RAPPORT

CONTROLE DU MARCHÉ DES NOTICES DES RÉACTIFS DE DIAGNOSTIC DE LA BORRÉLIOSE DE LYME HUMAINE PAR BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

MAI 2025

Sommaire

Liste des acronymes ……..3

Introduction et contexte ……..…4

Méthodologie ……..……..6

Bilan des réponses des fabricants ……...…7

Bilan de l'analyse des notices ……..……..…8

1 Destination des réactifs……..……...……..8

2 Type d'échantillon, composition, collecte et stockage des échantillons, pré-traitement des échantillons et présence de contrôle pour les réactifs dont la revendication est la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement..9

3 Performances analytiques pour les réactifs dont la revendication est la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement ……9

4 Performances diagnostiques pour les réactifs dont la revendication est la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement ……10

Discussion et conclusion ……12

Discussion ……....12

Conclusion ……13

Références bibliographiques ……..14

Annexe 1 ……..15

Annexe 2 ……...……16

Annexe 3 ……...……18

Annexe 4 ……...……19

Annexe 5 ……...……20

Annexe 6 ……...…22

Annexe 7 ……...26

Liste des acronymes

ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
CNR	Centre national de référence
DGS	Direction Générale de la Santé
DMDIV	Dispositif médical de *diagnostic in vitro*
ESCMID	European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
EFNS	European Federation of Neurological Societies
ESGBOR	European Study Group on Lyme Borreliosis
HAS	Haute Autorité de Santé
LCR	Liquide céphalorachidien
LCS	Liquide cérébrospinal
PCR	Polymerase chain reaction

Introduction et contexte

Suite à une saisine de la Direction Générale de la Santé (DGS) en date d'octobre 2017 demandant une évaluation technique et documentaire des techniques de diagnostic par biologie moléculaire de la borréliose de Lyme, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) en collaboration avec le Centre national de référence (CNR) des *Borrelia* a engagé un contrôle du marché des notices des réactifs correspondants.

La borréliose de Lyme est la plus fréquente des maladies vectorielles à tiques dans l'hémisphère nord. C'est une infection causée par des spirochètes du groupe *Borrelia burgdorferi* sensu lato, transmis à l'homme par la piqûre d'une tique infectée *Ixodes*, présente sur tout le territoire.

Borrelia burgdorferi sensu lato est un complexe qui regroupe différentes espèces de bactéries. Les espèces reconnues comme agents pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'homme de la borréliose de Lyme au sein du complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato sont actuellement *Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. spielmanii*, *B. bavariensis*, *B. valaisiana*, *B. bissettii* et *B. lusitaniae* en Europe et *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. mayonii* aux Etats-Unis.

Le diagnostic de la maladie fait intervenir l'examen clinique, le diagnostic indirect (recherche des anticorps dirigés contre la bactérie) et le diagnostic direct (recherche de la bactérie). La Haute autorité de santé (HAS) a mis à jour en 2025[1] une recommandation de bonne pratique concernant la borréliose de Lyme. Ce document détaille la stratégie diagnostique à mettre en œuvre en fonction des manifestations cliniques de la maladie. L'European Federation of Neurological Societies (EFNS) (1) a également élaboré des recommandations sur le diagnostic et la prise en charge de la neuroborréliose de Lyme. L'ESGBOR (European Study Group on Lyme Borreliosis) au sein de l'European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) (2) a élaboré des recommandations sur la prise en charge diagnostique et thérapeutique des manifestations de la borréliose de Lyme, dont la neuroborréliose.

Les réactifs de biologie moléculaire sont utilisés dans le diagnostic direct. Ils détectent la présence de la bactérie, et plus particulièrement celle du génome bactérien. Ils font intervenir une étape d'amplification du génome, qui est, en ce qui concerne les réactifs destinés à la détection du génome des *Borrelia*, la réaction de polymérisation en chaine (polymerase chain reaction ou PCR).

La HAS, dans la mise à jour de ses recommandations en 2025, cite l'utilisation de la PCR dans la stratégie diagnostique dans certaines situations, selon les manifestations cliniques de borréliose de Lyme suspectées et sur certains types d'échantillons en fonction de la suspicion clinique : biopsie cutanée, liquide articulaire, LCS ou l'humeur aqueuse.

Selon les recommandations européennes de l'EFNS et de l'ESGBOR, la PCR peut être réalisée sur le LCS pendant la phase débutante d'une neuroborréliose de Lyme aigüe en cas de négativité de l'index anticorps anti-*Borrelia burgdorferi* sensu lato (rapport du taux d'anticorps LCS/sérum) ainsi que chez les patients immunodéprimés.

[1] https://www.has-sante.fr/jcms/c_2857558/fr/borreliose-de-lyme-et-autres-maladies-vectorielles-a-tiques-mvt#ancreDocAss

Sur le plan réglementaire, les réactifs destinés au diagnostic de la borréliose de Lyme ont le statut de dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DMDIVs) et relèvent du marquage CE conformément à la réglementation européenne. Le règlement 2017/746 est rentré en application depuis le 26 mai 2022 et fait suite à la directive européenne 98/79/CE. Les réactifs doivent ainsi répondre aux exigences générales décrites dans le règlement. Celles-ci consistent notamment à démontrer, en prenant en compte l'état de l'art, les performances du dispositif en termes de sensibilité, spécificité, exactitude, interférences, limites de détection, répétabilité, reproductibilité et à fournir un certain nombre d'informations sur la notice d'instruction.
L'ANSM intervient sur ces dispositifs après leur mise sur le marché, au travers de ses missions de surveillance du marché.

Ce rapport a été soumis au CNR des *Borrelia* pour avis, ainsi qu'à un expert ponctuel et adressé à la DGS.

Méthodologie

En 2017, l'ANSM a demandé aux fabricants ou distributeurs les notices d'utilisation des réactifs de la borréliose de Lyme commercialisés en France ou dans d'autres pays européens. La liste des fabricants et des réactifs figure dans le tableau 1 en annexe 1.

Les notices ont fait l'objet d'une analyse documentaire. Cette analyse a été menée à partir des exigences de la règlementation et adaptées aux réactifs de PCR pour la maladie de Lyme. L'étude des notices a conduit à signifier à l'ensemble des industriels des remarques et non-conformités à la directive 98/79/CE en les adaptant aux réactifs de PCR pour la maladie de Lyme. De plus, il a été indiqué aux fabricants la nécessité de disposer d'une notice en version française lorsque le réactif est commercialisé en France.
La liste des items étudiés est disponible dans le tableau 2 en annexe 2.

Différents échanges ont eu lieu avec les fabricants. Le présent rapport décrit le résultat de ces échanges et intègre les modifications ou informations relatives aux notices fournies par les fabricants, le cas échéant.

Bilan des réponses des fabricants

Le bilan des réponses des fabricants est le suivant.

Quatre fabricants ont modifié leur notice et ont indiqué qu'un travail complémentaire serait mis en œuvre afin de répondre aux exigences du nouveau règlement s'appliquant aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro, entré en application le 26 mai 2022 :

- Bioron : Réactif RealLine Borrelia burgdorferi sl Fla Format
- Certest : Réactif Viasure Borrelia Anaplasma Coxiella (BAC)
- Certest : Réactif Viasure Tick Borne disease (TBD)
- Ingenetix : Réactif Bactoreal Kit Borrelia burgdorferi sl
- Sacace : Réactif Borrelia burgdorferi Real-TM

Hain Lifescience a modifié en partie sa notice suite à nos remarques.

Deux fabricants ont indiqué que la notice de leur test serait modifiée lors de la prochaine révision pour tenir compte du résultat du contrôle technique réalisé par le CNR des *Borrelia*[1] :

- Gerbion : Réactif Diarella Borrelia (non commercialisé en 2018 en France)
- Mikrogen : Réactif Alpha Cube Borrelia (non commercialisé en 2018 en France)

Un fabricant a indiqué qu'il prévoyait de modifier sa notice mais ne l'a pas communiquée :

- Geneproof : Borrelia burgdorferi PCR

Un fabricant n'a pas répondu :

- Elisabeth Pharmacon : EliGene Borrelia UNI

Trois fabricants ont indiqué un arrêt de commercialisation suite à notre courrier :

- Attomol : Réactif Borrelia Burgdorferi Realtime
- Immundiagnostik : Réactif Mutaplex Borrelia real time PCR TM
- Progenie Molecular : Réactif Real cycler Chic-out

[1] : le CNR des Borrelia a réalisé un contrôle technique des réactifs pour le diagnostic biologique par PCR de la borréliose de Lyme humaine dont le bilan est disponible sur le site internet du CNR.

Bilan de l'analyse des notices

A partir des items étudiés, les points d'attention de l'analyse documentaire ont porté sur la destination du réactif, les types d'échantillons à utiliser, les informations sur la composition, la collecte et stockage des échantillons, le pré-traitement des échantillons, la présence de contrôle et les performances analytiques et diagnostiques, en prenant en compte les particularités de la maladie et notamment les sites de prélèvement de la *Borrelia*.

1 Destination des réactifs

Au vu des revendications figurant dans les notices, il est possible de distinguer 2 catégories de réactifs.

- La première catégorie regroupe les réactifs dont la revendication est la détection d'espèces de *Borrelia* responsables de la maladie de Lyme uniquement. Pour chaque réactif, la notice indique quelles sont les espèces bactériennes pathogènes appartenant au complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato détectées.

Le tableau 3 en annexe 3 liste ces réactifs et détaille les espèces détectées.
Il est à noter que la notice du réactif Bactoreal Kit Borrelia burgdorferi sl (Ingenetix) indique que *B. spielmanii* est reconnue avec une sensibilité plus faible.

- La seconde catégorie de réactifs regroupe les réactifs dont la revendication est la détection d'espèces de *Borrelia* responsables de la maladie de Lyme mais également d'autres espèces de *Borrelia* qui ne sont pas responsables de la maladie de Lyme. Ces réactifs détectent de façon simultanée les différentes espèces et ne les différentient pas. Ainsi, un résultat positif avec ce type de réactif indique que le prélèvement du patient contient soit une espèce bactérienne responsable de la maladie de Lyme, soit une autre espèce bactérienne qui n'est pas responsable de la maladie de Lyme, soit les deux.

Le tableau 4 en annexe 4 liste ces réactifs et détaille les espèces détectées.

Ainsi, les réactifs Viasure Borrelia Anaplasma Coxiella (BAC) (Certest) et Viasure Tick Borne disease (TBD) (Certest) font une détection simultanée de *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.), *Borrelia miyamotoi* et *Borrelia hermsii.*
Le réactif FluoroType Borrelia (Hain Lifescience) revendique une détection plus large que les seules espèces responsables de la maladie de Lyme sans les lister précisément.
La dénomination du réactif Borrelia burgdorferi PCR (Geneproof) n'est pas en cohérence avec les espèces bactériennes détectées par le réactif qui sont *Borrelia* du groupe de *Borrelia burgdorferi sl* causant la maladie de Lyme ainsi que *Borrelia miyamotoi* causant une fièvre récurrente à tique.

Les paragraphes suivants détaillent certaines caractéristiques des réactifs dont la revendication est la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement.

2 Type d'échantillon, composition, collecte et stockage des échantillons, pré-traitement des échantillons et présence de contrôle pour les réactifs dont la revendication est la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement

Les prélèvements revendiqués dans les notices peuvent être le liquide de ponction articulaire, la biopsie cutanée et le LCS (indiqué aussi liquide céphalorachidien (LCR)). Ces prélèvements sont ceux préconisés par la HAS et dans les recommandations européennes de l'ESGBOR.
Certains réactifs mentionnent d'autres types de prélèvement qui ne sont recommandés ni par les HAS, ni par les recommandations européennes de l'EFNS ni celles de l'ESGBOR.

Parmi les informations disponibles concernant la composition des réactifs, le gène détecté est soit *ospA*, soit le gène de la flagelline, soit le gène de l'*ADNr 16S*. Pour 4 coffrets, cette information n'était pas disponible.

Les réactifs d'extraction à utiliser dans la phase de pré-traitement des échantillons sont mentionnés.

Les kits de réactifs contiennent des échantillons de contrôle dont au moins un contrôle positif.

Les informations trouvées dans les notices concernant les types d'échantillons, la composition, la collecte et stockage des échantillons, le pré-traitement des échantillons et la présence de contrôle figurent dans le tableau 5 en annexe 5.

3 Performances analytiques pour les réactifs dont la revendication est la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement

Les performances analytiques concernent la sensibilité et la spécificité des réactifs.

Les données de sensibilité analytique sont plus ou moins détaillées selon les tests.

En termes de spécificité analytique, les notices listent les micro-organismes autres que *Borrelia burgdorferi* sensu lato pouvant être détectés par le réactif. Ce sont les réactions croisées.
Ainsi, par exemple, pour les réactifs qui revendiquent de détecter uniquement les espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme, la reconnaissance par le réactif d'espèces responsables de maladies vectorielles à tiques autres que la maladie de Lyme comme *Borrelia miyamotoi*, *Borelia hermsii* et *Borrelia recurrentis* pourront être indiquées.

De plus, d'autres informations sur la spécificité analytique des réactifs sont disponibles dans les résultats du contrôle technique mené par le Centre National de Référence des *Borrelia.*
Pour certains réactifs, des réactions croisées ont été observées lors du contrôle technique du CNR mais elles ne sont pas indiquées dans la notice :

- Une réaction croisée avec *B. hermsii*, non renseignée dans la notice, a été trouvée lors du contrôle technique du CNR avec les réactifs Diarella Borrelia (Gerbion), et Alpha Cube Borrelia (Mikrogen). Le fabricant a indiqué que l'information serait ajoutée dans la prochaine mise à jour de la notice.
- Une réaction croisée avec *B. hermsii*, non renseignée dans la notice, a également été trouvée lors du contrôle technique du CNR avec les réactifs EliGene Borrelia UNI (Elisabeth Pharmacon) et Mutaplex (Immundiagnostik).
- Une réaction croisée avec *B. recurrentis*, non renseignée dans la notice, a également été trouvée lors du contrôle technique du CNR avec le réactif Viasure (Certest).
- Une réaction croisée avec *B. miyamotoi* a également été trouvée lors du contrôle technique du CNR avec le réactif Borrelia burgdorferi Real-TM (Sacace) alors que la notice mentionne une absence de réaction croisée.

Les notices peuvent également contenir des informations sur la validation de la reconnaissance des différentes espèces de *Borrelia* détectées par le réactif.

Les informations trouvées dans les notices concernant les performances analytiques figurent dans le tableau 6 en annexe 6.

4 Performances diagnostiques pour les réactifs dont la revendication est la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement

Les données de performances diagnostiques sont hétérogènes. Dans l'ensemble, ces données devraient être étoffées. Quatre fabricants (5 réactifs) ont indiqué qu'un travail complémentaire serait mis en œuvre afin de répondre aux exigences du nouveau règlement s'appliquant aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Les informations trouvées dans les notices concernant les performances diagnostiques figurent dans le tableau 6 en annexe 6.

Le tableau 7 ci-dessous détaille les appréciations sur les informations figurant dans les notices relatives aux performances analytiques et diagnostiques, selon 3 catégories : recommandations remplies, partiellement remplies, insuffisamment remplies.

Tableau 7 : Appréciations sur les informations figurant dans les notices relatives aux performances analytiques et diagnostiques

Fabricant / Réactif	Spécificité analytique	Sensibilité analytique	Spécificité diagnostique	Sensibilité diagnostique
Bioron / RealLine Borrelia burgdorferi sl Fla Format				
Elisabeth Pharmacon / EliGene Borrelia UNI				
Gerbion / Diarella Borrelia				
Ingenetix / Bactoreal Kit Borrelia burgdorferi sl				
Mikrogen / Alpha Cube Borrelia				
Sacace / Borrelia burgdorferi Real-TM				

Légende :

- Informations fournies de façon partielle :
- Informations fournies de façon insuffisante :

Discussion et conclusion

Discussion

Les bactéries de la borréliose de Lyme reconnues comme agents pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'homme sont *Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. spielmanii*, *B. bavariensis, B. valaisiana*, *B. bissettii* et *B. lusitaniae* en Europe et *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. mayonii* aux Etats-Unis. Elles font partie du complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

D'autres espèces bactériennes peuvent être responsables de maladies transmises par les tiques comme *Borrelia miyamotoi*, *Borrelia hermsii*, *Borrelia recurrentis* et *Borrelia coriaceae*. Il convient de noter que ces espèces sont responsables de fièvres récurrentes, pathologies qui sont à distinguer de la maladie de Lyme. Les manifestations cliniques ne sont en effet pas identiques et les types de prélèvements à tester pour rechercher la bactérie ne sont pas les mêmes que ceux pour la maladie de Lyme.

Le contrôle de marché des notices des réactifs de diagnostic de la borréliose de Lyme humaine par PCR a montré qu'il existait sur le marché 2 catégories de réactifs pour la détection des *Borrelia* :

- La première catégorie regroupe les réactifs dont la revendication est la détection d'espèces de *Borrelia* responsables de la maladie de Lyme uniquement.
- La seconde catégorie de réactifs regroupe les réactifs dont la revendication est la détection de façon simultanée d'espèces de *Borrelia* responsables de la maladie de Lyme mais également d'autres espèces de *Borrelia* qui ne sont pas responsables de la maladie de Lyme, dont les espèces responsables de fièvres récurrentes. Ces réactifs ne permettent donc pas de conclure à la présence d'une espèce bactérienne responsable de la maladie de Lyme uniquement.

Selon le CNR des *Borrelia*, la détection simultanée des agents de la borréliose de Lyme et des fièvres récurrentes n'est pas justifiée. Cela pose un problème du point de vue du diagnostic différentiel (tableaux cliniques différents, contexte épidémiologique également le plus souvent différent et prélèvements sont différents).

L'information concernant la destination du réactif est présente dans les notices des 10 dispositifs étudiés. Lors du contrôle de marché, 3 notices ont été clarifiées sur ce point.

Les prélèvements recommandés pour recherche les bactéries du complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato mentionnés dans les notices sont le liquide de ponction articulaire, la biopsie cutanée et le LCS (indiqué aussi LCR).
Certains réactifs mentionnent d'autres types de prélèvements qui ne sont recommandés ni par les HAS, ni par les recommandations européennes de l'EFNS ou de l'ESGBOR. L'intérêt clinique de ces autres prélèvements n'a pas été démontré.

Pour les réactifs dont la revendication est la détection d'espèces de *Borrelia* responsables de la maladie de Lyme uniquement, il est important de connaitre les limites du réactif utilisé, dont les réactions croisées, c'est-à-dire le comportement du réactif connaitre vis-à-vis des *Borrelia* autres que celles responsables de la maladie

de Lyme et vis-à-vis d'autres microorganismes différents des *Borrelia*. Ces réactions croisées sont détaillées dans les notices. Toutefois, elles ne mentionnent pas forcément toutes les réactions croisées mises en évidence dans l'étude technique réalisée par le CNR.

En 2024, les dispositifs RealLine Borrelia burgdorferi sl Fla Format (Bioron), FluoroType Borrelia (Hain Lifescience) et Borrelia burgdorferi PCR (Geneproof) ne sont plus disponibles.

Conclusion

Afin de connaitre précisément les caractéristiques du réactif qu'ils utilisent ou qu'ils choisissent en termes de pertinence pour mettre en évidence une bactérie du complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato dans le cadre du diagnostic de la maladie de Lyme, les biologistes doivent être, entre autres, attentifs :

- aux revendications mentionnées dans la notice concernant les espèces de Borrelia détectées
- aux prélèvements utilisables
- aux données de spécificité analytique

Enfin, depuis le lancement du présent contrôle de marché, la règlementation relative aux DMDIV a évolué. Ainsi, le nouveau règlement 2017/746 est entré en application le 26 mai 2022. Il renforce les exigences relatives aux performances cliniques des dispositifs. De plus, dans le cas des réactifs pour le diagnostic de la borréliose de Lyme, l'intervention d'un organisme tiers, appelé organisme notifié, est également maintenant nécessaire. Des mesures transitoires permettent aux fabricants de continuer la mise sur le marché de leurs dispositifs dans leurs versions marquées CE selon la Directive 98/79/CE sous certaines conditions. D'ores et déjà, 4 fabricants (5 réactifs) ont indiqué qu'un travail complémentaire serait mis en œuvre afin de répondre à ses exigences.

Dans cette optique, l'ANSM souhaite formuler des recommandations à destination des fabricants. Elles sont détaillées en annexe 7 et sont issues des items étudiés dans l'analyse documentaire des notices.

Références bibliographiques

- (1) EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis.

  Mygland A, Ljostad U, Fingerle V, Rupprecht T, Schmutzhard E, Steiner I ; European Federation of Neurological Societies. Eur J Neurol. 2010 Jan; 17(1):8-16, e1-4. DOI : 10.1111/j.1468-1331.2009.02862.x

- (2) Lyme borreliosis: clinical case definitions for diagnosis and management in Europe.

  Stanek G, Fingerle V, Hunfeld KP, Jaulhac B, Kaiser R, Krause A, Kristoferitsch W, O'Connell S, Ornstein K, Strle F, Gray J.Clin Microbiol Infect. 2011 Jan;17(1):69-79. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03175.x.

Annexe 1

Tableau 1 : Liste des fabricants et des réactifs étudiés

Fabricant	Nom du réactif
Attomol	Borrelia Burgdorferi Realtime
Bioron	RealLine Borrelia burgdorferi sl Fla Format
Certest	Viasure Borrelia Anaplasma Coxiella (BAC)
Certest	Viasure Tick Borne disease (TBD)
Elisabeth Pharmacon	EliGene Borrelia UNI
Geneproof	Borrelia burgdorferi PCR
Gerbion	Diarella Borrelia
Hain Lifescience	FluoroType Borrelia
Immundiagnostik	Mutaplex Borrelia real time PCR TM
Ingenetix	Bactoreal Kit Borrelia burgdorferi sl
Mikrogen	Alpha Cube Borrelia
Progenie Molecular	Real cycler Chic-out BBUR-UX / BBUR-GX
Sacace	Borrelia burgdorferi Real-TM

Annexe 2

Tableau 2 : Liste des points étudiés dans la notice selon les exigences de la directive 98/79/CE

Nom du fabricant, et du mandataire, le cas échéant (8.7.a)
Nom du distributeur
Notice en français (8.1)
Date de la dernière version (8.7.u)
Destination (8.1 et 8.7.a) Rappel des souches reconnues comme agent de la borréliose de Lyme : - espèces pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'homme présentes en Europe : *Borrelia burgdorferi* sensu lato qui regroupent *Borrelia afzelii, B. garinii*, *B. burgdorferi* sensu stricto*, B. spielmanii*, *B. bavariensis*, *B. valaisiana, B. bissettii* et *B. lusitaniae* ; - espèces reconnues comme pathogènes aux Etats-Unis : *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. mayonii*.
Composition (8.7.b) **et contrôles de qualité** (8.7.k) 1. Gène(s) ciblé(s), espèces et souche(s) de *Borrelia* détectée(s) par les amorces du test ; 2. Présence de témoins permettant le contrôle de l'extraction ; 3. Présence de témoins permettant le contrôle de l'inhibition de la PCR ; 4. Mode de révélation des amplicons : SYBR Green ou équivalent ; sonde de détection : TaqMan™ ou autre (à préciser).
Type d'échantillon à utiliser (8.7.f) 1. Enumération des différents types d'échantillons (matrices) validés comme pouvant être analysés chez l'homme avec le kit (Biopsie cutanée, liquide articulaire, LCR, humeur aqueuse) ; 2. Si d'autres matrices sont revendiquées et validées, préciser lesquelles et leur intérêt clinique (sang, urines, autres) ; 3. Collecte, stockage de ces échantillons (préciser la nécessité d'un tube spécifique ou non).
Pré-traitement (8.7.e et 8.7.f) 1. Indiquer les modalités d'extraction de l'ADN ; 2. Si elles ne sont pas incluses dans le kit, indiquer des équipements, réactifs et procédures compatibles et validés avec le kit afin d'obtenir une combinaison sûre et adéquate (8.7.m).
Contrôles (8.7.k) Liste des contrôles internes positif et négatif, leurs compositions et leurs conditions d'utilisation.
Performances (8.7.d, A.3, 8.7.h) Les performances relatives aux différentes matrices revendiquées chez l'homme doivent figurer dans la notice (biopsie cutanée, liquide articulaire, LCR, humeur aqueuse, ou autres, le cas échéant, correspondant à différentes présentations cliniques de la borréliose de Lyme).
*** Spécificité analytique** (8.7.h) 1. Validation des différentes espèces et souches de *Borrelia* détectées (à partir d'ADN de différentes espèces et souches de *Borrelia*), en précisant les espèces et souches de *Borrelia* et le nombre d'échantillons testés. La détection éventuelle des espèces de *Borrelia* autres que celles responsables de la borréliose de Lyme (dont les *Borrelia* responsables de fièvres récurrentes) devrait être clairement mentionnée.

2. Validation de l'absence de détection des autres spirochètes et autres micro-organismes, en précisant les micro-organismes et le nombre d'échantillons testés.
*** Sensibilité analytique** (8.7.h) Préciser, pour chaque espèce et souche de *Borrelia* détectée, le nombre d'échantillons testés, la (ou les) matrices testée(s), la méthode de validation, ainsi que la valeur estimée de limite de détection, exprimée si possible en nombre d'équivalents de copies de génomes détectés par unité de volume d'échantillon analysé.
*** Spécificité diagnostique** (8.7.d) 1. Validation sur des échantillons de sujets sains et 2. sur des échantillons de sujets exempts de maladie de Lyme mais atteints d'autres pathologies, en précisant leur diagnostic clinique (fièvres récurrentes, maladies articulaires autres que l'arthrite de Lyme, neuropathologies autres que la neuroborréliose de Lyme….). 3. Préciser la zone géographique de la population, son endémicité pour *Borrelia* et les matrices testées.
*** Sensibilité diagnostique** (8.7.d) Evaluation sur les principales présentations cliniques de la borréliose de Lyme (érythème migrant, neuroborréliose, arthrite, acrodermatite chronique atrophiante), en précisant le nombre de patients cliniquement diagnostiqués comme étant atteints de borréliose de Lyme, ainsi que les matrices testées.

Annexe 3

Tableau 3 : Liste des réactifs revendiquant la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement, selon les données figurant dans la notice

Fabricant	Réactif	Espèces bactériennes revendiquées
Bioron	*RealLine Borrelia burgdorferi sl* Fla Format	*Borrelia* pathogènes à l'homme du groupe *Borrelia burgdorferi* sensu lato : **B. afzelii,* **B. garinii,* **B. burgdorferi* sensu stricto
Elisabeth Pharmacon	EliGene Borrelia UNI	*Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii* et *Borrelia burgdorferi ss*
Gerbion	Diarella Borrelia	*Borrelia burgdorferi sensu lato*
Ingenetix	Bactoreal Kit Borrelia burgdorferi sl	*Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. valaisiana*, *B. lusitaniae*, *B. bavariensis*, *B. bissettii*, *B. spielmanii* [(*B. spielmanii* is detected with lower sensitivity)]
Mikrogen	Alpha Cube Borrelia	*Borrelia burgdorferi sensu lato*
Sacace	Borrelia burgdorferi Real-TM	*B.burgdorferi*, *B.afzelii*, *B.garinii*, *B.valaisiana, B. bissetii*, *B.spielmanii*, *B.lusitaniae*, La détection d'autres espèces du groupe *Borrelia burgdorferi* sensu lato est revendiquée par ce fabricant, ces espèces n'ont jamais à ce jour étaient impliquées dans des infections humaines.

Annexe 4

Tableau 4 : Liste des réactifs revendiquant la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme ainsi que d'autres espèces non responsables de la maladie de Lyme, selon les données figurant dans la notice

Fabricant	Réactif	Espèces bactériennes revendiquées
Certest	Viasure Borrelia Anaplasma Coxiella (BAC)	*Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.)/*Borrelia miyamotoi*/*Borrelia hermsii* * [This test is not designed for diagnose Lyme disease, detect but not differentiate *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.), *Borrelia miyamotoi* and *Borrelia hermsii*.]
Certest	Viasure Tick Borne disease (TBD)	*Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.)/*Borrelia miyamotoi*/*Borrelia hermsii* ** [This test is not designed to diagnose Lyme disease, detects but not differentiate *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.), *Borrelia miyamotoi* and *Borrelia hermsii*.]
Geneproof	Borrelia burgdorferi PCR kit	[*Borrelia* species from the *Borrelia burgdorferi sensu lato* group causing Lyme disease and for detection of *Borrelia miyamotoi* causing tick-borne relapsing fever]
Hain Lifescience	FluoroType Borrelia	*Borrelia* spp

***** Le réactif détecte également *Anaplasma phagocitophylum* et *Coxiella burnetii* dans 2 canaux spécifiques supplémentaires (aspect non étudié ici).

** Le réactif détecte également *Anaplasma phagocitophylum* et *Coxiella burnetii* dans 2 canaux spécifiques supplémentaires ainsi que d'autres pathogènes dans des puits supplémentaires spécifiques. (aspect non étudié ici).

Annexe 5

Tableau 5 : informations figurant dans les notices des réactifs spécifiques dont la revendication est la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement

Fabricant / réactif	Type d'échantillon à utiliser	Composition	Collecte et stockage des échantillons	Pré-traitement	Contrôles internes positifs et négatifs
Bioron					
RealLine Borrelia burgdorferi sl Fla Format	LCR matériel de biopsie (et autres prélèvements non recommandés)	Gène ciblé non précisé	Non précisé	Kits d'extraction indiqués. Si utilisation de kits d'extraction autres, il est recommandé d'utiliser le Contrôle interne (IC) de Bioron	Utilisation d'un contrôle positif et d'un contrôle négatif préconisés Le kit contient un contrôle positif
Elisabeth Pharmacon					
EliGene Borrelia UNI	LCS, liquide synovial, tissu (biopsie cutanée) (et autres prélèvements non recommandés)	Non indiqué (gène de la flagelline cité sous le nom du réactif)	Indiqués	Kit d'extraction indiqué	Contrôle interne ADN 01 (IC ADN 01) Contrôle positif (PC ADN Borrelia) Contrôle négatif : eau pour biologie moléculaire
Gerbion					
Diarella Borrelia	[cerebrospinal fluid] (et autres prélèvements non recommandés)	Gène ciblé non précisé	Non précisé	Kit d'extraction indiqué	Contrôle DNA Contrôle positif Contrôle négatif
Ingenetix					
Bactoreal Kit Borrelia burgdorferi sl	[synovial fluid cerebrospinal fluid skin biopsy]	[detects the ospA (outer surface protein A) gene]	Indiqués	Kit d'extraction indiqué	[DNA positive control (approx. 10,000 target copies/µl)] [Optionally include a negative control per PCR-run (nuclease-free water instead of sample)]
Mikrogen					
Alpha Cube Borrelia	[cerebrospinal fluid] (et autres prélèvements non recommandés)	Gène ciblé non précisé	Non précisé	Kit d'extraction indiqué	Contrôle DNA Contrôle positif Contrôle négatif
Sacace					
Borrelia burgdorferi Real-TM	[liquor CSF) synovial liquid skin punch biopsy] (et autres prélèvements non recommandés)	[16S rRNA gene of the following strains: *B.burgdorferi, B.afzelii, B.garinii, B.valaisiana, B.tanukii, B. bissetii, B.americana, B.spielmanii, B.sinica, B.lusitaniae, B.andersonii, B.turdi, B.japonica]*	Indiqués	Kit d'extraction indiqué	[Negative Control Positive Amplification Control Internal Control IC]

Annexe 6

Tableau 6 : informations relatives aux performances figurant dans les notices des réactifs spécifiques dont la revendication est la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement

Fabricant / réactif	Spécificité analytique	Sensibilité analytique	Spécificité diagnostique	Sensibilité diagnostique
Bioron				
RealLine Borrelia burgdorferi sl Fla Format	Evaluée à l'aide de 4 échantillons négatifs, préparés à partir du Panel de Référence Standard (PRS). La spécificité de détection de l'ADN de *Borrelia burgdorferi s.l*.obtenue est de 100 %.	Evaluée sur 5 échantillons contenant 100 copies d'ADN de *Borrelia burgdorferi s.*l.préparés à partir de l'ERS (Echantillon de Référence Standard contenant l'ADN de *Borrelia burgdorferi s.l*). La sensibilité obtenue est de 100 %.	Réalisée sur 132 échantillons négatifs. La spécificité obtenue est de 100 % (dans la plage 97,9-100% avec un niveau de confiance de 90 %). L'analyse comparative avec un kit de référence marqué CE a montré une correspondance de 100 % des résultats.	Réalisée sur 138 échantillons positifs. La sensibilité obtenue est de 100 % (dans la plage 97,9-100% avec un niveau de confiance de 90 %).
Elisabeth Pharmacon				
EliGene Borrelia UNI	Spécificité analytique de la méthode est de 100 %. Vérifiée en recherchant dans la base de données d'ADN NCBI les séquences d'amorces et de sondes et en ajoutant de l'ADN humain au mastermix. 50 échantillons différents n'ont pas donné de résultats faussement positifs. De plus, aucun résultat faussement positif après ajout de d'ADNg provenant de : *C. trachomatis*, *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. cansasii*, *M. xenopii*, *M. avium*, *M. marinum*, *Lactobacillus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas*, *E. coli*, *A. niger*, *C. albicans*, *S. aureus*, *S. agalactiae*, *N. gonorrhoeae*, *U. urealyticum*, Adenovirus, HBV, EBV, CMV, HSV1, HSV2, VZV.	Détecte 2 à 20 ADN génomiques ajoutés au mélange d'amplification. A partir d'une culture pure *de B. afzelii*, *B. garinii* et *B. b s. stricto*, l'ADN a été isolé et dilué. 2, 20 et 200 génomes de *Borrelia* ont été ajoutés au mastermix. Chaque concentration a été testée 3 fois. La détection de *Borrelia* a été réussie à 100 % dans tous les échantillons contenant 20 génomes et plus de *Borrelia*. Avec 2 Borrelia par mastermix, la sensibilité est de 44,4 % (4 de 9 échantillons).	La spécificité clinique a été testée sur 486 échantillons cliniques. Dans cette étude clinique, la spécificité de 100 % de la conception des sondes et des amorces a été trouvée. La sensibilité clinique et la spécificité d'EliGene Borrelia UNIkit est de 100%.	La sensibilité clinique et la spécificité d'EliGene Borrelia UNIkit est de 100%.

Fabricant / réactif	Spécificité analytique	Sensibilité analytique	Spécificité diagnostique	Sensibilité diagnostique
Gerbion				
Diarella Borrelia	[The specificity …. was evaluated additionally with different other relevant viruses and bacteria found in clinical samples. Results : … showed a positive result for the sample containing *Borrelia burgdorferi,* whereas samples containing other pathogens were reliably tested negative. *Borrelia burgdorferi* strain 4681, *burgdorferi ss, afzelii, garinii, spielmani, bavariensis, bisettii, lusitanae, valaisiana, kurtenbachii* : positive *Enterovirus, Coxsackievirus, Influenza A virus, Influenza B virus, FMSE, Erhlichia, Anaplasma, Babesia* ; negative *B. japonica, B. miyamotoi, T. phagedenis, Leptospira* : negative]	* [Limite of detection (LoD)… was determined using serial dilutions of Borrelia burgdorferi in culture medium. LoD *Borrelia burgdorferi s.l.* : >=10 genome copies per reaction each] * Sensitivity …. Was also analysed by testing round robin samples of known status. All samples of the QCMD Borrelia panels were detected correctly. *T. phagedenis* : negative *B. miyamotoi* : negative] *B. kurtenbachii* : 1 positif	[48 positive and 120 negative samples were tested. The diagnostic sensitivity was found to be 100% and the diagnostic specificity 100%.]	[48 positive and 120 negative samples were tested. The diagnostic sensitivity was found to be 100% and the diagnostic specificity 100%.]
Ingenetix				
Bactoreal Kit Borrelia burgdorferi sl	* [(*Borrelia hermsii, Borrelia miyamotoi, Bordetella pertussis, Bordetella parapertussis, Chlamydophila pneumoniae, Haemophilus influenzae, Legionella pneumophila, Leptospira sp., Listeria monocytogenes, Neisseria meningitidis, Mycoplasma pneumoniae* and *Treponema phagedenis*). No cross-reactions have been observed] *[genomic DNA of bacteria belonging to the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex was tested (*B. afzelii, B. burgdorferi sensu stricto, B. bavariensis, B. bissettii, B. coriaceae*[1], *B. garinii, B. lusitaniae, B. spielmanii, B. turdi, B. valaisiana and B. japonica*) *Borrelia spielmanii* was detected with lower relative fluorescence intensity] *[Serial 10-fold dilutions of ring trial samples indicated comparable sensitivity of *B. burgdorferi sensu stricto* (n = 2), *B. afzelii* (n = 2), *B. garinii* (n = 5), *B.*	[tested with a 10-fold dilution series of a plasmid containing a fragment of *Borrelia afzelii* DNA. At least 10 target copies/reaction could be detected. The limit of detection (LoD95 = smallest number of copies of target DNA which can be detected in 95% of cases) is 42 target copies/reaction.]	[80 DNA isolates from clinical specimens with known positivity and negativity for Borrelia. Results were compared with those obtained with a DIN EN ISO 15189 accredited pathogen-specific quantitative real-time PCR reference method detecting the ospA gene using hybridization probes. The analytical sensitivity of the reference method with clinical specimens was 20 – 50 genome equivalents. …. Specimens included one tissue biopsy (skin), one stool sample, 46 cerebrospinal fluids, 27 synovial fluids and 5 EDTA-blood samples. 38 échantillons négatifs BactoReal® Kit Borrelia burgdorferi sensu lato was negative with 38 known negative clinical samples (n=33), isolates of other spirochetes (*Leptospira* sp. n=2, *Treponema* sp. n=1) and *Borrelia* causing	[41 out of the 42 positive samples were positive including *Borrelia burgdorferi s.l.* (*B. afzelii* n=6, *B. burgdorferi sensu stricto* n=6, *B. bavariensis* n=3, *B. bissettii* n=3, *B. garinii* n=16, *B. valaisiana* n=4, *B. japonica n=1*) One sample of *B. spielmanii* was not detected while another sample of *B. spielmani*i was also not detected by the reference method. One sample of *B. valaisiana* was detected by BactoReal® Kit Borrelia burgdorferi sensu lato but was negative with the reference method. This sample was confirmed to be positive with an alternative PCR method. The *Borrelia japonica* positive sample (n=1) was tested negative (non-human pathogenic species) with both methods. Sensitiviity : 97,56% - 95%CI 87.14% to 99.94%]

	spielmanii (n = 1), *B. bavariensis* (n = 1), *B. bisetti* (n = 1), *B. lusitaniae* (n = 1) and *B. valaisiana* (n = 1). *Borrelia japonica*, a non-human pathogenic *Borrelia* species was not detected. Other spirochetes, including *Leptospira* (n = 2) and *Treponema phagedenis* (n = 1) were not detected by BactoReal® Kit Borrelia burgdorferi sensu lato. *Borrelia* species causing relapsing-fever including *B. hermsii* (n = 1) and *B. miyamotoi* (n = 1) were not detected.]		relapsing fever (*B. hermsii* n=1, *B. miyamotoi* n = 1) Specificity : 97,44% - 95%CI 86.52% to 99.94%]	

[1] : le fabricant a listé *B. coriaceae* dans le complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Or, il s'agit d'une espèce responsable de fièvre récurrente. La fièvre récurrente est une pathologie qui est à distinguer de la maladie de Lyme.

Fabricant / réactif	Spécificité analytique	Sensibilité analytique	Spécificité diagnostique	Sensibilité diagnostique
Mikrogen				
Alpha Cube Borrelia	[The specificity …. was evaluated additionally with different other relevant viruses and bacteria found in clinical samples. Results : … showed a positive result for the sample containing *Borrelia burgdorferi,* whereas samples containing other pathogens were reliably tested negative. *Borrelia burgdorferi* strain 4681: positive *Enterovirus, Coxsackievirus, Influenza A virus, Influenza B virus, FMSE, Erhlichia, Anaplasma, Babesia* ; negative]	* [Limite of detection (LoD)… was determined using serial dilutions of *Borrelia burgdorferi* in culture medium. LoD *Borrelia burgdorferi s.l.* : >=10 genome copies per reaction each] * Sensitivity …. Was also analysed by testing round robin samples of known status. All samples of the QCMD *Borrelia* (2014) panels were detected correctly. *T. phagedenis* : negative *B. miyamotoi* : negative] *B. kurtenbachii* : 1 positif	[48 positive and 120 negative samples were tested. The diagnostic sensitivity was found to be 100% and the diagnostic specificity 100%.]	[48 positive and 120 negative samples were tested. The diagnostic sensitivity was found to be 100% and the diagnostic specificity 100%.]

Fabricant / réactif	Spécificité analytique	Sensibilité analytique	Spécificité diagnostique	Sensibilité diagnostique
Sacace				
Borrelia burgdorferi Real-TM	[The analytical specificity of the primers and probes was validated with negative samples. They did not generate any signal with the specific *Borrelia burgdorferi* primers and probes. The potential cross-reactivity of the kit Borrelia burgdorferi Real-TM was tested against the group control. It was not observed any cross-reactivity with other pathogens Analytical specificity was studied on the following samples of microorganisms: ... *Flavivirus*…. *Leptospira* ….*Treponema* … *Rickettsia* …*Coxiellla* …*Bartonella* … All tested samples did not reveal any false positive result. The specificity of the kit Borrelia burgdorferi Real-TM was 100%.]	[The kit Borrelia burgdorferi Real-TM allows to detect *Borrelia burgdorferi* DNA in 100% of the tests with a sensitivity of not less than 500 copies/ml.]	Absence	Absence

Annexe 7

Recommandations pour les industriels : informations pour les notices d'utilisation des réactifs dont la revendication est la détection d'espèces bactériennes responsables de la maladie de Lyme uniquement, pour la borréliose de Lyme par PCR

Destination : indiquer précisément les espèces et souches reconnues par le réactif

Rappel des souches reconnues comme agent de la borréliose de Lyme :

- espèces pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'homme présentes en Europe : *Borrelia burgdorferi* sensu lato qui regroupent *Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi sensu stricto*, B. *spielmanii*, *B. bavariensis*, *B. valaisiana*, *B. bissettii* et *B. lusitaniae*
- espèces reconnues comme pathogènes aux Etats-Unis : *B. burgdorferi sensu stricto* et, *B. mayonii*.

Composition et contrôles de qualité :

Gène(s) ciblé(s), espèces et souche(s) de *Borrelia* détectée(s) par les amorces du test ;

Présence de témoins permettant le contrôle de l'extraction ;

Présence de témoins permettant le contrôle de l'inhibition de la PCR ;

Mode de révélation des amplicons.

Type d'échantillon à utiliser :

1. Enumération des différents types d'échantillons (matrices) validés comme pouvant être analysés chez l'homme avec le kit (biopsie cutanée, liquide articulaire, LCR, humeur aqueuse) ;

2. Si d'autres matrices sont revendiquées et validées, préciser lesquelles et leur intérêt clinique ;

3. Collecte, stockage de ces échantillons (préciser la nécessité d'un tube spécifique ou non).

Pré-traitement :

1. Indiquer les modalités d'extraction de l'ADN ;

2. Si elles ne sont pas incluses dans le kit, indiquer des équipements, réactifs et procédures compatibles et validés avec le kit afin d'obtenir une combinaison sûre et adéquate.

Contrôles :

Liste des contrôles internes positif et négatif, leurs compositions et leurs conditions d'utilisation.

Performances :

Les performances relatives aux différentes matrices revendiquées chez l'homme doivent figurer dans la notice (biopsie cutanée, liquide articulaire, LCR, humeur aqueuse, ou autres, le cas échéant, correspondant à différentes présentations cliniques de la borréliose de Lyme).

- **Spécificité analytique**

1. Validation des différentes espèces et souches de *Borrelia* détectées (à partir d'ADN de différentes espèces et souches de *Borrelia*), en précisant les espèces et souches de *Borrelia* et le nombre d'échantillons testés.

La détection éventuelle des espèces de *Borrelia* autres que celles responsables de la borréliose de Lyme (dont les *Borrelia* responsables de fièvres récurrentes) devrait être clairement mentionnée.

2. Validation de l'absence de détection des autres spirochètes et autres micro-organismes, en précisant les micro-organismes et le nombre d'échantillons testés.

- **Sensibilité analytique**

Préciser, pour chaque espèce et souche de *Borrelia* détectée, le nombre d'échantillons testés, la (ou les) matrices testée(s), la méthode de validation, ainsi que la valeur estimée de limite de détection, exprimée si possible en nombre d'équivalents de copies de génomes détectés par unité de volume d'échantillon analysé.

- **Spécificité diagnostique**

1. Validation sur des échantillons de sujets sains et

2. sur des échantillons de sujets exempts de maladie de Lyme mais atteints d'autres pathologies, en précisant leur diagnostic clinique (fièvres récurrentes, maladies articulaires autres que l'arthrite de Lyme, neuropathologies autres que la neuroborréliose de Lyme….).

3. Préciser la zone géographique de la population, son endémicité pour *Borrelia* et les matrices testées.

- **Sensibilité diagnostique**

Evaluation sur les principales présentations cliniques de la borréliose de Lyme (érythème migrant, neuroborréliose, arthrite, acrodermatite chronique atrophiante), en précisant le nombre de patients cliniquement diagnostiqués comme étant atteints de borréliose de Lyme, ainsi que les matrices testées.