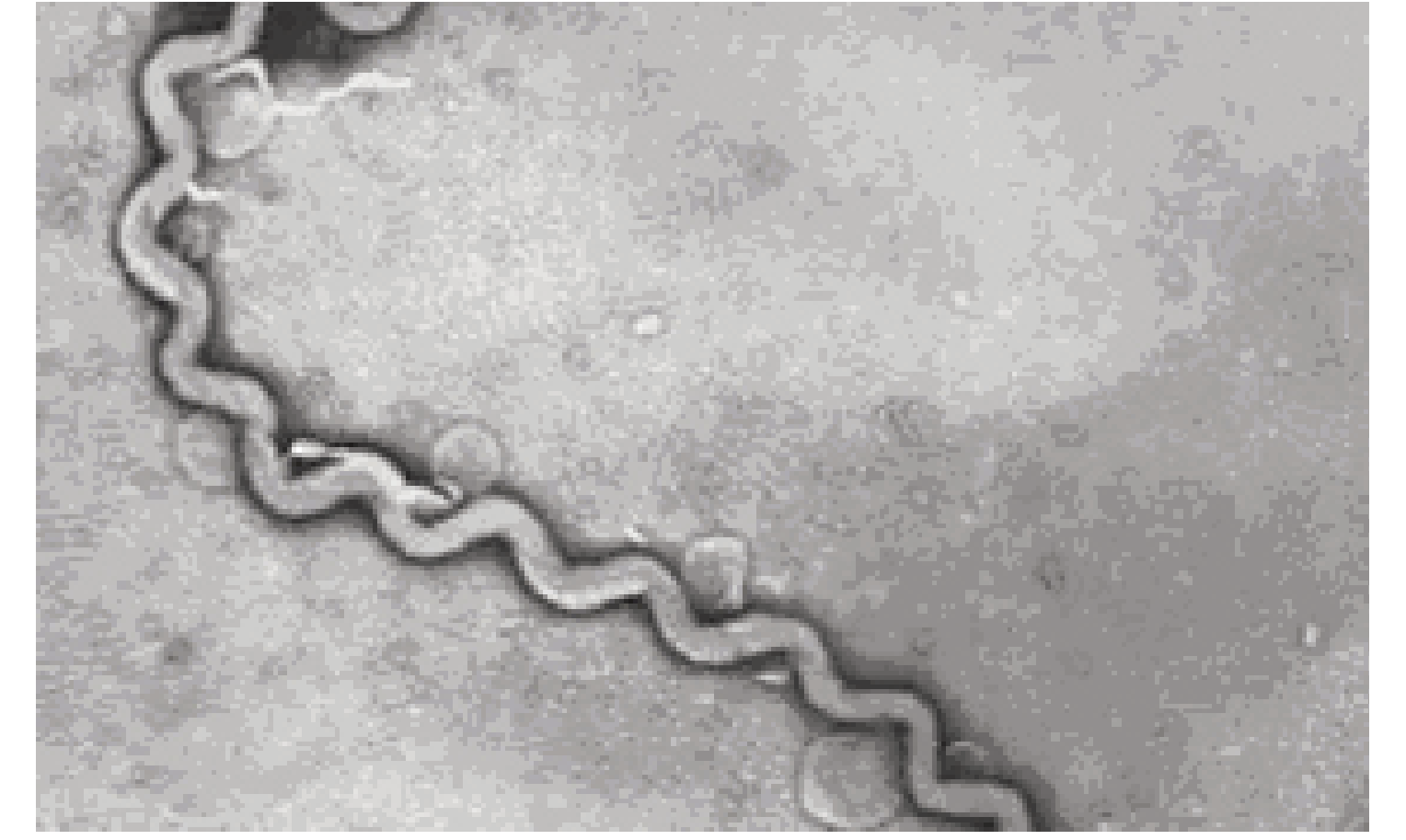


DEPISTAGE DE LA LEPTOSPIROSE : PERFORMANCE DE LA TROUSSE SERION ELISA *classic* LEPTOSPIRA IgM

Trombert-Paolantoni S, Thomas P, Hermet F, Clairet V, Maury L
Laboratoire Pasteur Cerba, Cergy-Pontoise, France

INTRODUCTION

La leptospirose est une zoonose où l'homme est un hôte occasionnel. Il se contamine à l'occasion d'un contact de la peau lésée ou des muqueuses avec de l'eau souillée par des leptospires excrétés dans les urines de rongeurs, principal réservoir de la bactérie. L'incidence de la maladie en France (DOM-TOM exclus) est de l'ordre de 0,5 cas pour 100.000 habitants par an soit un des taux les plus élevés parmi les pays industrialisés. Il est à noter que ces taux sont à multiplier par 30 aux Antilles et par 50 en Nouvelle Calédonie. En métropole, on note une recrudescence saisonnière avec un pic de fréquence pendant la saison chaude, de juillet à octobre. L'Aquitaine, la Champagne-Ardennes, la Franche-Comté, le Poitou-Charente sont les régions où l'incidence est la plus élevée.



Vingt-cinq pour cent des cas sont liés à une exposition professionnelle, les 75 % restant étant liés à la pratique de sports nautiques en eau douce. La maladie touche 9 hommes pour une femme, d'âge moyen 40 ans. Les formes sévères avec atteinte viscérale sont rares, de l'ordre de 5 à 10 %, mais associées à une mortalité élevée de 10 à 15 %. Le genre *Leptospira* est divisé en 2 espèces : *L. interrogans* (23 sérogroupes, 230 sérovars), regroupant tous les sérogroupes pathogènes pour l'homme et les animaux et *L. biflexa* (28 sérogroupes, 63 sérovars) ne comportant que des saprophytes. Le diagnostic biologique repose essentiellement sur la sérologie. La Nomenclature des Actes de Biologie Médicale impose depuis octobre 2005 la réalisation, en première intention, d'un test de dépistage par une technique de macro-agglutination utilisant l'antigène TR. Cette technique donne des résultats peu satisfaisants en terme de sensibilité (67 % de faux positifs) et en terme de spécificité (5 % de faux négatifs). Pour ces raisons, depuis avril 2008, le laboratoire Pasteur Cerba a remplacé le test recommandé par la N.A.B.M. par une technique ELISA en microplaque pour le dépistage des IgM anti-*Leptospira*.

OBJET DE L'ETUDE

Evaluer la sensibilité et la spécificité de la détection des IgM anti-*Leptospira* avec la trousse Sérion Elisa *classic* en comparaison de la trousse Panbio ELISA. Définir le seuil de positivité en fonction des résultats de la technique de microagglutination de Martin et Pettit (M.A.T) réalisée au C.N.R. des leptospires.

PATIENTS & METHODES

De mars 2007 à mai 2008, 23 sérums de patients dont la PCR *Leptospira* en temps réel est positive sont testés avec les réactifs Sérion et Panbio pour étude de la sensibilité. La détection des IgM anti-*Leptospira* par les 2 trousseuses repose sur une technique ELISA en microplaque. Le seuil de détection est de 15 U/ml pour le réactif Sérion et de 9 U/ml pour le réactif Panbio. La technique de PCR repose sur l'utilisation d'une paire d'amorces (L737 et L1218) spécifiques du genre *Leptospira* pour l'amplification d'une séquence de 482 paires de bases de l'ADNr 23S. La sonde Taqman s'hybride entre les positions 969 et 998 de l'amplicon, région spécifique de l'espèce *L. interrogans*. La PCR en temps réel est réalisée sur l'instrument Roche Light Cycler 1.2.

Trente sérums positifs en M.A.T. sont testés avec les réactifs Sérion afin de compléter l'étude de la sensibilité. La M.A.T., technique de référence pour le titrage des anticorps et le sérotypage de la souche infectante, consiste à incuber le sérum du patient avec une culture de différents sérovars puis à évaluer le degré d'agglutination au microscope à fond noir. En cas d'agglutination complète, le sérum est dilué pour déterminer son titre vis-à-vis des différentes cultures de leptospires.

La spécificité est évaluée en comparaison de 49 sérums négatifs en M.A.T. et de sérums positifs en IgM anti-Borrelia (n = 10), en IgM anti-VCA (n = 10) et en IgM de la syphilis (n = 10).

RESULTATS OBTENUS

TABLEAU 1 : Sensibilité des réactifs Sérion et Panbio évaluée à partir de sérums de patients dont la PCR *Leptospira* est positive : n = 23

	Réactif Sérion ELISA classic	Réactif Panbio ELISA
Nombre de sérums positifs ou limites	14	12
Nombre de sérums négatifs	9	11
Pourcentage de sérums positifs (%)	61	52

TABLEAU 2 : Sensibilité du réactif Sérion à partir de sérums positifs en M.A.T. : n = 30

	Réactif Sérion ELISA classic
Nombre de sérums positifs ou limites	25
Pourcentage de sérums positifs (%)	84

Les 30 sérums positifs en M.A.T. appartiennent aux sérogroupes *Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa*, *Australis*, *Tarassovi*, *Canicola*, *Sejroe*, *Patoc* et *Cynopteri*. En France métropolitaine, les sérogroupes *Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa*, *Australis*, *Canicola* et *Sejroe* sont les plus fréquemment impliqués en pathologie humaine.

TABLEAU 3 : Evaluation du seuil de détection de la trousse Sérion ELISA Classic à partir de sérums dépistés positifs en IgM Sérion non confirmés en M.A.T. et à partir de sérums positifs en IgM Sérion confirmés en M.A.T.

Sérums dépistés positifs ou limites avec la trousse Sérion et négatifs en M.A.T. : n = 101		
	IgM à taux limite (index 15-20)	IgM positives (index >20)
Nombre de sérums	40	61

La valeur moyenne des index est de 26.6 (15.3-111.8).

Sérums dépistés positifs ou limites avec la trousse Sérion et positifs en M.A.T. : n = 79		
	IgM à taux limite (index 15-20)	IgM positives (index >20)
Nombre de sérums	0	79

La valeur moyenne des index est de 160 (23.7-451.5).

TABLEAU 4 : Spécificité à partir de sérums négatifs en M.A.T. : n=49

	Réactif Sérion ELISA classic	Réactif Panbio ELISA
Nombre de sérums positifs ou limites	14	12
Nombre de sérums négatifs	9	11
Pourcentage de sérums positifs (%)	61	52

TABLEAU 5 : Etude des réactions sérologiques croisées connues

	IgM syphilis (n = 10)	IgM anti-VCA (n = 10)	IgM anti-Borrelia (n = 10)
Nombre de sérums positifs ou limites	5	2	1

CONCLUSION

La trousse Sérion présente une sensibilité équivalente et une meilleure spécificité que la trousse Panbio. Les sérogroupes les plus fréquemment responsables de cas de leptospirose humaine en France métropolitaine (*Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa*, *Australis*, *Canicola* et *Sejroe*) sont tous détectés par la trousse Sérion. Le seuil de détection de la technique, sur la base des résultats de la M.A.T., pourrait être modifié de 15 à 23 U/ml. Les réactions sérologiques croisées sont observées plus fréquemment avec les IgM syphilis qu'avec les IgM anti-VCA et les IgM anti-Borrelia. Il est à noter que la présence d'IgM est détectée dans 61 % des cas de leptospirose diagnostiquée par la PCR. Enfin, le B.E.H. paru en octobre 2008 rapporte les difficultés du dépistage sérologique avec la technique de macro-agglutination imposée par la N.A.B.M. Ces difficultés ont conduit le laboratoire Pasteur Cerba, depuis avril 2008, au choix du dépistage de la leptospirose par la recherche d'IgM en technique EIA.

BIBLIOGRAPHIE

Picardeau M, Cornet M, Morel V, Sertour N, Chaumet D, Brachet E, Bourhy P.
Impact du changement de nomenclature médicale sur le diagnostic et la surveillance de la leptospirose en France.
BEH - Bulletin épidémiologique hebdomadaire 2008 ; N°37 : 329-331.

Woo TH, Patel BK, Smythe LD, Norris MA, Symonds ML, Dohnt MF.
Identification of pathogenic *Leptospira* by TaqMan probe in a LightCycler.
Anal Biochem 1998 ; 256/1 : 132-134.