



39^{ème} RICAI

Diagnostic biologique des maladies vectorielles à tiques

Pr Benoît Jaulhac

**CNR des *Borrelia* - EA 7290
Laboratoire de Bactériologie**

CHU & Université de Strasbourg

Déclaration publique d'intérêt

en rapport avec le thème de la présentation



Consultant ou membre d'un conseil scientifique

OUI



NON



Conférencier ou auteur/rédacteur rémunéré d'articles ou documents

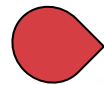


OUI



NON

- Bayer vétérinaire



Prise en charge de frais de voyage, d'hébergement ou d'inscription à des congrès ou autres manifestations

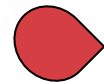


OUI



NON

- Janssen-Cilag, EFS, Bioaster



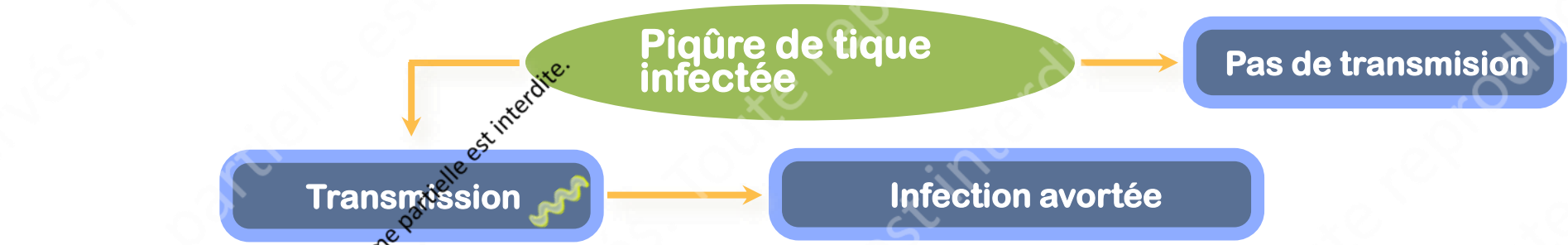
Investigateur principal d'une recherche ou d'une étude clinique



OUI



NON



1 - 4 %
Borréliose de Lyme

absence de ITT

phase précoce localisée



Érythème migrant

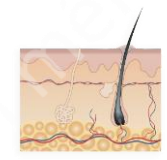
10 %
phase précoce disséminée



neuro



articulaire



Lymphocytome

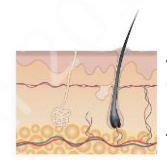


cardiaque



oculaire

phase tardive



Acrodermatite
 Chronique
 Atrophiante



chroniques

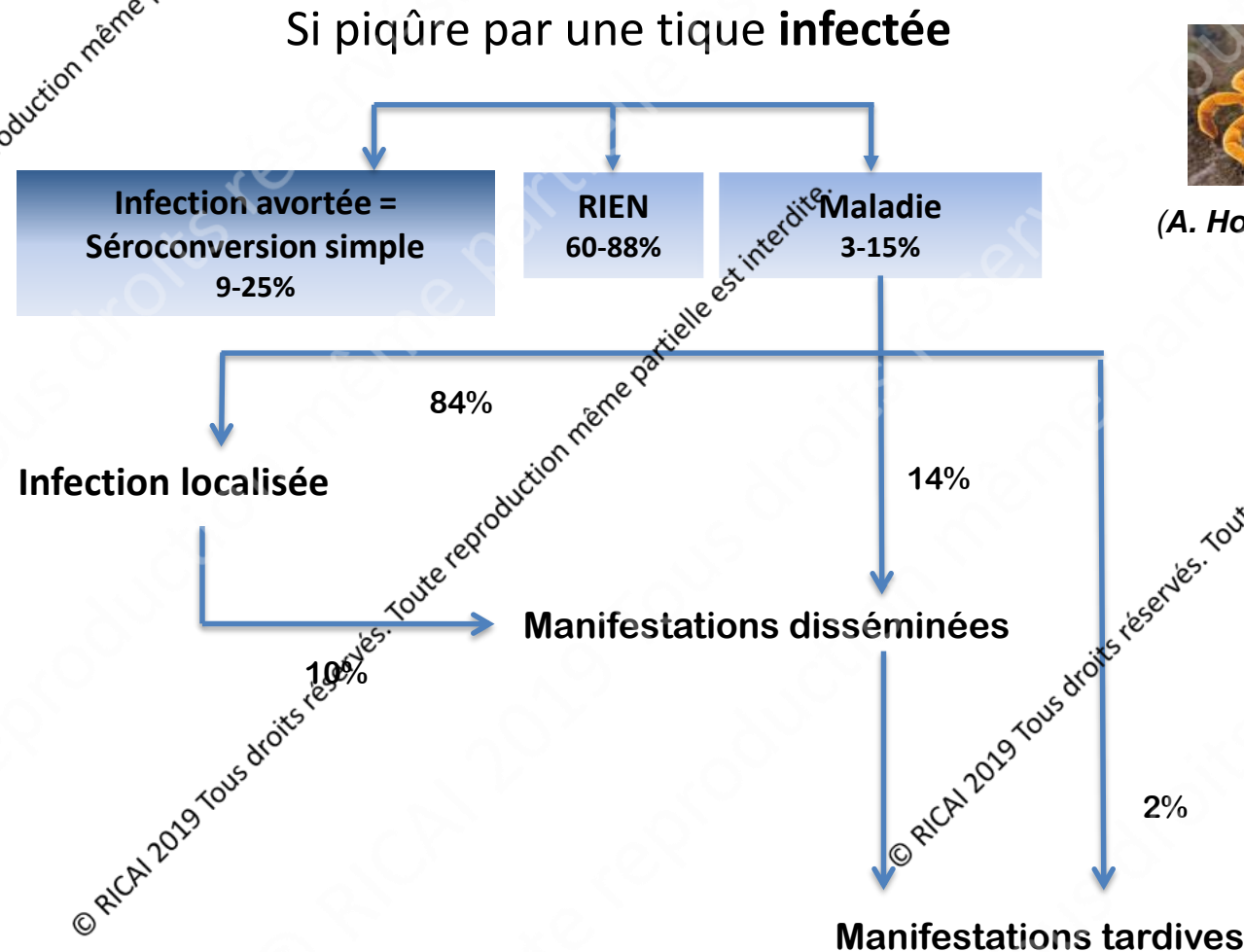


D'après F. Schramm



J'ai été piqué par une tique...

Taux d'infection par *Borrelia* en Europe : 1 – 30% (nymphes : 10% en France)



(A. Hofhuis et al., 2013)

Maladies à tiques en Europe

Vecteur	Pathogène	Maladie
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>Rickettsia conorii</i> complex	Fièvre boutonneuse méditerranéenne
<i>Dermacentor</i> sp.	<i>Rickettsia slovaca</i>	TIBOLA-DEBONEL-SENLAT
<i>Ixodes ricinus</i>	TBE virus	TBE
	<i>Babesia</i>	Babésiose
	<i>Borrelia burgdorferi</i> s.l.	Lyme
	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Anaplasmose humaine granulocytaire
	<i>Francisella tularensis</i> <i>Rickettsia helvetica</i>	Tularémie ?

Tests diagnostiques borréliose de Lyme européenne

- **Tests directs :**

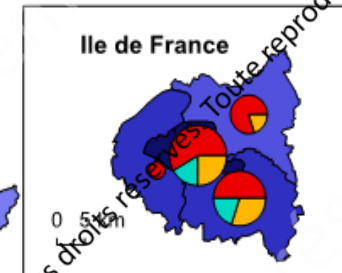
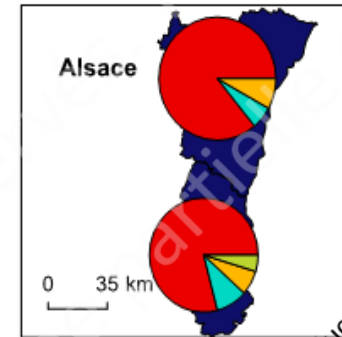
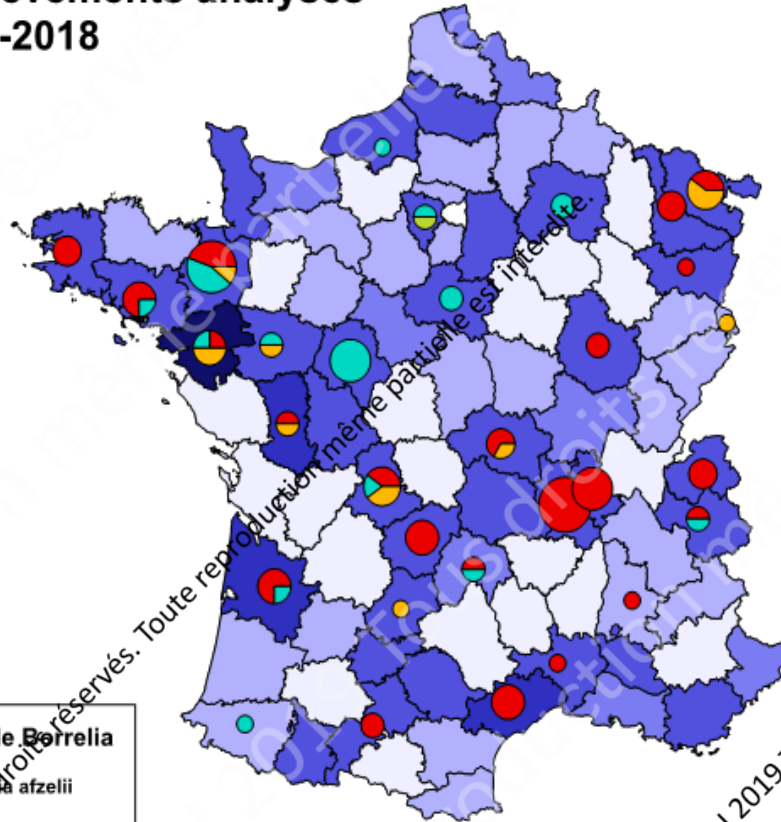
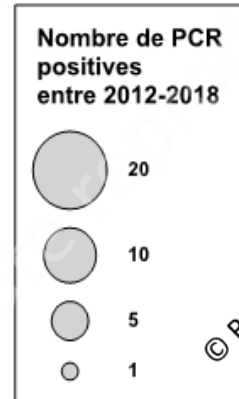
- **Culture** : lente – réservé aux labos spécialisés - sensibilité variable selon le site anatomique
- **PCR** : *sensibilité mauvaise sur LCS +++*, *quasi nulle sur le sang +++*
→ **Utile sur biopsies et sur liquides articulaires**

- **Sérologie :**

- En 2 temps (EIA ± WB) : pour conjuguer sensibilité et spécificité
- **N'est pas un test de dépistage** -> sérologie positive ≠ maladie
→ **A prescrire et à interpréter en fonction de la clinique +++**
- Ne permet pas de **≠** cicatrice sérologique et infection active
- Attention aux **IgM (+) isolées persistantes ++**
- **Neuroborréliose** : intérêt de la PL associée ++ :
 - **Lymphocytose**
 - **Synthèse intrathécale spécifique anti *Borrelia***

Espèces de *Borrelia* détectées chez l'Homme en France (n = 221)

Répartition de prélèvements analysés
en PCR entre 2012-2018



© RICAI 2019 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2019 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Tests diagnostiques borréliose de Lyme européenne

Suspicion clinique	Sérologie ELISA	Sensibilité sérologie	Spécificité sérologie	PCR	Autres examens utiles
Piqûre de tique	Pas d'intérêt	/	/	/	Non
Erythème migrant	Non recommandé	IgG : 36% IgM : 42%	IgG : 96% IgM : 95%	PCR biopsie cutanée : Sensibilité 35-81%	PCR biopsie cutanée

Tests diagnostiques borréliose de Lyme européenne

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

Tests diagnostiques borréliose de Lyme européenne

Suspicion clinique	Sérologie ELISA	Sensibilité sérologie	Spécificité sérologie	PCR	Autres examens utiles
Piqûre de tique	Pas d'intérêt	/	/	/	Non
Erythème migrant	Non recommandé	IgG : 36% IgM : 42%	IgG : 96% IgM : 95%	PCR biopsie cutanée : Sensibilité 35-81%	PCR biopsie cutanée
Neuroborréliose précoce < 6 semaines	IgG + IgM	67-85%	92-97%	PCR LCS : Sensibilité variable	Synthèse intra-thécale (index Ac) Cytologie du LCS (lymphocytose)
Neuroborréliose semi-précoce 6 semaines - 6 mois	IgG + IgM	90-99%	92-97%	PCR LCS: Pas d'intérêt	Synthèse intra-thécale Cytologie du LCS (lymphocytose)
Neuroborréliose tardive > 6 mois	IgG	99%	92-97%	PCR LCS: Pas d'intérêt	/
Arthrite de Lyme	IgG	IgG : 94% IgM : 39%	IgG : 97% IgM : 95%	PCR liquide articulaire: Sensibilité 36-85%	PCR biopsie synoviale

Tests diagnostiques borréliose de Lyme européenne

Suspicion clinique	Sérologie ELISA	Sensibilité sérologie	Spécificité sérologie	PCR	Autres examens utiles
Piqûre de tique	Pas d'intérêt	/	/	/	Non
Erythème migrant	Non recommandé	IgG : 36% IgM : 42%	IgG : 96% IgM : 95%	PCR biopsie cutanée : Sensibilité 35-81%	PCR biopsie cutanée
Neuroborréliose précoce < 6 semaines	IgG + IgM	67-85%	92-97%	PCR LCS : Sensibilité variable	Synthèse intra-thécale (index Ac) Cytologie du LCS (lymphocytose)
Neuroborréliose semi-précoce 6 semaines - 6 mois	IgG + IgM	90-99%	92-97%	PCR LCS: Pas d'intérêt	Synthèse intra-thécale Cytologie du LCS (lymphocytose)
Neuroborréliose tardive > 6 mois	IgG	99%	92-97%	PCR LCS: Pas d'intérêt	/
Arthrite de Lyme	IgG	IgG : 94% IgM : 39%	IgG : 97% IgM : 95%	PCR liquide articulaire: Sensibilité 36-85%	PCR biopsie synoviale
Acrodermatite chronique atrophiante	IgG	IgG : 99% IgM : 18%	IgG : 97% IgM : 97%	PCR biopsie cutanée : Sensibilité 16-92%	Histologie

Tests diagnostiques borréliose de Lyme européenne

Suspicion clinique	Sérologie	Critères diagnostiques sérologiques	Spécificité sérologie	PCR	Autres examens utiles
Encéphalite à tiques	IgG + IgM	IgM et IgG Séroconversion ou Augmentation IgG	Réactions croisées : autres arboviroses, vaccin fièvre jaune (IgG)	uniquement à la phase initiale (virémie)	LCS : Cytologie (monocytose) + IgM

Tests diagnostiques borréliose de Lyme européenne

Suspicion clinique	Sérologie	Critères diagnostiques sérologiques	Spécificité sérologie	PCR	Autres examens utiles
Encéphalite à tiques	IgG + IgM	IgM et IgG Séroconversion ou Augmentation IgG	Réactions croisées : autres arboviroses, vaccin fièvre jaune (IgG)	uniquement à la phase initiale (virémie)	LCS : Cytologie (monocytose) + IgM
Anaplasmose granulocytaire humaine	IgG, IgM ou IgT	Augmentation Ig T ou Séroconversion, Se: 32% Taux élevé Ig Totales Se : 58%	97%	PCR sur sang total, phase fébrile Se: 74%, Sp : 100%	Frottis sanguin (détection de morulae) Se : 20%

Tests diagnostiques borréliose de Lyme européenne

Suspicion clinique	Sérologie	Critères diagnostiques sérologiques	Spécificité sérologie	PCR	Autres examens utiles
Encéphalite à tiques	IgG + IgM	IgM et IgG Séroconversion ou Augmentation IgG	Réactions croisées : autres arboviroses, vaccin fièvre jaune (IgG)	uniquement à la phase initiale (virémie)	LCS : Cytologie (monocytose) + IgM
Anaplasmoses granulocytaire humaine	IgG, IgM ou IgT	Augmentation Ig T ou Séroconversion, Se: 32% Taux élevé Ig Totales Se : 58%	97%	PCR sur sang total, phase fébrile Se: 74%, Sp : 100%	Frottis sanguin (détection de morulae) Se : 20%
Babésiose	IgG + IgM ou IgT	Séroconversion ou augmentation des IgT Sensibilité : inconnue	inconnue	PCR sur sang total en phase fébrile	Frottis sanguin (détection de trophozoïtes)

Tests diagnostiques borréliose de Lyme européenne

Suspicion clinique	Sérologie	Critères diagnostiques sérologiques	Spécificité sérologie	PCR	Autres examens utiles
Encéphalite à tiques	IgG + IgM	IgM et IgG Séroconversion ou Augmentation IgG	Réactions croisées : autres arboviroses, vaccin fièvre jaune (IgG)	uniquement à la phase initiale (virémie)	LCS : Cytologie (monocytose) + IgM
Anaplasmose granulocytaire humaine	IgG, IgM ou IgT	Augmentation Ig T ou Séroconversion, Se: 32% Taux élevé Ig Totales Se : 58%	97%	PCR sur sang total, phase fébrile Se: 74%, Sp : 100%	Frottis sanguin (détection de morulae) Se : 20%
Babésiose	IgG + IgM ou IgT	Séroconversion ou augmentation des IgT Sensibilité : inconnue	Inconnue	PCR sur sang total en phase fébrile	Frottis sanguin (détection de trophozoites)
<i>Borrelia miyamotoi</i>	Néant	/	/	PCR sur sang total en phase fébrile	
<i>Candidatus Neorhlichia mikurensis</i>	Néant	/	/	PCR sur sang total en phase fébrile	/
Fièvre boutonneuse méditerranéenne	IgG + IgM	Séroconversion ou augmentation Ig T Sensibilité : 100% après J30	Risque de réactions croisées entre les espèces	PCR sur escarre d'inoculation	Cytopénie
<i>Francisella tularensis</i>	IgG ou IgM	Séroconversion ou augmentation IgG Sensibilité : 100% après J30	Réactions croisées en IgM	PCR ulcération ou ganglion, Se : 75%	/

Autres tests de laboratoire

© RICAI 2019 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2019 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2019 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Le CXCL13 dans les neuroborrélioses

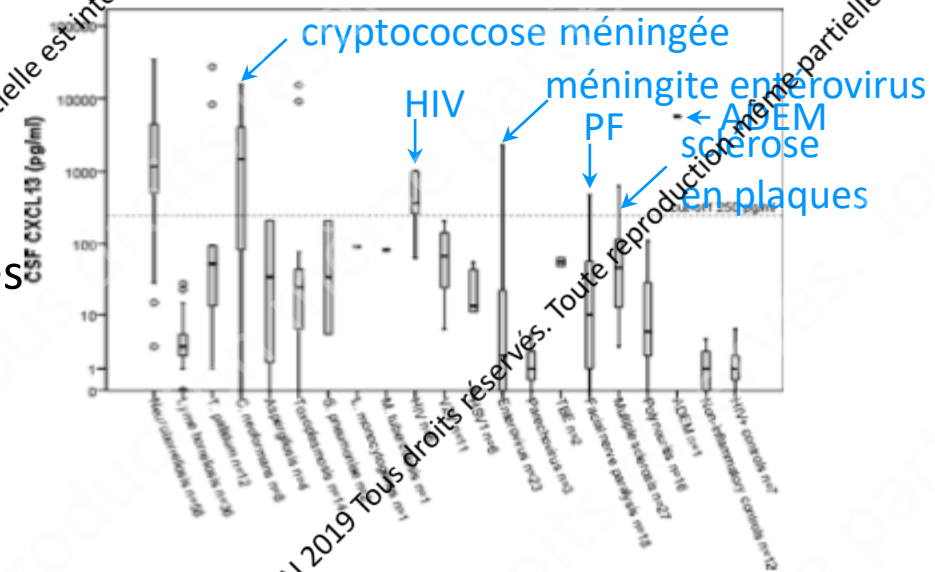
Molécule sécrétée par les cellules dendritiques avec action sur les lymphocytes B

Exprimée à des niveaux élevés dans le LCS de patients atteints de neuroborréliose précoce

Limitations = spécificité

- * Standardisation
- * Positif en cas de neuro-syphilis, de méningites carcinomateuses, de méningites virales

Intéressant pour sa VPN ?
Marqueur thérapeutique ?



1 Kingwell K., Infectious diseases : CXCL13 is a potential biomarker for Lyme neuroborreliosis, Nat Rev Neurol (2011)

2 Wutte N et al., Discriminating Lyme neuroborreliosis from other neuroinflammatory diseases by levels CXCL13 in cerebrospinal fluid, J Clin Microbiol (2011)

Tests de transformation lymphocytaire (LTT) ?

Technique évaluée et standardisée pour la tuberculose : mise en évidence d'une synthèse d'INF γ après stimulation des lymphocytes T par des protéines de mycobactéries

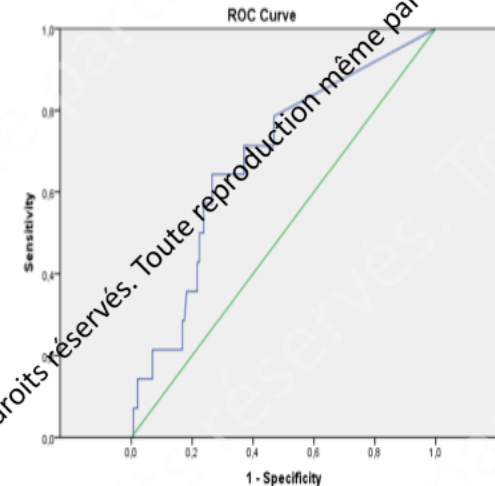
- Un réactif actuellement commercialisé pour *Borrelia* : Elispot[®]
- Une étude avec témoins publiée : (3)

14 neuroborrélioses : clinique + LCR ≥ 5 $\text{MNC}/\mu\text{L}$ + SIT IgG

- 103 contrôle symptomatiques non-Lyme (neuro, art, ...séro sg et SIT neg)

Diagnostic groups	ELISPOT cut-off ≥ 5 spots		ELISPOT cut-off ≥ 10 spots	
	Positive	Negative	Positive	Negative
Lyme neuroborreliosis (n = 14)	5 (36%)	9 (64%)	3 (21%)	11 (79%)
Non-Lyme borreliosis (n = 103)	19 (18%)	84 (82%)	8 (8%)	95 (92%)

-> Sensibilité 36 % - Spécificité 82 % ! (3)



1 Von Baehr V et al., The lymphocyte transformation test for *Borrelia* detects active Lyme Borreliosis and verifies effective antibiotic treatment. *The Open Neurology J* (2012)

2 Pury BK et al., Diagnostic use of the lymphocyte transformation test-memory lymphocyte immunostimulation assay in confirming active Lyme borreliosis in clinically and serologically ambiguous cases. *Int J Clin Exp Med* (2014)

3 Nordberg M et al., Can ELISPOT be applied to a clinical setting as a diagnostic utility for Neuroborreliosis? *Cells* (2012)

TTL et marqueur d'activité ?



An Enzyme-Linked Immunosorbent Spot Assay Measuring *Borrelia burgdorferi* B31-Specific Interferon Gamma-Secreting T Cells Cannot Discriminate Active Lyme Neuroborreliosis from Past Lyme Borreliosis: a Prospective Study in the Netherlands

T. van Gorkum,^{1,2} S. U. C. Sankatsing,^{1,2} W. Voet,¹ D. M. Ismail,¹ R. H. Muilwijk,¹ M. Salomons,¹ B. J. M. Vlamincx,¹ A. W. J. Bessink,¹ D. W. Notermans,¹ J. J. M. Bouwman,^{1,2} K. Kremer,¹ S. F. T. Thijssen¹

April 2018 Volume 56 Issue 4 e01695-17

Journal of Clinical Microbiology

- 33 NB actives : clinique + LCR ≥ 5 MNC/ μ L +/- SIT IgG (n=25)
- 37 NB traitées : idem, mais ≥ 4 mois après arrêt du TT
- 28 sujets sains (asympto), TT dans le **passé pour Lyme** (5/28 séro sg +)
- 145 contrôles sains (asympto), **sans ATCD** de Lyme, non TT (18/145 séro sg +)

-> **Pas de distinction infection active versus infection passée versus sujets sains traités**

Détection de *Borrelia* au microscope ??

Laane MM et al., A simple method for the detection of live *Borrelia spirochaetes* in human blood using classical microscopy techniques. *Biol Biomed Rep* (2013)

Aase A. et al. **Validate or falsify: Lesson learned from o microscopy method claimed to be useful for detecting *Borrelia* and *Babesia* organisms in human blood.** *Inf Diseases* (2016)

Table 2. Proportion (%) of subjects positive for *Borrelia* and *Babesia* like structures (95% CI) by microscopy; Lab. 1 using the LM-method and Lab. 2 using conventional protocol of the patient group ($n = 21$) and the control group ($n = 41$).

	Lab. 1 (LM-method)		Lab. 2 (Conventional method)	
	Patient group	Control group	Patient group	Control group
<i>Borrelia</i>	52 (30–74)	61 (45–76)	nd*	nd
<i>Babesia</i>	57 (34–78)	85 (72–94)	0	0
Double infection	43 (22–66)	59 (42–74)	na*	na

nd, not done at this Lab; na, not applicable.



« *Borrelia* » en collier de perles (L-form) chez un sujet « témoin »

-> **Nombre de positifs dans le groupe « contrôle » plus élevé que dans le groupe « patient »**

© RICAI 2019 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



© RICAI 2019 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2019 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Intérêt du CD57 des cellules NK ??

Musical hallucinations in patients with Lyme disease.

Stricker RB, Winger EE.
South Med J. 2003;96 :711-5.

Longterm decrease in the CD57 lymphocyte subset in a patient with chronic Lyme disease.

Stricker RB, Burrascano J, Winger E.
Ann Agric Environ Med. 2002;9 :111-3.

Decreased CD57 lymphocyte subset in patients with chronic Lyme disease.

Stricker RB, Winger EE.
Immunol Lett. 2001, 1;76 :43-8.

Natural killer cell counts are not different between patients with post-Lyme disease syndrome and controls.

Marques A, Brown MR, Fleisher TA.
Clin Vaccine Immunol. 2009;16:1249-50.

-> Aucune différence du taux des cellules NK CD57 entre les 3 groupes

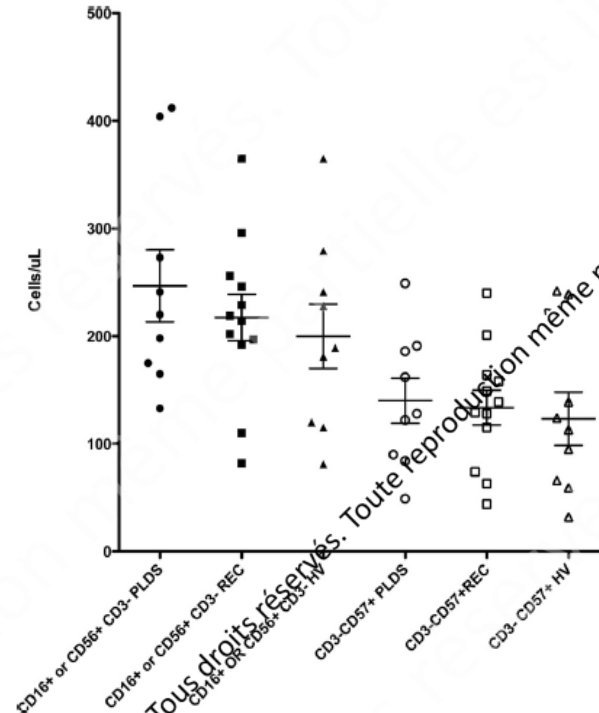


FIG. 1. Natural killer cell numbers (CD16+ or CD56+ CD3-) and CD3- CD57+ cell numbers do not differ between PLDS patients, individuals who have recovered from Lyme disease (REC), and healthy volunteers (HV).

Sociétés savantes ayant participé et validé ces recommandations



Société Française de Microbiologie



SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MÉDECINE DU TRAVAIL



Société Nationale Française de Médecine Interne



FÉDÉRATION FRANÇAISE DE NEUROLOGIE



Société Française d'Ophtalmologie



Société Française de Dermatologie



Société Française de Mycologie Médicale



SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE NEUROLOGIE



Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français



société française de rhumatologie



Société Française de Cardiologie

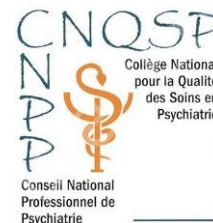
de la COLLÈGE MÉDECINE GÉNÉRALE



Société Française d'Etude et de Traitement de la Douleur



Société Française de Pédiatrie



Collège National pour la Qualité des Soins en Psychiatrie
Conseil National Professionnel de Psychiatrie

Société de psychologie médicale et de psychiatrie de liaison de langue française

Société française de rhumatologie et médecine interne pédiatrique

© RICAI 2019 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.