



**MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME UNIVERSITAIRE
"ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE"**

**VERIFICATION DE METHODE
LA SEROLOGIE DE LYME
PAR LA TECHNIQUE LIAISON® XL**

DR FATEH OUSSER

LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE -HYGIÈNE



**HÔPITAUX UNIVERSITAIRES
PITIÉ SALPÊTRIÈRE
CHARLES FOIX**

CONTEXTE ET OBJECTIF

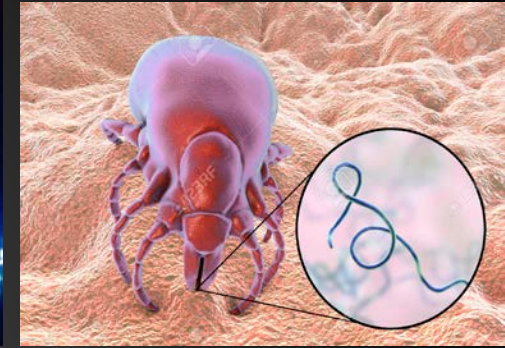
- Fermeture de laboratoire de bactériologie à Charles Foix
- Récupération d'une partie de l'activité de sérologie bactérienne
- Mise en place d'une plateforme commune de sérologie infectieuse avec le laboratoire de parasitologie-mycologie: syphilis et **Lyme**
- **OBJECTIF:** S'assurer que la technique utilise

LA BORRÉLIOSE DE LYME

- maladie infectieuse, causée par une bactérie du complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato*
- piqûres de tiques dures du genre *Ixodes*, infectées .
- zoonose est présente dans les régions tempérées d'Europe, d'Amérique du Nord et d'Asie
- Diagnostic: clinique, **sérologie**



Spirochettes de borrelia



Tique Ixodes

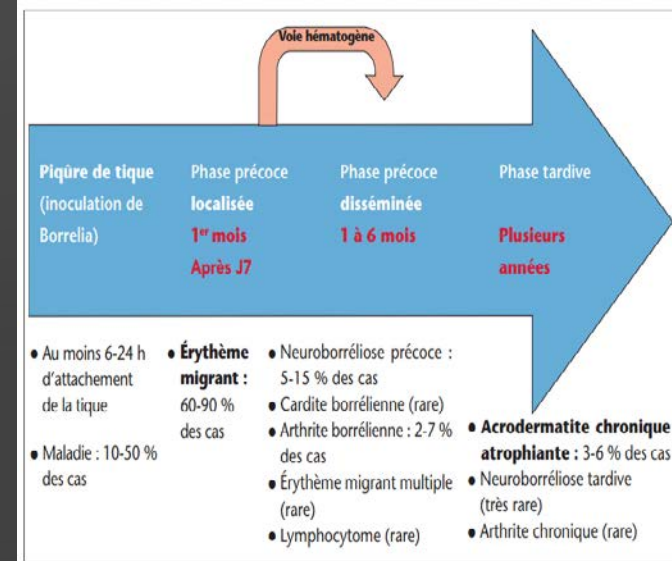
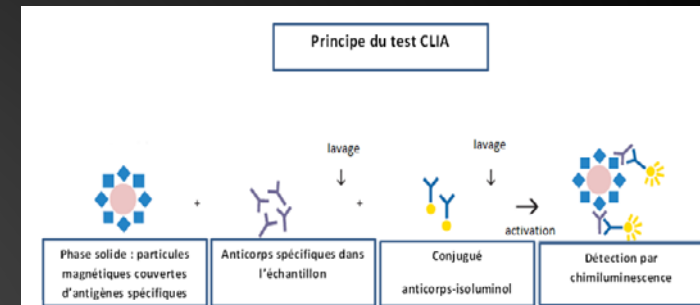


Figure 2. Histoire naturelle de la borrellose de Lyme en Europe^[2].

Figure 3. Macule érythémateuse annulaire sur la hanche, centrée par une réaction à la piqûre. Érythème migrant.

DESCRIPTION DE LA MÉTHODE ET PRINCIPE DU DOSAGE

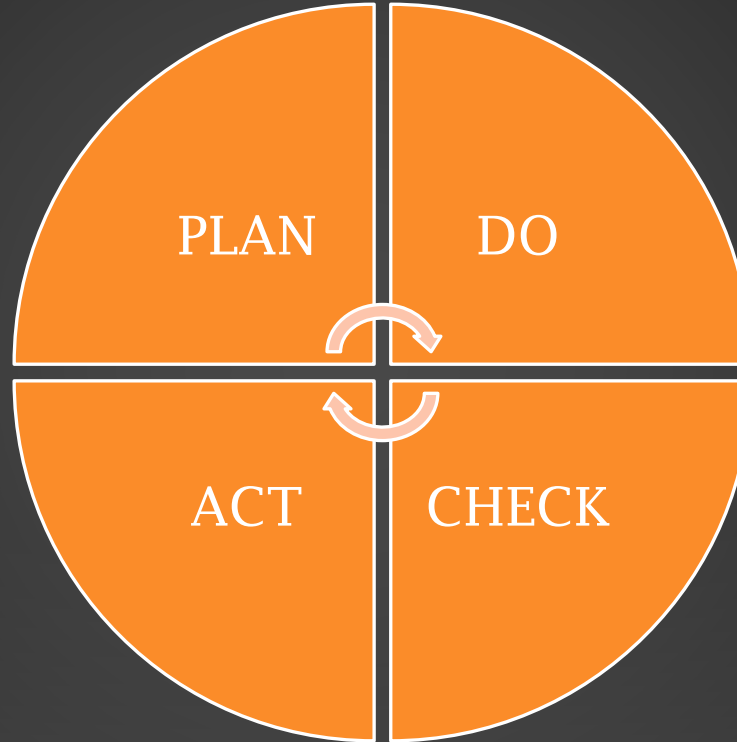
- basée sur le principe de l'immunoluminométrie (CLIA)
- Dosage IgM, IgG dans sérum plasma et LCR
- Technique semi-quantitative
- Dépistage et confirmation par technique Western-Blot



MÉTHODOLOGIE

- constitution du groupe de travail
- faire un état des lieux
- définir les actions
- planifier

- Proposition de modification et amélioration
- Suivi des performances

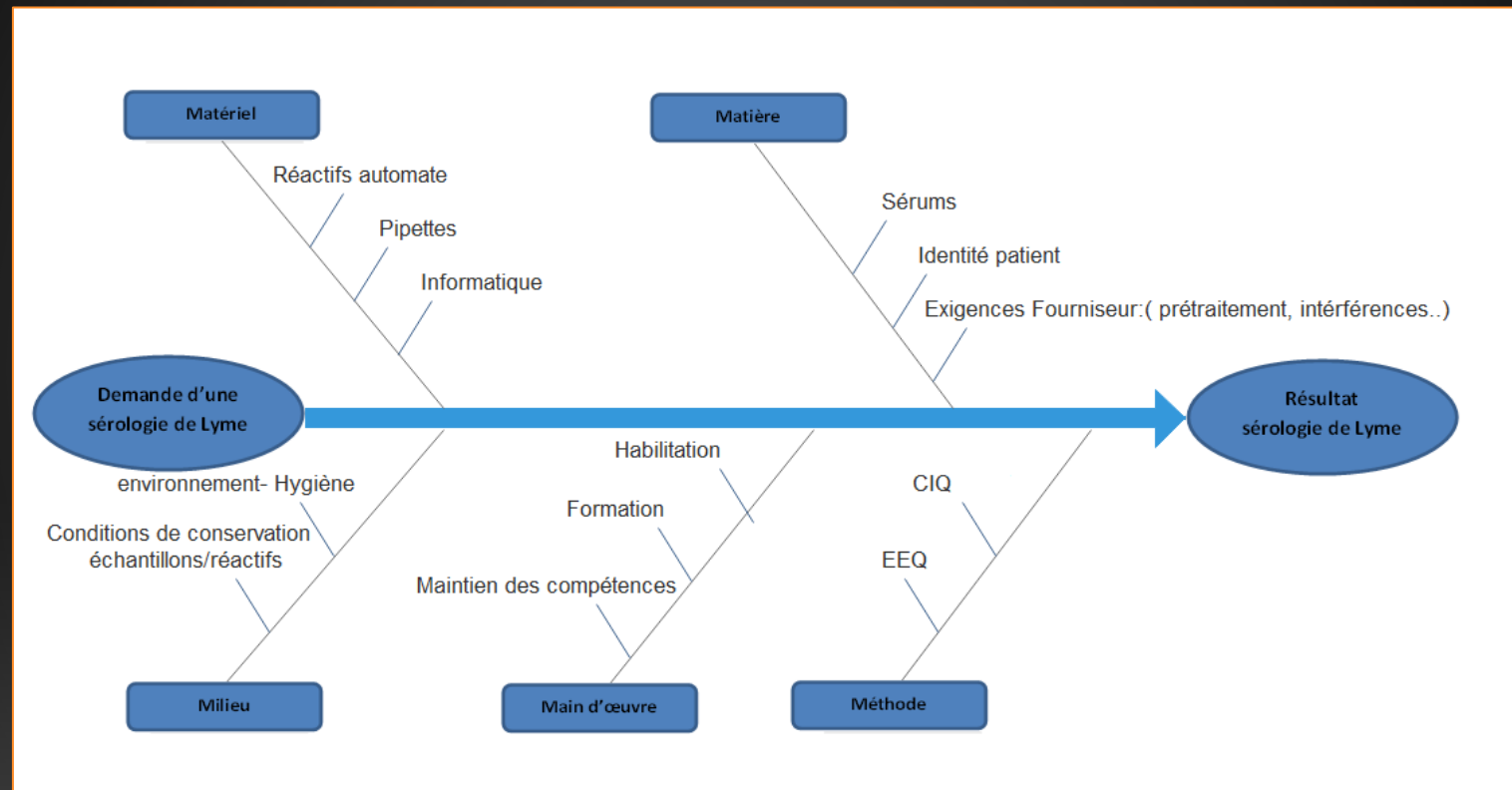


- revue de la documentation
- rédaction des documents
- formation des personnel
- réalisation des tests

- Vérification
- relecture et analyses

Schéma de l'organisation du projet de réalisation de la sérologie de Lyme

MAITRISES DES RISQUES



Analyse des risques selon le diagramme d'Ishikawa

VERIFICATION DES PERFORMANCES

- Processus de la vérification de la méthode de sérologie de lyme
- un résultat de type qualitatif extrapolé à partir de données quantitatives
- Aucun changement dans la technique par rapport aux recommandations du fournisseur n'a été effectué.

Identification des performances à évaluer

:

Paramètres à évaluer	Bibliographie /Vérification sur site
Fidélité	Bibliographie + Vérification sur site
Exactitude	Vérification sur site
Incertitudes/Facteurs de variabilité	Maîtrise des facteurs de variabilité
Comparaison	Vérification sur site
Interférences	Bibliographie
Contamination	Bibliographie + Vérification sur site
Stabilité des réactifs	Bibliographie
Intervalle de référence	Bibliographie
Limite de détection	Bibliographie
Spécificité/Sensibilité	Bibliographie

RÉPÉTABILITÉ

- à partir des deux niveaux du CIQ (positif et négatif)
- Pour les 3 paramètres: IgM IgG sérum et IgG LCR.
- 30 fois de suite dans la même série

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)		Conclusion
				CV (%)	fournisseur	
CIQ Négatif Bor-M1(UA /mL)	30	4.063	0.097	2.38	10%	Conforme
CIQ Positif Bor-M2(UA /mL)	30	64.55	1.835	2.84	10%	Conforme
CIQ Négatif Bor-G1(RLU)	30	1168.93	38.36	3.28	10%	Conforme
CIQ Positif Bor-G2(UA /mL)	30	35.39	0.71	2	10%	Conforme
CIQ Négatif Bor-GCsf1(RLU)	30	449.233	21.99	4.90	10%	Conforme
CIQ positif Bor-G Csf2 (UA /mL)	30	61.89	1.95	3.16	10%	Conforme

Test de répétabilité

FIDE

- les deux niveaux de CIQ positif et négatif pour chaque paramètre
- deux fois par jour pendant 15 jours au fur et à mesure de l'utilisation des tests en routine.

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)		Conclusion
				CV (%)	fournisseur	
CIQ Négatif Bor-M1(UA /mL)	30	3,96	0,39	10,02	15%	Conforme
CIQ Positif Bor-M2(UA /mL)	30	66.39	5.03	7.59	15%	Conforme
CIQ Négatif Bor-G1(RLU)	30	1351.86	173.3	12.82	15%	Conforme
CIQ Positif Bor-G2(UA /mL)	30	38.89	3.75	9,66	15%	Conforme
CIQ Négatif Bor-GCsf1(RLU)	30	506.63	67.8	13.38	15%	Conforme
CIQ positif Bor-G Csf2 (UA /mL)	30	65.81	4.30	6.55	15%	Conforme

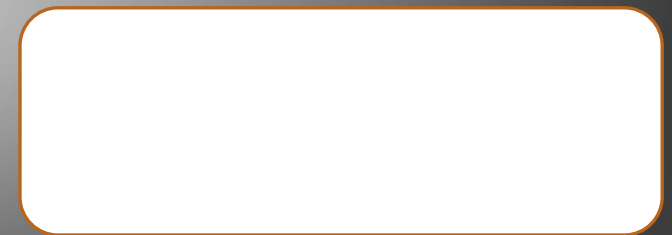
COMPARAISON DE MÉTHODE

- 44 échantillons dont 3EEQ ont été analysés par l'ancienne méthode et la nouvelle méthode
- Considérer les résultats « douteux » comme positifs
- Analyse des résultats par la méthode d'études des discordances : index Kappa
- L'index kappa: plus sa valeur s'approche de 1 plus le degré de concordance est important.

COMPARAISON DE MÉTHODE

Comparaison IgM Sérum et plasma

		LIAISON		
		Positif	Négatif	
ETI-MAX	Positif	18	4	22
	Négatif	2	20	22
		20	24	44



COMPARAISON DE MÉTHODE

Comparaison IgG Sérum et plasma

		LIAISON		
		Positif	Négatif	
ETI-MAX	Positif	36	0	36
	Négatif	1	7	8
		37	7	44



COMPARAISON DE MÉTHODE

IgM sérum et Plasma

- Présence des IgG chez les 4 patients discordants en IgM
- Renseignements cliniques pas en faveur d'une forme récente
- Deux résultats douteux confirmés négatifs par la technique de confirmation WB

IgG sérum et plasma

- 1 résultat négatif en ETI-MAX positif en technique Liaison résolu par la technique de confirmation WB .

IgG LCR vu le nombre limité de prélèvements de LCR reçus par le laboratoire et le volume insuffisant des prélèvements conservés seulement 9 prélèvements de LCR ont pu être analysés par les deux méthodes 8 négatifs par la méthode ETI-MAX ont donné un résultat négatif par LIAISON®XL un seul prélèvement été positif concordant avec les deux techniques

EXACTITUDE

- Le laboratoire est inscrit au programme d'Évaluation Externe de la Qualité (EEQ) de Biologie Prospective. Depuis le démarrage de cette technique sur site deux échantillons d'EEQ reçus au laboratoire ont été analysés et les résultats qualitatifs obtenus ainsi que les interprétations et les conseils en regard des cas cliniques correspondants ont été conformes aux résultats attendus

CONTAMINATION INTER ÉCHANTILLONS

- Afin d'évaluer les éventuelles contaminations inter-échantillons, trois échantillons négatifs ont été passés entre des échantillons positifs . Aucune contamination inter échantillon n'a été mise en évidence. De plus, le matériel utilisé par l'automate est à usage unique et les procédures de rinçage recommandées par le fabricant sont respectées.

CONCLUSION

- La vérification des performances de la technique LIAISON®XL n'a pas montré d'anomalie technique, les résultats obtenus sont satisfaisants par rapport aux objectifs attendus. La comparaison de méthodes n'a pas révélé de discordance significative.
- Mise en pratique des enseignement reçu dans le DU
- Préparation d'ajout a une ligne déjà ouverte
- Difficulté: faux positif en IgM (réaction croisée)
- Suivi de performance en cours.

MERCI POUR VOTRE ATTENTION

