtenus par les participants tous réactifs confondus

Antibiotique	effectif	effectif tr*	moyenne tr*	écart-type tr*
Céfoxitine	R contact			
Gentamicine	R contact			
Erythromycine	139	130	20,9	3,6
Vancomycine **	139	130	23,8	2,0
Teicoplanine **	124	119	18,5	2,1

tr \* : après troncature à 2 écart-types

\*\* : selon le CA-SFM 2014, la détermination de la sensibilité aux glycopeptides ne doit pas être réalisée par la méthode des disques mais par la détermination de la CMI.

figure 5 : *S. epidermidis* / érythromycine

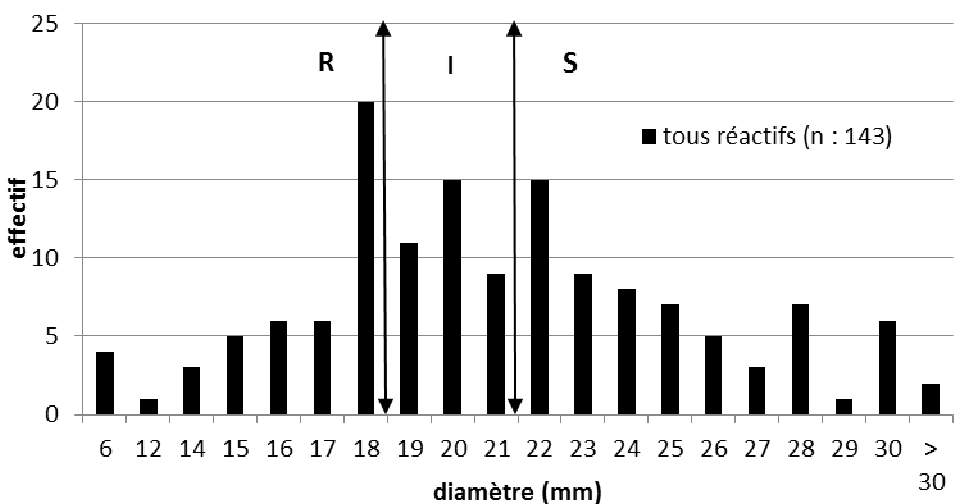


figure 6 : *S. epidermidis* / vancomycine

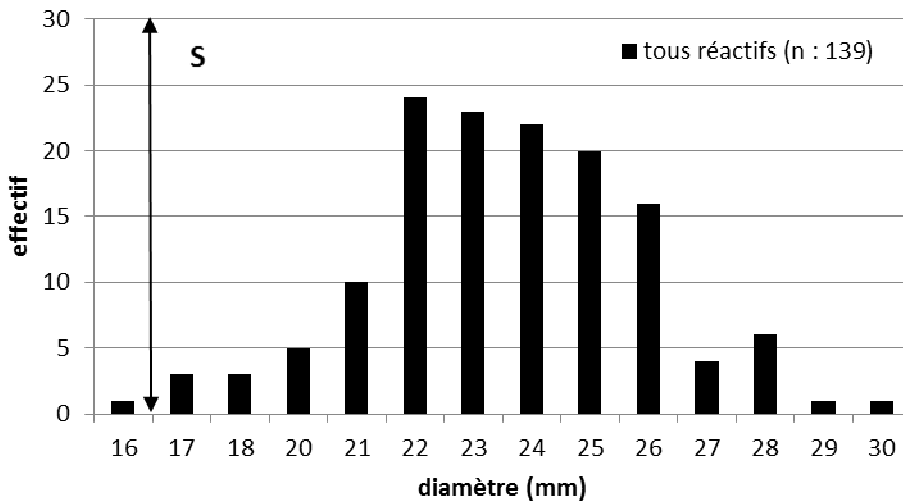
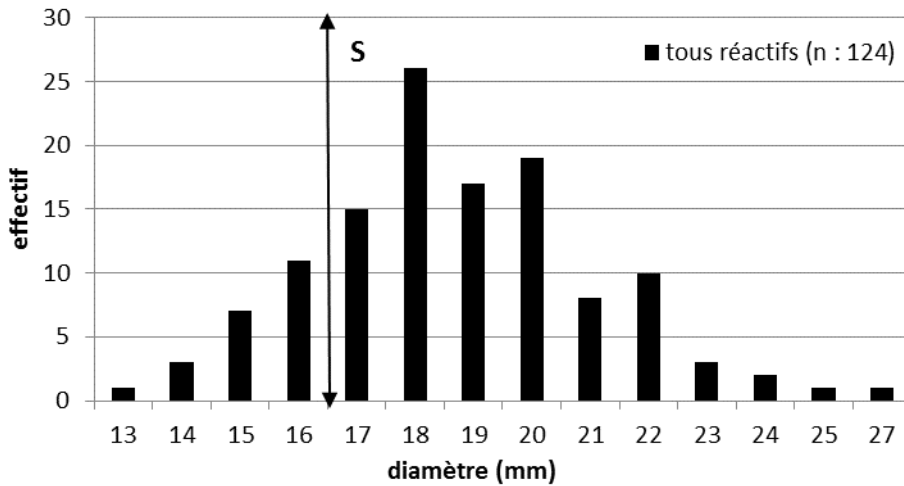
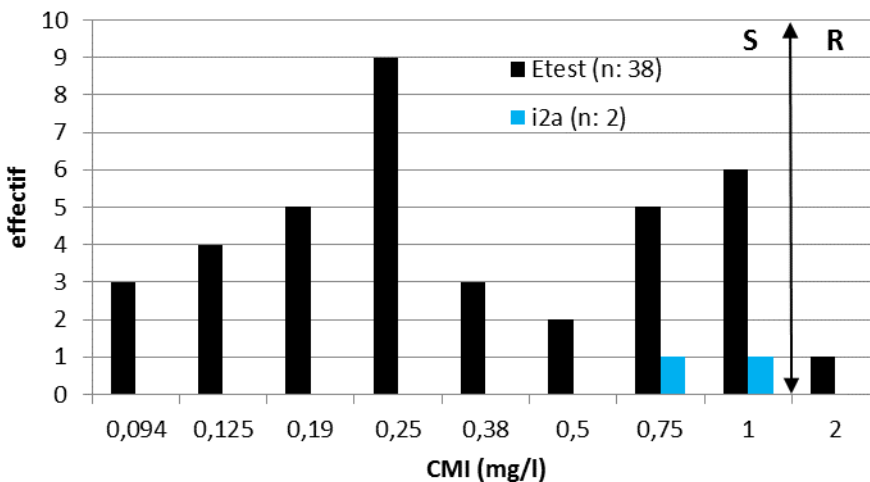


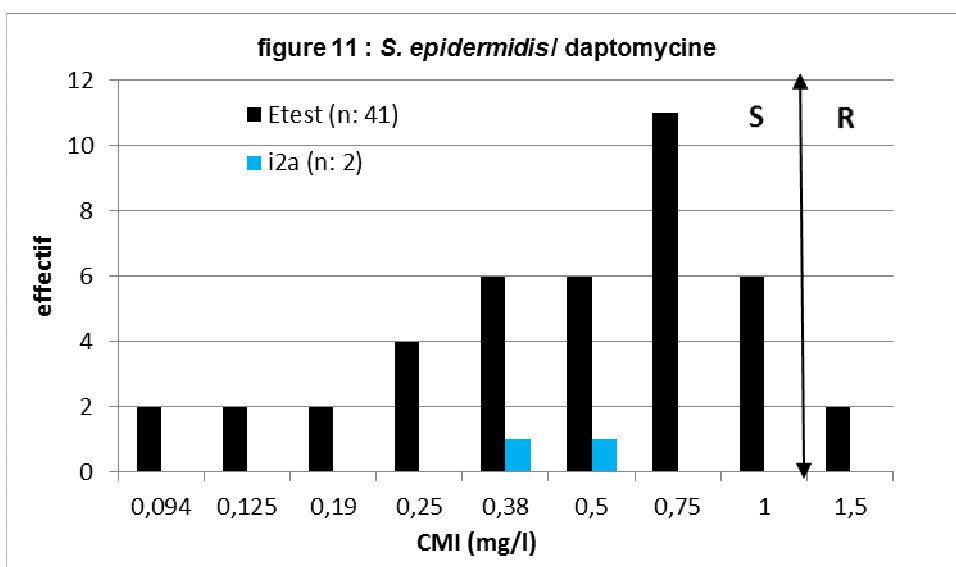
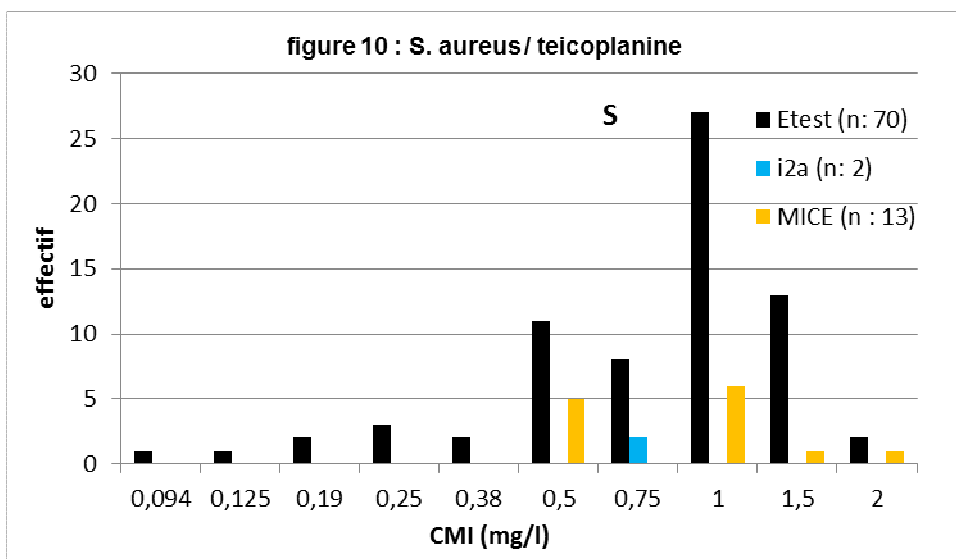
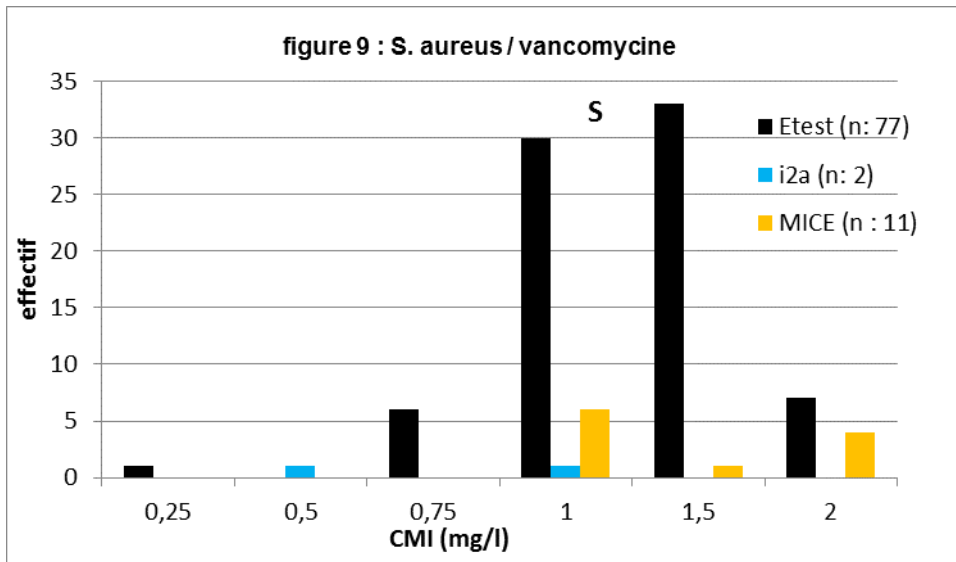
figure 7 : *S. epidermidis* / teicoplanine

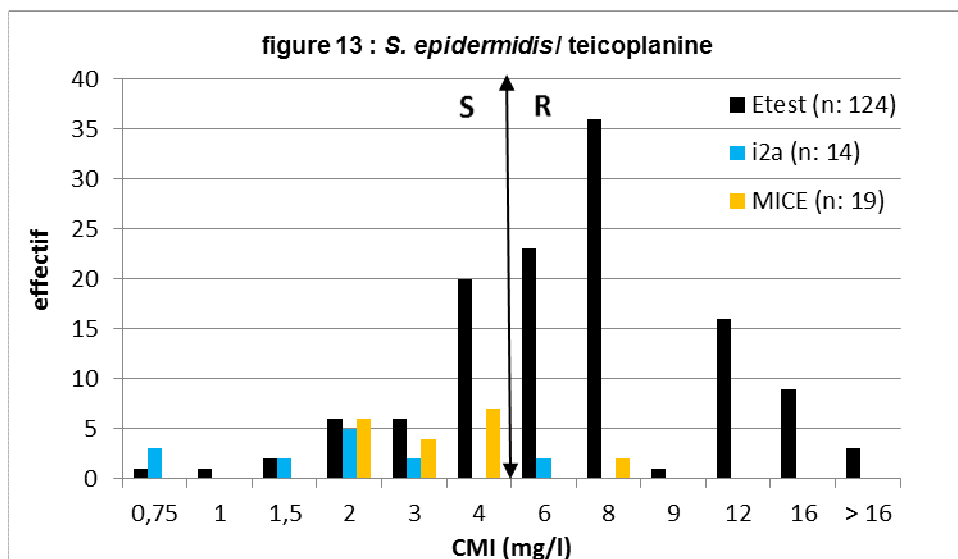
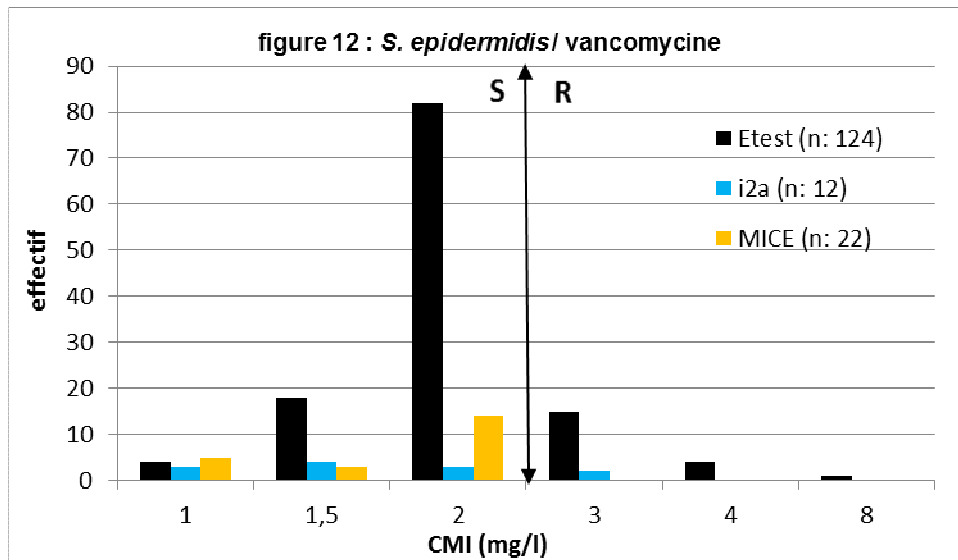


Enfin, les participants pouvaient indiquer les CMI obtenues pour la daptomycine, la vancomycine et la teicoplanine. La distribution des CMI des trois antibiotiques en fonction du réactif utilisé est reportée sur les figures 8 à 10 et 11 à 13 respectivement pour *S. aureus* et *S. epidermidis*.

figure 8 : *S. aureus* / daptomycine







## Commentaires

### 1 - Identification bactérienne

*S. aureus* est une espèce commensale de la peau et des muqueuses. C'est l'une des principales étiologies des infections bactériennes humaines. *S. aureus* est responsable d'un vaste panel d'infections communautaires et nosocomiales, principalement suppuratives et plus rarement toxiques.

Les colonies de *S. aureus* sont le plus souvent lisses, pigmentées jaune/jaune-orangé. La plupart sont hémolytiques. Classiquement, l'identification se fait par la recherche phénotypique de coagulase libre, de clumping factor, de protéine A et de nucléase thermostable. En fait, aucun de ces caractères pris isolément n'est spécifique et l'identification nécessite la détection de plusieurs de ces caractères.

L'identification de *S. aureus* n'a pas posé de problème aux laboratoires (99,6% de réponse exacte). On note deux réponses erronées : « *S. epidermidis* » et « staphylocoque coagulase négative ».

*S. epidermidis* est une espèce commensale de la peau et des muqueuses, fréquemment rencontrée en pathologie humaine, en particulier dans les infections liées aux soins chez les patients porteurs de matériel étranger (cathéter, prothèse, valve...) et les patients immunodéprimés. La morphologie des colonies, le plus souvent blanc-gris et non hémolytique, n'est pas spécifique. Elle est coagulase négative et clumping factor négative.

C'est la 3<sup>ème</sup> fois qu'une souche de *S. epidermidis* est proposée pour identification dans le cadre du CNQ. Le pourcentage d'identification exacte à l'espèce est le meilleur à ce jour (91,9%) et seuls deux laboratoires ont fait une erreur au niveau du genre (tableaux IV et VI).

L'identification de cette espèce par les galeries d'identification biochimique est moins fiable que celle obtenue par MALDI-TOF ou test moléculaire basé sur les séquences nucléiques.

## 2 - Antibiogramme

Cette opération de contrôle nous permet de connaître la part des différents réactifs utilisés dans les LBM en France, en 2014, pour la réalisation de l'antibiogramme des staphylocoques : l'automate Vitek 2C BioMérieux avec 56,4% d'utilisateurs (+ 22,9% par rapport à 2010) devient la technique la plus utilisée pour effectuer un antibiogramme de staphylocoque, devant la méthode de diffusion en milieu gélosé (22,4%) représentée aux deux tiers par les disques Bio-Rad. La galerie ATB STAPH EU BioMérieux (14,2%) est de moins en moins utilisée (-28% par rapport à 2010) au profit des automates (tableau VII).

En ce qui concerne les techniques utilisées dans les LBM pour détecter la résistance à la méticilline (tableau XI), on remarque que de nombreux utilisateurs d'automates (52% des utilisateurs du Vitek) ou de galeries (79% des utilisateurs ATB STAPH EU) n'effectuent pas de tests complémentaires pour confirmer le phénotype de résistance (Méti-S ou Méti-R) de la souche.

Enfin, plus de la moitié (55,6%) des laboratoires qui utilisent la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques) effectuent la lecture de diamètres d'inhibition sur un automate. Il s'agit dans 78% des cas d'un des trois automates SirScan (2000, 2000 auto, micro) commercialisés par i2a ou, pour 22% des laboratoires, d'un des deux automates (Osiris, Adagio) commercialisés par Bio-Rad (tableau XII).

### ***Staphylococcus aureus mecA+***

*S. aureus* résistant à la méticilline, longtemps cantonné aux infections hospitalières, est maintenant reconnu comme responsable d'infections communautaires, puis très récemment d'infections associées aux animaux d'élevage. La prévalence de la résistance à la méticilline des *S. aureus* a baissé ces dernières années. Elle est estimée à 20-25% avec des différences notables entre les différents sites.

Parmi les souches hospitalières de *S. aureus* résistant à la méticilline, une souche est particulièrement prédominante en France depuis plusieurs années. Il s'agit du clone Lyon ST8 résistant à la pénicilline G, la méticilline, la kanamycine, la tobramycine, l'érythromycine, les lincosamides et les fluoroquinolones dont fait partie la souche proposée dans le cadre de cette opération de contrôle.

#### **Bêta-lactamines :**

La résistance à la méticilline a bien été détectée par l'ensemble des participants et, à la question : « est-ce que la souche testée est résistante à la méticilline ? », 99 % des répondants ont indiqué « oui » (tableau X) ce qui correspond à la réponse attendue.

#### **Autres antibiotiques :**

La sensibilité de la souche à différents antibiotiques autres que les bêta-lactamines : gentamicine, cotrimoxazole, rifampicine, acide fusidique, linézolide et daptomycine a bien été relevée par l'ensemble des laboratoires avec en moyenne 99,6% de bonnes réponses « S ». En ce qui concerne la daptomycine, seule la détermination de la CMI permet de catégoriser les souches. Ici, la majorité (39/40) des participants ayant rendu une CMI a trouvé un résultat  $\leq 1$  mg/l avec une CMI modale égale à 0,25 mg/l (figure 8).

La souche également sensible aux glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) a été rendue comme telle par respectivement 99,2 et 99,8% des participants. De plus, à la question : « la souche est-elle de sensibilité diminuée aux glycopeptides ? » 97,6% des répondants ont indiqué « non » (tableau X) ce qui correspond à la réponse attendue. La sensibilité diminuée est rare (1% chez *S. aureus*). Néanmoins, la recherche d'une sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA) doit être réalisée pour toute souche de *S. aureus* en cas d'utilisation thérapeutique envisagée. Depuis 2014, le CA-SFM ne recommande plus la méthode par diffusion en milieu gélosé (disques) qui par conséquent ne doit pas être utilisée. Seule la détermination de la CMI et la réalisation d'un des deux tests de détection complémentaires permet de conclure. Si le test de détection est négatif, la CMI peut être rendue. Si le test de détection est positif, la CMI ne doit pas être rendue et le commentaire « sensibilité diminuée aux glycopeptides » doit figurer sur le compte rendu.

Les laboratoires participants qui ont utilisé la méthode des disques, selon les recommandations du CA-SFM 2013, ont trouvé pour la vancomycine (figure 3) et pour la teicoplanine (figure 4) des diamètres d'inhibition  $\geq 17$  mm. Ceux qui ont effectué une mesure précise de la CMI par la méthode des bandelettes ont tous trouvé une CMI  $\leq 2$  mg/l avec une CMI modale égale à 1 mg/l pour les deux antibiotiques (figures 9 et 10).

En ce qui concerne les macrolides-lincosamides-streptogramines, la souche de phénotype MLS<sub>B</sub> constitutif (porteuse du gène *ermA*) était résistante à l'érythromycine, à la clindamycine, à la lincomycine (respectivement 99, 100 et 99,8% de bonnes réponses) et sensible à la pristinamycine et à l'association quinupristine/dalfopristine avec toutefois une activité bactéricide réduite pour ces antibiotiques.

Enfin, la résistance aux fluoroquinolones (FQ), croisée entre les différentes molécules fait que le résultat de l'une peut être extrapolé aux autres (à l'exception de la moxifloxacine qui peut rester active sur une souche résistante aux autres FQ). Le CA-SFM 2014 précise qu'un disque de norfloxacine 10 µg peut être utilisé en dépistage : si la souche testée est « S », alors elle est « S » à la cipro-, la lévo-, la moxi- et à l'ofloxacine. Pour les souches non sensibles, chaque fluoroquinolone doit être testée individuellement.

Les participants ont bien relevé la résistance aux FQ (en moyenne 98% de bonnes réponses). La molécule la plus testée (78%) est l'ofloxacine (seule FQ testée sur la carte staphylocoque du Vitek) suivie par la lévofloxacine (13%) et la ciprofloxacine (5,4%).

### ***Staphylococcus epidermidis mecA+***

La prévalence de la résistance à la méticilline est plus importante chez *S. epidermidis* que chez *S. aureus*, avec une estimation à environ 80%. Parmi les souches de *S. epidermidis* résistantes à la méticilline, nombre d'entre elles ont acquis des mécanismes de résistance vis-à-vis d'autres antibiotiques utilisés en remplacement de la méticilline comme les glycopeptides et le linézolide. C'est le cas de cette souche qui présente une sensibilité diminuée à la téicoplanine et une résistance au linézolide par mutation sur le gène 23S rARN.

#### **Bêta-lactamines :**

La résistance à la méticilline a bien été détectée par l'ensemble des participants et à la question : « est-ce que la souche testée est résistante à la méticilline ? » 99 % des répondants ont indiqué « oui » (tableau X) ce qui correspond à la réponse attendue.

#### **Autres antibiotiques :**

La résistance de la souche à différents antibiotiques autres que les bêta-lactamines : gentamicine, cotrimoxazole, acide fusidique et linézolide a bien été relevée par l'ensemble des laboratoires avec en moyenne 97,6% de bonnes réponses « R ». Comme pour la souche précédente, les participants ont également détecté la résistance aux FQ de *S. epidermidis* (en moyenne 98% de bonnes réponses). Là encore, la molécule la plus testée (79%) est l'ofloxacine (seule FQ testée sur la carte staphylocoque du Vitek) suivie par la lévofloxacine (11%) et la ciprofloxacine (5,8%).

En ce qui concerne les glycopeptides, la souche était « sensible » à la vancomycine avec une CMI égale à 2 mg/l par la méthode des bandelettes (figure 12) et égale à 1 ou 2 par la méthode de référence (microdilution en milieu liquide). En revanche, elle était « résistante » à la téicoplanine avec une CMI égale à 8 mg/l par la méthode des bandelettes.

Cependant, on observe que l'utilisation de bandelettes par 159 participants pour préciser la CMI de la téicoplanine sur cette souche a conduit à 59% de résultats > 4 mg/l et 41% de résultats ≤ 4 mg/l susceptibles d'être catégorisés à tort « Sensible ». Ces pourcentages sont variables en fonction de la bandelette utilisée : on note que les utilisateurs des bandelettes i2a et MICE Oxoïd ont rendu en majorité (respectivement 85% et 89%) des CMI ≤ 4 mg/l, alors qu'ils ne sont que 29% parmi les utilisateurs des bandelettes E-test (figure 13).

Depuis 2014, pour tous les staphylocoques, la détermination de la sensibilité aux glycopeptides ne doit plus être réalisée par diffusion en milieu gélosé (disques). Néanmoins, les laboratoires participants qui ont utilisé cette méthode, selon les recommandations du CA-SFM 2013, ont trouvé pour la vancomycine des diamètres d'inhibition ≥ 17 mm (figure 6) avec une moyenne tous disques confondus de 23,8 mm (tableau XIV). Pour la téicoplanine, les résultats sont plus contrastés : 82% des participants ont indiqué des diamètres ≥ 17 mm et 18% des diamètres < 17 mm (figure 7) avec une moyenne de 18,5 mm. Toutefois, les disques Oxoïd se démarquent avec un diamètre moyen plus petit (16,2 mm).

Enfin, concernant les macrolides-lincosamides-streptogramines, la CMI à l'érythromycine égale à 4 mg/l permettait de catégoriser la souche « R » (ou « I » à une dilution près). Les automates (Vitek et Phoenix) ainsi que la galerie ATB STAPH ont rendu des résultats « R ». Les réponses « S » proviennent exclusivement des disques (Biorad : 48% « S », i2a : 36% « S », Oxoid : 33% « S ») pour lesquels on observe une grande dispersion des diamètres d'inhibition lus (entre 17,3 et 24,5 mm) (tableau XIV). Ces résultats sont peut-être dus à une croissance faible de la souche qui rend la lecture des diamètres difficile. Les lincosamides (lincomycine ou clindamycine) ont été trouvés « R » comme attendu. Quant aux streptogramines, la souche était sensible à l'association quinupristine-dalfopristine (CMI = 0,25 mg/l) qui peut être utilisée pour déterminer la sensibilité à la pristinamycine (CA-SFM

2014). Or les résultats obtenus par les participants ayant testé la pristinamycine sont discordants : « sensible » avec la galerie ATB STAPH et les disques, mais « intermédiaire » ou « résistant » avec les automates Phoenix et Vitek. La CMI égale à 1 mg/l permettait de catégoriser la souche « S » (ou « I » à une dilution près).

## Bibliographie

Brun Y, Bes M, Vandenesch F. Staphylococcus ; In Précis de bactériologie clinique, Freney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C. Editions ESKA, Paris. 2007:795-839.

Dauwalder O, Lina G, Durand G, Bes M, Meugnier H, Jarlier V, Coignard B, Vandenesch F, Etienne J, Laurent F. Epidemiology of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones collected in France in 2006 and 2007. J Clin Microbiol. 2008 Oct ; 46(10):3454-8.

Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. Clin Microbiol Rev. 2014 Oct ; 27(4):870-926.



# Sérologie de la borréliose de Lyme

## Définition des échantillons

Dans le cadre du CNQ, 525 laboratoires ayant déclaré réaliser la sérologie de la borréliose de Lyme (bL) ont reçu trois échantillons lyophilisés différents (L1, L2 et L3), chacun accompagné d'un cas clinique.

En fonction des réactifs utilisés dans le laboratoire, il était demandé de reporter le résultat (positif, négatif ou douteux) du dépistage (IgG et IgM ou Ig totales) et, le cas échéant, du Western blot IgG et/ou IgM ; sachant que selon la nomenclature des actes de biologie médicale, le diagnostic sérologique de la bL se fait en deux temps : dépistage, suivi en cas de résultat positif ou douteux d'une confirmation par immuno-empreinte.

Par ailleurs, les laboratoires participants devaient répondre à un questionnaire concernant l'interprétation clinico-biologique des données correspondant à chaque cas.

L'échantillon L1 a été préparé à partir d'un pool de deux poches de sérum négatives en IgG et en IgM, tandis que l'échantillon L2 a été préparé à partir d'un pool de deux poches fortement positives en IgG et négatives en IgM. Le dépistage IgG et IgM sur ces quatre poches a été réalisé avec deux réactifs (Vidas Biomérieux et Platelia Bio-Rad) et confirmé par le CNR *Borrelia* (Western blot maison).

L'échantillon L3 a été préparé à partir d'une seule poche de plasma négative en dépistage IgG et qui présentait la particularité d'être IgM positive avec le Vidas Biomérieux (ratio 0,52 pour un seuil à 0,32) et IgM négative avec les trois réactifs suivants : Platelia IgM Bio-Rad, Liaison IgM II Diasorin et Enzygnost Borreliosis IgM Siemens. Le résultat IgM positif obtenu en dépistage Vidas, lié à la présence de facteurs rhumatoïdes, n'ayant pas été confirmé par un Western blot IgM (CNR *Borrelia*), la conclusion attendue est : « résultats en faveur d'une réaction croisée en sérologie de dépistage ».

En conclusion, les échantillons lyophilisés L1, L2 et L3 ont été définis, avant l'envoi, de la façon suivante :

Echantillon	Dépistage		Confirmation *	
	IgG	IgM	IgG	IgM
L1	négatif	négatif	-	-
L2	positif fort	négatif	positif	-
L3	négatif	négatif (positif Vidas)	-	négatif

\* : Western blot maison (CNR *Borrelia*)

Les renseignements cliniques associés aux échantillons sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

<b>Echantillon L1</b>	Cette patiente, citadine, a fait une promenade en forêt il y a 15 jours. Elle consulte son médecin pour une éruption qu'elle vient de découvrir dans le bas du dos. Il s'agit d'une tache érythémateuse d'extension centrifuge de 8 à 9 cm de diamètre. Elle ne présente aucun symptôme général, ni fièvre, ni douleurs, ni prurit.
<b>Echantillon L2</b>	Ce patient de 30 ans se plaint depuis quelques semaines de douleurs du genou gauche qui s'aggravent et d'une gêne qui l'empêchent de courir et de marcher vite. A l'interrogatoire, il n'y a pas de notion de morsure de tique, mais le patient va de temps en temps se promener en forêt. A l'examen clinique, il existe un épanchement articulaire ponctionnable. Il n'y a pas de signes cliniques généraux, ni locaux.
<b>Echantillon L3</b>	Ce patient de 75 ans se plaint depuis 16 mois de fatigue ainsi que de douleurs musculaires et de douleurs au niveau de plusieurs grosses articulations et des articulations des doigts. A l'interrogatoire, il n'y a pas de notion d'épanchement articulaire mais le patient va de temps en temps se promener en forêt et se souvient d'avoir retiré une tique au niveau du creux poplité gauche il y a un an environ. A l'examen clinique, il n'existe pas de signes cliniques objectifs.

## Résultats des participants

Début novembre 2014, 525 LBM étaient inscrits pour le dépistage sérologique de la borréliose de Lyme (LBM ayant déclaré réaliser cet examen biologique). Cependant, seuls 425 (81%) ont rendu des résultats.

La répartition par région des LBM inscrits à cette opération de contrôle d'une part et des LBM ayant rendu des résultats « LBM répondeurs » d'autre part est détaillée dans le tableau XV.

En ce qui concerne les 100 LBM « non répondants », 92 LBM se sont connectés au formulaire de saisie des résultats et ont validé l'envoi d'un formulaire vierge (sans résultats). Parmi eux, 70 ont indiqué qu'ils n'effectuaient pas cette analyse.

**tableau XV** - répartition par région des LBM ayant déclaré réaliser le dépistage sérologique de la bL et des LBM ayant rendu des résultats

Région	Nb LBM inscrits [privé-hospitalier]	Nb total LBM	Nb inscrits/ Nb total (%)	Nb LBM répondants [privé-hospitalier]
Ile de France	83 [54 - 29]	505	16 %	61 [41 - 20]
Rhône Alpes	55 [39 - 16]	184	30 %	44 [30 - 14]
Lorraine	32 [19 - 13]	83	39 %	27 [16 - 11]
Aquitaine	31 [18 - 13]	90	34 %	29 [18 - 11]
Midi Pyrénées	30 [23 - 7]	105	29 %	22 [18 - 4]
Bretagne	25 [19 - 6]	102	25 %	24 [18 - 6]
Pays de Loire	25 [20 - 5]	102	25 %	21 [16 - 5]
Picardie	24 [15 - 9]	68	35 %	19 [12 - 7]
PACA	24 [18 - 6]	221	11 %	18 [13 - 5]
Centre	21 [16 - 5]	65	32 %	17 [13 - 4]
Haute Normandie	21 [18 - 3]	65	32 %	17 [14 - 3]
Alsace	18 [12 - 6]	54	33 %	16 [11 - 5]
Auvergne	18 [12 - 6]	38	47 %	16 [10 - 6]
Bourgogne	18 [13 - 5]	60	30 %	16 [12 - 4]
Nord	18 [13 - 5]	97	19 %	13 [8 - 5]
Franche Comté	15 [8 - 7]	35	43 %	10 [6 - 4]
Limousin	14 [10 - 4]	32	44 %	12 [8 - 4]
Poitou Charentes	12 [8 - 4]	47	26 %	12 [8 - 4]
Basse Normandie	12 [6 - 6]	48	25 %	11 [5 - 6]
Champagne	12 [7 - 5]	35	34 %	10 [5 - 5]
Languedoc Roussillon	12 [9 - 3]	81	15 %	8 [5 - 3]
Guyane	3 [2 - 1]	10	30 %	1 [1 - 0]
Corse	1 [0 - 1]	13	8 %	1 [0 - 1]
Antilles	1 [1 - 0]	70	1 %	0 [0 - 0]
Total	525 [360 - 165]	2210	24 %	425 [288 - 137]

## 1 - Echantillon L1

Les résultats obtenus par les laboratoires participants en dépistage IgG, IgM ou Ig totales en fonction du réactif utilisé sont rapportés dans les tableaux XVI à XVIII tandis que les réponses au questionnaire sont détaillées dans le tableau XIX. Les réponses attendues apparaissent en gras.

**tableau XVI** – échantillon L1 / dépistage IgG : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif IgG	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Anti-Borrelia IgG ALEGRIA ORGENTEC		<b>11</b>			11
Borrelia afzelii + VlsE IgG INGEN (VIROTECH)		<b>1</b>			1
Borrelia burgdorferi IgG/IgM INGEN (VIROTECH)		<b>2</b>			2
ELISA anti-Borrelia IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)		<b>4</b>	1		5
ELISA anti-Borrelia Plus VlsE IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)		<b>8</b>			8
ELISA anti-Borrelia Select IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)		<b>1</b>			1
Enzygnost Lyme link VlsE / IgG SIEMENS		<b>12</b>	1	2	15
IFI anti-borrelia burgdorferi sensu stricto IgG BIO-ADVANCE		<b>1</b>			1
Liaison Borrelia IgG DIASORIN		<b>71</b>		2	73

Lyme Sign duo IgG+IgM SERVIBIO	2	8			10
Platelia Lyme IgG BIORAD		4			4
RecomWell Borrelia IgG DIASORIN (Mikrogen)		5		1	6
Serion Elisa classic B.burgdorferi IgG ORGENTEC (Virion Serion)		1			1
Vidas Lyme IgG BIOMERIEUX		251		10	261
Total	2	380	2	15	399

**tableau XVII** – échantillon L1 / dépistage IgM : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif IgM	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Anti-Borrelia IgM ALEGRIA ORGENTEC		10			10
Borrelia afzelii IgM INGEN (VIROTECH)		1			1
Borrelia burgdorferi IgG/IgM INGEN (VIROTECH)		1	1		2
ELISA anti-Borrelia IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)		13			13
ELISA anti-Borrelia Select IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)			1		1
Enzygnost Borreliosis / IgM SIEMENS		14		1	15
IFI anti-borrelia burgdorferi sensu stricto IgM BIO-ADVANCE	1				1
Liaison Borrelia IgM II DIASORIN		52		2	54
Liaison Borrelia IgM quant DIASORIN		19			19
Lyme Sign duo IgG+IgM SERVIBIO	2	8			10
Platelia Lyme IgM BIORAD		4			4
RecomWell Borrelia IgM DIASORIN (Mikrogen)		3		1	4
Serion Elisa classic B.burgdorferi IgM ORGENTEC (Virion Serion)		1			1
Vidas Lyme IgM BIOMERIEUX	1	249		10	260
Total	4	375	2	14	395

**tableau XVIII** – échantillon L1 / dépistage Ig totales : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif Ig totales	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Lymetop + ALL DIAG	1	24			25

**tableau XIX** – échantillon L1 : réponses des participants et réponses attendues au questionnaire

<b>Cas clinique</b> : Cette patiente, citadine, a fait une promenade en forêt il y a 15 jours. Elle consulte son médecin pour une éruption qu'elle vient de découvrir dans le bas du dos. Il s'agit d'une tache érythémateuse d'extension centrifuge de 8 à 9 cm de diamètre. Elle ne présente aucun symptôme général, ni fièvre, ni douleurs, ni prurit.	
<b>Devant ce contexte clinique, la sérologie de la borréliose de Lyme prescrite par le médecin a-t-elle un intérêt ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
<b>Non 70,8%</b> , Oui 29%, (-) 0,2%	Non
<b>En fonction du contexte clinique, le résultat du dépistage sérologique obtenu est-il compatible ou incompatible avec le diagnostic de borréliose de Lyme ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
<b>Compatible 77,8%</b> , incompatible 19,4%, (-) 2,8%	Compatible
<b>En fonction du contexte clinique et du résultat sérologique obtenu, conseillerez-vous un traitement antibiotique pour ce patient ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
<b>Oui 77,4%</b> , Non 21%, (-) 1,6%	Oui
<b>Si un traitement antibiotique est instauré, conseillerez-vous un contrôle sérologique un mois après la fin du traitement ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
<b>Non 73,8%</b> , Oui 18,6%, (-) 7,6%	Non

Sur cet échantillon, les examens complémentaires suivants sont-ils utiles ou inutiles ?	
Réponse des participants	Réponse attendue
Recherche IgM spécifiques : <b>Inutile 77,1%</b> , utile 11,3%, (-) 11,6%	Inutile
WB IgG : <b>Inutile 92,7%</b> , utile 2,8%, (-) 4,5%	Inutile
WB IgM : <b>Inutile 90,3%</b> , utile 5,2%, (-) 4,5%	Inutile

## 2 - Echantillon L2

Les résultats obtenus par les laboratoires participants en dépistage IgG, IgM ou Ig totales en fonction du réactif utilisé sont rapportés dans les tableaux XX à XXII, tandis que les réponses au questionnaire sont détaillées dans le tableau XXIII.

Les participants qui ont estimé qu'un Western blot IgG et/ou IgM était utile sur cet échantillon et qui réalisent cet examen de confirmation dans leur laboratoire ont rapporté leurs conclusions. Celles-ci figurent dans les tableaux XXIV (IgG) et XXV (IgM). Les réponses attendues apparaissent en gras.

**tableau XX** – échantillon L2 / dépistage IgG : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif IgG	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Anti-Borrelia IgG ALEGRIA ORGENTEC			<b>11</b>		11
Borrelia afzelii + VlsE IgG INGEN (VIROTECH)			<b>1</b>		1
Borrelia burgdorferi IgG/IgM INGEN (VIROTECH)			<b>2</b>		2
ELISA anti-Borrelia IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)			<b>3</b>	1	4
ELISA anti-Borrelia Plus VlsE IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)			<b>9</b>		9
ELISA anti-Borrelia Select IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)			<b>1</b>		1
Enzygnost Lyme link VlsE / IgG SIEMENS			<b>13</b>	2	15
IFI anti-borrelia burgdorferi sensu stricto IgG BIO-ADVANCE			<b>1</b>		1
Liaison Borrelia IgG DIASORIN			<b>69</b>	4	73
Lyme Sign duo IgG+IgM SERVIBIO	1	6	<b>3</b>		10
Platelia Lyme IgG BIORAD			<b>4</b>		4
RecomWell Borrelia IgG DIASORIN (Mikrogen)			<b>5</b>	1	6
Serion Elisa classic B.burgdorferi IgG ORGENTEC (Virion Serion)			<b>1</b>		1
Vidas Lyme IgG BIOMERIEUX		1 *	<b>249</b>	11	261
Total	1	7	<b>372</b>	19	399

\* : inversion des résultats du dépistage IgG entre L2 (positif) et L3 (négatif) sur le formulaire de saisie des résultats

**tableau XXI** – échantillon L2 / dépistage IgM : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif IgM	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Anti-Borrelia IgM ALEGRIA ORGENTEC		<b>10</b>			10
Borrelia afzelii IgM INGEN (VIROTECH)		<b>1</b>			1
Borrelia burgdorferi IgG/IgM INGEN (VIROTECH)		<b>2</b>			2
ELISA anti-Borrelia IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)		<b>12</b>		2	14
Enzygnost Borreliosis / IgM SIEMENS		<b>14</b>		1	15
IFI anti-borrelia burgdorferi sensu stricto IgM BIO-ADVANCE		<b>1</b>			1
Liaison Borrelia IgM II DIASORIN		<b>50</b>		3	53
Liaison Borrelia IgM quant DIASORIN		<b>18</b>		1	19
Lyme Sign duo IgG+IgM SERVIBIO	1	<b>7</b>	2		10
Platelia Lyme IgM BIORAD		<b>4</b>			4
RecomWell Borrelia IgM DIASORIN (Mikrogen)		<b>3</b>		1	4
Serion Elisa classic B.burgdorferi IgM ORGENTEC (Virion Serion)		<b>1</b>			1
Vidas Lyme IgM BIOMERIEUX	35	<b>214</b>	2	9	260
Total	36	<b>337</b>	4	17	394

**tableau XXII** – échantillon L2 / dépistage Ig totales : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif Ig totales	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Lymetop + ALL DIAG		1 *	24		25

\* : inversion des résultats du dépistage entre L2 (positif) et L3 (négatif) sur le formulaire de saisie des résultats par le LBM

**tableau XXIII** – échantillon L2 : réponses des participants et réponses attendues au questionnaire

<b>Cas clinique</b> : Ce patient de 30 ans se plaint depuis quelques semaines de douleurs du genou gauche qui s'aggravent et d'une gêne qui l'empêchent de courir et de marcher vite. A l'interrogatoire, il n'y a pas de notion de morsure de tique, mais le patient va de temps en temps se promener en forêt. A l'examen clinique, il existe un épanchement articulaire ponctionnable. Il n'y a pas de signes cliniques généraux, ni locaux.	
<b>Devant ce contexte clinique, la sérologie de la borréliose de Lyme prescrite par le médecin a-t-elle un intérêt ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
<b>Oui 98,4%</b> , Non 0,9%, (-) 0,7%	Oui
<b>En fonction du contexte clinique, le résultat du dépistage sérologique obtenu est-il compatible ou incompatible avec le diagnostic de borréliose de Lyme ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
<b>Compatible 96,9%</b> , incompatible 2,1%, (-) 1%	Compatible
<b>En fonction du contexte clinique et du résultat sérologique obtenu, conseillerez-vous un traitement antibiotique pour ce patient ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
<b>Oui 87,5%</b> , Non 10,8%, (-) 1,7%	Oui
<b>Si un traitement antibiotique est instauré, conseillerez-vous un contrôle sérologique un mois après la fin du traitement ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
<b>Non 73,3%</b> , Oui 21%, (-) 5,7%	Non
<b>Sur cet échantillon, les examens complémentaires suivants sont-ils utiles ou inutiles ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
Recherche IgM spécifiques : <b>Inutile 63,9%</b> , utile 18,6%, (-) 17,5%	Inutile
WB IgG : <b>Utile 93,1%</b> , inutile 5%, (-) 1,9%	Utile
WB IgM : <b>Inutile 70,3%</b> , utile 24%, (-) 5,7%	Inutile

**tableau XXIV** – échantillon L2 / Confirmation IgG : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif IgG	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Borrelia Ecoline IgG Dot Blot INGEN (VIROTECH)			3		3
Borrelia Europe LINE plus TpN17 IgG INGEN (VIROTECH)			5		5
Euroline-RN-AT anti Borrelia IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)			6		6
Euroline-WB anti Borrelia IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)			49		49
LYMECHECK Optima IgG et IgM ALLDIAG			33		33
Recomline Borrelia IgG DIASORIN (Mikrogen)			11	1	12
ViraStripe Borrelia Dot blot IgG SERVIBIO			3		3
Western Blot anti B. afzelii IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)			5		5
Western Blot anti B. burgdorferi IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)			8		8
Western Blot anti B. garinii IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)			1		1
réactif non précisé			3		3
Total			127	1	128

**tableau XXV** – échantillon L2 / Confirmation IgM : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif IgM	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Borrelia Europe LINE IgM Dot Blot INGEN (VIROTECH)		2			2
Euroline-RN-AT anti Borrelia IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)		3			3
Euroline-WB anti Borrelia IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)	1	17			18
LYMECHECK Optima IgG et IgM ALLDIAG		17	1		18
Recomline Borrelia IgM DIASORIN (Mikrogen)		2		1	3
ViraStripe Borrelia Dot blot IgM SERVIBIO		1	1		2
Western Blot anti B. afzelii IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)		2		1	4
Western Blot anti B. burgdorferi IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)		1			1
réactif non précisé		2			2
Total	1	47	2	2	52

### 3 - Echantillon L3

Les résultats obtenus par les laboratoires participants en dépistage IgG, IgM ou Ig totales sont rapportés dans les tableaux XXVI à XXVIII, tandis que les réponses au questionnaire sont détaillées dans le tableau XXIX.

Les participants qui ont estimé qu'un Western blot IgG et/ou IgM était utile sur cet échantillon et qui réalisent cet examen de confirmation dans leur laboratoire ont rapporté leurs conclusions. Celles-ci figurent dans les tableaux XXX (IgG) et XXXI (IgM). Les réponses attendues apparaissent en gras.

**tableau XXVI** – échantillon L3 / dépistage IgG : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif IgG	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Anti-Borrelia IgG ALEGRIA ORGENTEC		11			11
Borrelia afzelii + VlsE IgG INGEN (VIROTECH)		1			1
Borrelia burgdorferi IgG/IgM INGEN (VIROTECH)		2			2
ELISA anti-Borrelia IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)		4			4
ELISA anti-Borrelia Plus VlsE IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)		9			9
ELISA anti-Borrelia Select IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)		1			1
Enzygnost Lyme link VlsE / IgG SIEMENS		13		2	15
IFI anti-borrelia burgdorferi sensu stricto IgG BIO-ADVANCE		1			1
Liaison Borrelia IgG DIASORIN		69		4	73
Lyme Sign duo IgG+IgM SERVIBIO		10			10
Platelia Lyme IgG BIORAD		4			4
RecomWell Borrelia IgG DIASORIN (Mikrogen)		5		1	6
Serion Elisa classic B.burgdorferi IgG ORGENTEC (Virion Serion)		1			1
Vidas Lyme IgG BIOMERIEUX		248	2 *	11	261
Total		379	2	18	399

\* : pour 1 LBM : inversion des résultats du dépistage IgG entre L3 (négatif) et L2 (positif) sur le formulaire de saisie des résultats

**tableau XXVII** – échantillon L3 / dépistage IgM : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif IgM	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Anti-Borrelia IgM ALEGRIA ORGENTEC		10			10
Borrelia afzelii IgM INGEN (VIROTECH)		1			1
Borrelia burgdorferi IgG/IgM INGEN (VIROTECH)		2			2
ELISA anti-Borrelia IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)	2	10			12
ELISA anti-Borrelia Select IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)		2			2
Enzygnost Borreliosis / IgM SIEMENS	1	12		2	15

IFI anti-borrelia burgdorferi sensu stricto IgM BIO-ADVANCE		1			1
Liaison Borrelia IgM II DIASORIN		50		3	53
Liaison Borrelia IgM quant DIASORIN		18		1	19
Lyme Sign duo IgG+IgM SERVIBIO		10			10
Platelia Lyme IgM BIORAD		4			4
RecomWell Borrelia IgM DIASORIN (Mikrogen)		3		1	4
Serion Elisa classic B.burgdorferi IgM ORGENTEC (Virion Serion)	1				1
Vidas Lyme IgM BIOMERIEUX	2	1	246	11	260
Total	6	124	246	18	394

**tableau XXVIII** – échantillon L3 / dépistage Ig totales : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif Ig totales	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Lymetop + ALL DIAG	1	23	1 *		25

\* : inversion des résultats du dépistage entre L2 (positif) et L3 (négatif) sur le formulaire de saisie des résultats par le LBM

**tableau XXIX** – échantillon L3 : réponses des participants et réponses attendues au questionnaire

<b>Cas clinique</b> : Ce patient de 75 ans se plaint depuis 16 mois de fatigue ainsi que de douleurs musculaires et de douleurs au niveau de plusieurs grosses articulations et des articulations des doigts. A l'interrogatoire, il n'y a pas de notion d'épanchement articulaire mais le patient va de temps en temps se promener en forêt et se souvient d'avoir retiré une tique au niveau du creux poplité gauche il y a un an environ. A l'examen clinique, il n'existe pas de signes cliniques objectifs.	
<b>Devant ce contexte clinique, la sérologie de la borréliose de Lyme prescrite par le médecin a-t-elle un intérêt ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
Oui 89,8%, Non 9,7%, (-) 0,5%	Absence de consensus
<b>En fonction du contexte clinique, le résultat du dépistage sérologique obtenu est-il compatible ou incompatible avec le diagnostic de borréliose de Lyme ?</b>	
Réponse des participants *	Réponse attendue
NV : Incompatible 87,7%, compatible 11,6%, (-) 0,6% V : Incompatible 51,9%, compatible 44,6%, (-) 3,5%	Incompatible
<b>En fonction du contexte clinique et du résultat sérologique obtenu, conseillerez-vous un traitement antibiotique pour ce patient ?</b>	
Réponse des participants *	Réponse attendue
NV : Non 93,9%, Oui 6,1% V : Non 67,3%, Oui 30%, (-) 2,7%	Non
<b>Si un traitement antibiotique est instauré, conseillerez-vous un contrôle sérologique un mois après la fin du traitement ?</b>	
Réponse des participants	Réponse attendue
Non 61,3%, Oui 13,9%, (-) 24,8%	Non
<b>Sur cet échantillon, les examens complémentaires suivants sont-ils utiles ou inutiles ?</b>	
Réponse des participants *	Réponse attendue
Recherche IgM spécifiques : NV : Inutile 77,9%, utile 4,3%, (-) 17,8% V : Inutile 26,9%, utile 53,1%, (-) 20%	Inutile
WB IgG : NV : Inutile 85,9%, utile 4,3%, (-) 9,8% V : Inutile 75,8%, utile 18,1%, (-) 6,1%	Inutile
WB IgM : NV : Inutile 82,9%, utile 5,5%, (-) 11,6% V : Utile 88,1%, inutile 8,1%, (-) 3,8%	NV : Inutile

\* : V - utilisateurs Vidas, NV - utilisateurs réactifs autres que Vidas

**tableau XXX** – échantillon L3 / Confirmation IgG : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif IgG	Douteux	Négatif	Positif	Total
Euroline-RN-AT anti Borrelia IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)		2		2
Euroline-WB anti Borrelia IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)	2	11	1	14
LYMECHECK Optima IgG et IgM ALLDIAG	1	7		8
ViraStripe Borrelia Dot blot IgG SERVIBIO		1		1
Western Blot anti B. afzelii IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)		2		2
Western Blot anti B. burgdorferi IgG BIO-ADVANCE (Euroimmun)	1	1		2
réactif non précisé		1		
Total	4	25	1	30

**tableau XXXI** – échantillon L3 / Confirmation IgM : conclusion des participants en fonction du réactif utilisé

Réactif IgM	Douteux	Négatif	Positif	Absence conclusion	Total
Borrelia Europe LINE IgM Dot Blot INGEN (VIROTECH)		1	1		2
Euroline-RN-AT anti Borrelia IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)	2	1	1		4
Euroline-WB anti Borrelia IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)	10	15	3		28
LYMECHECK Optima IgG et IgM ALLDIAG	2	2	14		18
Recomline Borrelia IgM DIASORIN (Mikrogen)			1	1	2
ViraStripe Borrelia Dot blot IgM SERVIBIO	1	1			2
Western Blot anti B. afzelii IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)		2			2
Western Blot anti B. burgdorferi IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun)	1	2			3
réactif non précisé	1				1
Total	17	24	20	1	62

## Commentaires

La borréliose de Lyme est l'anthropozoonose la plus fréquente de l'hémisphère Nord. Transmise par piqûre de tique du genre *Ixodes* avec un pic de fréquence de mars à novembre, elle est due à des spirochètes du genre *Borrelia*. Les espèces pathogènes responsables de la BI sont regroupées dans le complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato qui comprend au moins 19 espèces. En Europe, les 3 espèces pathogènes les plus fréquentes sont *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii* et *B. afzelii*.

Suite à une piqûre de tique infectante, 95% des sujets feront une séroconversion sans signes cliniques. Seuls 5% développent une infection active qui peut évoluer schématiquement en 3 phases. La phase précoce localisée correspond à l'apparition, entre 3 et 30 jours après la piqûre, d'un érythème migrant (EM) qui débute par une macule érythémateuse centrée sur la piqûre. La lésion indolore caractéristique (> 5 cm de diamètre) s'étend de façon annulaire et centrifuge jusqu'à atteindre plusieurs dizaines de centimètres de diamètre en quelques semaines à quelques mois. Cette première manifestation clinique disparaît spontanément en quelques mois. En l'absence de traitement antibiotique, la phase précoce disséminée apparaît dans 15% des cas. Les principales manifestations cliniques sont neurologiques (méningoradiculites, paralysie faciale, syndrome méningé,...) ou articulaires (mono ou oligoarthritis touchant les grosses articulations). Les atteintes cutanées (lymphocytome borrélien), cardiaques ou ophtalmologiques sont plus rares. Enfin, la phase tardive de la maladie peut survenir plusieurs mois (> 6 mois) ou années après le début de l'infection non traitée. Les atteintes sont de type neurologique (encéphalomyélite, polyneuropathies,..) ou articulaire (arthrite récidivante, chronique) ou cutanée (acrodermatite chronique atrophiante).



## 1 - Echantillon L1 : IgG négatif / IgM négatif

Le dépistage sérologique n'a pas posé de problème pour cet échantillon, correctement dépisté négatif en IgG et en IgM par respectivement 99% et 98,4% des LBM (tableaux XVI et XVII).

Le réactif de détection des Ig totales Lymetop+ ALL DIAG, utilisé par 25 LBM a également conduit à un dépistage négatif pour 24 d'entre eux (tableau XVIII).

Le contexte clinique décrit un érythème migrant (EM) débutant. A ce stade, la sérologie est négative dans 50% des cas en moyenne en Europe, même avec les méthodes les plus sensibles. Par conséquent, elle n'a aucun intérêt diagnostique. Le diagnostic de cette forme est clinique et épidémiologique.

On note que 29% des participants ignorent que la sérologie n'a pas d'indication dans l'EM. De plus, près d'un participant sur cinq estime qu'un dépistage sérologique négatif dans un contexte évocateur d'un EM est incompatible avec une borréliose de Lyme et par conséquent ne conseillerait pas un traitement antibiotique pour ce patient (tableau XIX) ! Or, même si le dépistage sérologique (qui n'aurait pas dû être prescrit) est négatif, il est impératif qu'un traitement antibiotique, dont le but principal est de prévenir l'apparition de formes disséminées, soit instauré.

En résumé, la simple observation d'un EM typique justifie un traitement antibiotique sans autre investigation complémentaire. En cas d'EM atypique, un avis dermatologique sera demandé.

Par ailleurs, un contrôle sérologique est sans intérêt pour le suivi des patients traités. La surveillance post-thérapeutique est uniquement clinique.

Enfin, en ce qui concerne la sérologie, le Western-blot IgG ou IgM est lui aussi inutile car il n'est globalement pas plus sensible que l'ELISA. C'est pourquoi, il n'est pris en charge que sur un dépistage positif ou douteux (NABM).

## 2 - Echantillon L2 : IgG positif fort / IgM négatif

L'échantillon L2 était fortement positif en IgG comme le montre l'analyse des index rapportés par les participants pour les trois réactifs les plus utilisés : le Vidas IgG avec un index moyen égal à 5,7 (écart-type = 0,7) nettement supérieur au seuil de 0,2 et pour les réactifs Liaison Borrelia IgG et Alegria anti-Borrelia IgG des index > 240 et > 200 pour des seuils respectifs égal à 15 et 25.

En ce qui concerne le dépistage IgG, on observe 100% de résultats positifs pour l'ensemble des réactifs à l'exception de deux d'entre eux (tableau XX) :

- Le Vidas IgG pour lequel on note un faux négatif. L'analyse de l'ensemble des résultats du laboratoire concerné montre qu'il s'agit d'une inversion lors de la saisie des résultats du dépistage IgG entre l'échantillon L2 (IgG positif) et L3 (IgG négatif).
- Le Lyme Sign duo IgG+IgM de Servibio qui est un test immunochromatographique qualitatif pour la détection sélective des IgG et de IgM (une bandelette pour chaque classe d'Ig). Les résultats des 10 utilisateurs de ce réactif sont discordants avec 3 « positif », 1 « douteux » et 6 faux « négatif ».

En ce qui concerne le dépistage IgM, on observe 100% de résultats négatifs pour l'ensemble des réactifs à l'exception de deux d'entre eux (tableau XXI) :

- Le Vidas IgM pour lequel on note 14% « douteux » et 0,8% « positif ». L'analyse des index précisés par les 35 laboratoires ayant conclu « douteux » nous permet d'affirmer qu'il s'agit d'une interprétation erronée de leur part, du résultat rendu par l'automate. En effet, l'index moyen égal à 0,22 (écart-type = 0,02) est inférieur au seuil de l'automate fixé à 0,32.
- Le Lyme Sign Duo IgG+IgM pour lequel on observe 7 « négatif », 1 « douteux » et 2 faux « positif ».

En ce qui concerne le réactif Lymetop+ (Ig totales), pour lequel on note un faux négatif, l'analyse de l'ensemble des résultats du laboratoire concerné montre qu'il s'agit d'une inversion lors de la saisie des résultats du dépistage entre l'échantillon L2 positif et l'échantillon L3 négatif.

Le tableau clinique est compatible avec une arthrite de Lyme. La sérologie est ici déterminante dans le diagnostic comme l'ont indiqué la majorité (98,4%) des participants. Si la sérologie est négative, on peut exclure la borréliose de Lyme comme étiologie de l'atteinte articulaire. En cas d'étiologie « borrelienne », ce qui est le cas ici, la sérologie est habituellement fortement positive (notamment en IgG tandis que les réponses IgM sont négatives ou rarement positives). A noter que la négativité des IgM ne signifie pas obligatoirement une « cicatrice sérologique » et ne doit pas faire exclure une arthrite de Lyme active.

Comme l'ont précisé 93% des participants, le Western blot IgG est utile pour confirmer le résultat positif du dépistage. L'ensemble des laboratoires qui réalisent cet examen (30% des participants) a rendu une conclusion positive, en faveur d'une infection.

Le Western blot IgM est inutile en l'absence de dépistage IgM positif et n'apporte pas d'information supplémentaire dans ce contexte clinique. Néanmoins, 50 participants ont effectué cet examen qui a conduit à 47 résultats négatif, un douteux et deux positifs.

Un traitement antibiotique doit être instauré pour guérir l'arthrite. Or, 37 participants ne conseilleraient pas de traitement antibiotique malgré le fait qu'ils aient conclu que le dépistage IgG positif dans ce contexte clinique était compatible avec une borréliose de Lyme.

Enfin, contrairement à ce que pense 21% des participants, le contrôle sérologique des patients traités est sans intérêt car les anticorps mettent très longtemps à disparaître, même après un traitement efficace, notamment au stade disséminé.

### 3 - Echantillon L3 : IgG négatif / IgM négatif (ou positif en Vidas bioMérieux)

Le dépistage négatif des IgG n'a pas posé de problème (99,5% réponses exactes) (tableau XXVI). Seuls deux laboratoires utilisateur du Vidas ont rendu un résultat faussement positif et l'un d'eux correspond au cas évoqué plus haut (faux négatif IgG sur L2 et faux positif sur L3 dus à une inversion de saisie des résultats entre L2 et L3).

Comme attendu, le dépistage des IgM a conduit à un résultat négatif pour l'ensemble des réactifs (96,9% « négatif » et 3,1% « douteux ») à l'exception du Vidas Lyme IgM : 98,8% « positifs » avec un index moyen égal à 0,44 (écart-type = 0,04) supérieur au seuil de 0,32 (tableau XXVII).

En ce qui concerne le réactif Lymetop+ (Ig totales), on note un seul dépistage positif qui correspond au cas d'un laboratoire évoqué plus haut (faux négatif sur L2 et faux positif sur L3 dus à une inversion de résultats entre L2 et L3) (tableau XXVIII).

Une sérologie *Borrelia* négative en IgG et en IgM ou bien positive de façon isolée en IgM (cas des utilisateurs Vidas) ne correspond pas à une pathologie chronique liée à *Borrelia* et évoluant depuis un an ou plus.

Le dépistage IgG étant négatif, le Western blot IgG est inutile car, comme cela a déjà été dit plus haut pour l'échantillon L1, il n'est globalement pas plus sensible que l'ELISA.

La positivité isolée en IgM, si elle est confirmée par un Western-blot IgM positif peut correspondre à une infection à *Borrelia* récente (moins de 3 mois) intercurrente. En revanche, le dépistage positif des IgM non confirmé par un Western-blot IgM (négatif) correspond à une réaction croisée en dépistage avec d'autres pathologies infectieuses (EBV, HSV, CMV, syphilis) ou des pathologies auto-immunes et ne doit pas inciter à un traitement antibiotique.

La société BioMérieux a investigué les causes possibles du résultat positif en IgM sur le Vidas. Leur conclusion est la suivante : « la recherche de facteurs rhumatoïdes sur l'échantillon L3 par le test Waaler Rose est positive. Cet élément est la cause probable du problème constaté. Cette interférence est indiquée dans la notice du kit Vidas Lyme IgM. Le produit est conforme aux performances revendiquées dans la notice. »

En conclusion, il s'agit d'un faux positif en dépistage IgM dû à la présence de facteurs rhumatoïdes. En routine, la réalisation d'un Western blot IgM qui dans ce cas est négatif permet de conclure que les résultats ne sont pas en faveur d'une infection mais sont en faveur d'une réaction croisée en sérologie de dépistage.

Dans le cas de l'échantillon L3, qu'en est-il des résultats du Western-blot IgM ?

- le CNR *Borrelia* qui réalise un Western-blot « maison » a conclu à la négativité de l'échantillon.
- les conclusions apportées par les 61 participants qui ont effectué un Western-blot IgM sont plus contrastées (39% « négatif », 28% « douteux » et 33% « positif ») et sont la preuve des difficultés rencontrées par les biologistes lors de l'interprétation d'un blot quel que soit le réactif utilisé.

Par conséquent, l'échantillon L3 a été adressé, pour expertise, aux deux industriels (Euroimmun et All Diag) qui commercialisent les réactifs les plus utilisés :

- Euroline-WB anti *Borrelia* IgM BIO-ADVANCE (Euroimmun), 28 utilisateurs pour lesquels on note 53% « négatif », 36% « douteux » et 11% « positif »,
- LYMECHECK Optima IgM ALLDIAG, 18 utilisateurs pour lesquels on note 11% « négatif », 11% « douteux » et 78% « positif ».

Le laboratoire de contrôle Euroimmun a rendu les conclusions suivantes : Négatif pour le réactif Euroline-WB (absence de bandes) et négatif pour le réactif RN-AT plus récent (bande OspC Bb limite et bandes OspC Ba, OspC Bg, p41, p39, VlsE Bb négatives), tandis que la société All Diag a rendu la conclusion suivante : IgM positif car présence d'OspC (score : 8 points, supérieur au cut-off 7 points).

L'avis rendu par le CNR *Borrelia* sollicité sur cette interprétation est que la positivité d'une seule bande (OspC ou autre) est insuffisante pour déclarer un blot IgM positif. C'est privilégier la sensibilité au détriment de la spécificité, aboutissant à un faux positif en Western-blot ; ce qui n'est pas le but d'un blot. De plus, cela ne correspond pas à la physiopathologie de l'infection. Ce type de résultat devrait être interprété négatif ou éventuellement douteux.

En conclusion, l'échantillon L3 illustre parfaitement l'absence d'harmonisation dans l'interprétation du blot IgM.

## Conclusion

Cette opération de contrôle « sérologie de la borréliose de Lyme » a permis de connaître la répartition actuelle par région, des LBM hospitaliers et de ville qui réalisent la sérologie de dépistage. Elle a également montré les bonnes performances des réactifs de dépistage IgG et IgM utilisés en routine sur les 3 échantillons testés et les difficultés rencontrées dans l'interprétation d'un test de confirmation de type Western blot en particulier IgM. Enfin, elle a mis en évidence la nécessité d'améliorer l'information des biologistes sur l'interprétation d'un résultat de dépistage en

fonction de la clinique et des données épidémiologiques. A cet égard, des recommandations sont en cours d'élaboration au niveau ministériel.

## Bibliographie

- (1) Schramm F., Grillon A., De Martino S., Jaulhac B. La borréliose de Lyme. RFL, 2013, n°457 : 35-49
- (2) *Borrelia burgdorferi* sensu lato, Société Française de Microbiologie Ed., REMIC 2015, 5<sup>e</sup> édition, p465-470
- (3) Stanek G et al. Lyme borreliosis : Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. Clin. Microbiol. Infect., 2011, 17 : 69-79
- (4) HCSP. Avis et rapport relatif à la borréliose de Lyme (04/12/2014). <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=464>
- (5) <http://www.eucalb.com>